

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202290567 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.05.25(22) Дата подачи заявки
2020.08.11(51) Int. Cl. *A61K 38/16* (2006.01)
B82Y 5/00 (2011.01)
A61K 47/60 (2017.01)
C07K 14/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) ПАЛМ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИНДУЦИРОВАННОЙ ХИМИОТЕРАПИЕЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИИ, СВЯЗАННОЙ С ЛЕЧЕНИЕМ ОНКОЛОГИЧЕСКОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ

(31) 62/886,282

(32) 2019.08.13

(33) US

(86) PCT/US2020/045785

(87) WO 2021/030359 2021.02.18

(71) Заявитель:

ПЕПТИНОВО БАЙОФАРМА ИНК.
(US)

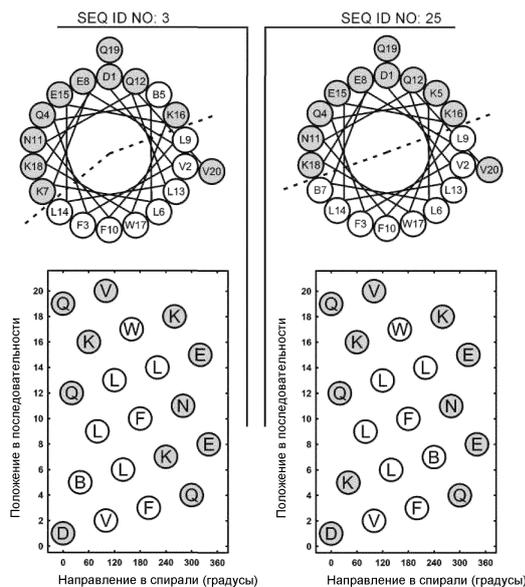
(72) Изобретатель:

Хомэн Рейнолд (US)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) В данном изобретении представлен способ лечения или профилактики индуцированной химиотерапией периферической нейропатии (ИХПН) у пациента с онкологическим заболеванием, которого лечат или которого предстоит лечить химиотерапевтическим агентом, вызывающим ИХПН, включающий введение терапевтически эффективного количества композиции, содержащей наночастицу пептидно-амфифильной липидной мицеллы (ПАЛМ), пациенту с онкологическим заболеванием, при этом наночастица ПАЛМ содержит ПАЛМ, содержащую химиотерапевтический агент, вызывающий ИХПН, и при этом ПАЛМ содержит пептид и липидный компонент, содержащий сфингомиелин и один или большее число дополнительных фосфолипидов.



202290567 A1

202290567 A1

ИЗМЕНЕННОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННУЮ ЗАЯВКУ

[0001] Данная заявка на патент испрашивает приоритет относительно предварительной заявки на патент США № 62/886282, поданной 13 августа 2019 года. Содержание которой настоящим включено в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0002] В данную заявку включен посредством ссылки в полном объеме перечень последовательностей, озаглавленный «236603_471132_SequenceListing_ST25.txt» (29 килобайт), созданный 11 августа 2020 года и поданный в электронном виде совместно с данной заявкой.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[0001] Данное изобретение относится к лечению онкологических заболеваний с применением пептидно-амфифильных липидных мицелл (ПАЛМ, англ. «PALM»), при этом такое применение предотвращает, лечит, облегчает или уменьшает побочные эффекты, включая индуцированную химиотерапией периферическую нейропатию (ИХПН, англ. «CIPN»), вызванную введением химиотерапевтического агента. Более конкретно, данное изобретение касается технологии получения лекарственных форм, позволяющей включать химиотерапевтические препараты, вызывающие ИХПН, в наночастицы, которые можно с легкостью вводить парентеральным путем для безопасной и эффективной доставки включенных химиотерапевтических препаратов к их терапевтическим целям и уменьшать побочные эффекты, включая индуцированную химиотерапией периферическую нейропатию (ИХПН), вызванную введением химиотерапевтического агента.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0002] Приоритетной целью Национального института онкологии США является поиск средств для лечения индуцированной химиотерапией периферической нейропатии (ИХПН) - побочного эффекта многих известных методов химиотерапии, который во многих случаях бывает изнуряющим и часто ставит лечение под угрозу. В настоящее время не существует эффективных способов противодействия, помимо снижения дозы, задержки или прекращения приема препарата. Возникающее в результате снижение дозы чревато ускорением роста опухоли, резистентностью к химиотерапии и неэффективностью лечения. Более того, недомогание от ИХПН часто сохраняется в течение нескольких месяцев или даже лет после окончания лечения, что еще больше ухудшает качество жизни и препятствует возможности проведения последующей химиотерапии, когда это необходимо.

[0003] Открытие средства от ИХПН особенно важно для терапии паклитакселом (ПТК) - одним из наиболее широко применяемых и эффективных химиотерапевтических препаратов, но который также характеризуется особенно высоким риском развития ИХПН, или, более конкретно, ИППН (англ. «PIPN»). Распространенность ИППН

превышает 60% среди пациентов, получающих инфузию ПТК. Тяжелая ИППН (степень 3/степень 4), при которой показаны изменения в способе лечения, встречается по меньшей мере у 10% пациентов с ИППН.

[0004] Симптомы ИППН включают в себя ощущения покалывания, онемения, жжения и боли в конечностях наряду с потерей эффективного хвата, мелкой моторики и равновесия. Ощущения пациента варьируют от раздражающих до изнуряющих. Симптомы и их тяжесть, а также число пораженных периферических осей конечностей увеличиваются по мере увеличения размера, частоты и количества доз ПТК. Восстановление после ИППН происходит медленно, часто мешая повседневной жизни в течение нескольких месяцев или лет после завершения химиотерапии.

[0005] В настоящее время снижение дозы является единственным эффективным средством от болезненных, изнуряющих сенсорных и моторных эффектов ИППН. Увеличение времени инфузии и интервалов лечения приводят к ограниченному улучшению. Проводились исследования потенциальных нейропротекторных и облегчающих симптомы препаратов, но без значительного успеха.

[0006] Обе одобренные в настоящее время лекарственные формы ПТК - Таксол® и Абраксан® - вызывают ИППН одинаковой степени тяжести и устойчивости. Данная проблема не является уникальной для паклитаксела. ИППН представляет собой серьезный риск и для других таксанов, применяемых в клинической практике, а именно для доцетаксела (Таксотер®) и кабазитаксела (Джевтана®), и при их более низких дозах.

[0007] Успех химиотерапии на основе ПТК можно значительно повысить благодаря технологии составления лекарственных форм, которая может изолировать ПТК от нервов и вместо этого нацеливать ПТК на раковые клетки. Пациент с онкологическим заболеванием будет испытывать улучшенные результаты лечения (т. е. лучшую выживаемость) без дискомфорта или угрозы для лечения со стороны ИППН.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0008] В первом аспекте данного изобретения представлен способ лечения онкологического заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, способ, включающий в себя введение терапевтически эффективной дозы композиции, содержащей химиотерапевтический агент, связанный с пептидно-амфифильной липидной мицеллой (ПАЛМ), при этом субъект, которому вводят ПАЛМ, испытывает индуцированную химиотерапией периферическую нейропатию в меньшей степени, чем при лечении химиотерапевтическим агентом без введения ПАЛМ. ПАЛМ образуются из комбинации амфифильного пептида с фосфолипидами и, необязательно, другими гидрофобными молекулами, в водной суспензии.

[0009] Во втором аспекте данного изобретения представлены способы лечения индуцированной химиотерапией периферической нейропатии (ИХПН) у субъекта, которого в настоящее время и/или ранее лечили химиотерапевтическим агентом, вызывающим ИХПН, и который нуждается в этом; способ включает введение терапевтически эффективной дозы композиции, содержащей химиотерапевтический

агент, конъюгированный с пептидно-амфифильной липидной мицеллой (ПАЛМ), образуя таким образом наночастицы ПАЛМ, при этом субъект, которому вводят наночастицы ПАЛМ, испытывает индуцированную химиотерапией периферическую нейропатию (например индуцированную паклитакселом периферическую нейропатию) в меньшей степени, чем при лечении химиотерапевтическим агентом без введения наночастиц ПАЛМ. В родственных вариантах осуществления индуцированная химиотерапией периферическая нейропатия (ИХПН) вызвана и/или связана с таксанами; эпотиллонами (например, иксабепилоном и сагопилоном); алкалоидами барвинка, например винбластином, винкристином, винорелбином и этопозидом (VP-16); талидомидом (Таломид®), леналидомидом (Ревлимид®) и помалидомидом (Помалист®); ингибиторами протеасом, такими как бортезомиб (Велкейд®), карфилзомиб (Кипролис®) и иксазомиб (Нинларо); ингибиторами топоизомеразы, такими как иринотекан или топотекан; и аналогами платины, включая цисплатин, карбоплатин и оксалиплатин. В родственных вариантах осуществления индуцированная химиотерапией периферическая нейропатия (ИХПН) вызвана и/или связана с химиотерапией таксаном, например, лечением онкологического заболевания одним или большим числом из следующих препаратов: паклитаксел (Таксол®), Абраксан®, доцетаксел (Таксотер®), кабазитаксел (Джевтана®), ларотаксел, милатаксел, ортатаксел, BMS-275183 и тесетаксел.

[0010] В третьем аспекте данного изобретения представлены способы лечения индуцированной паклитакселом периферической нейропатии (ИППН) у субъекта с онкологическим заболеванием, которого в настоящее время и/или ранее лечили паклитакселом; способ включает введение терапевтически эффективной дозы композиции, содержащей наночастицы ПАЛМ, при этом наночастицы ПАЛМ включают ПАЛМ, конъюгированные с паклитакселом. В некоторых родственных вариантах осуществления субъект с онкологическим заболеванием, которому вводят наночастицы ПАЛМ, содержащие паклитаксел, испытывает ИППН в меньшей степени, чем при лечении одним лишь паклитакселом без введения наночастиц ПАЛМ, содержащих паклитаксел.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0011] Фиг. 1А и фиг. 1В представляют собой проекционные диаграммы колеса Эдмундсона для пептидов SEQ ID NO: 3 и 25, соответственно, показывающие их амфифильную конформацию. На фиг. 1А и фиг. 1В дополнительно показаны осевые положения аминокислот, составляющих пептиды (обозначенные стандартными однобуквенными сокращениями), вокруг длинной оси альфа-спирали. Буква «В» обозначает 2-аминоизомасляную кислоту. Пунктирные линии указывают приблизительные границы между гидрофильными аминокислотами (заштрихованы), образующими полярные поверхности пептидов, и гидрофобными аминокислотами, образующими неполярные поверхности. Фиг. 1С и фиг. 1D представляют собой спиральные сетчатые изображения пептидов SEQ ID NO: 3 и 25, соответственно.

[0012] Фиг. 2. Эксклюзионная хроматограмма по размеру для ПАЛМ, содержащей

мириплатин (сплошная линия), по сравнению с уровнем ЛПВП человека (пунктирная линия). ПАЛМ состоял из пептида SEQ ID NO: 25 и ПОФХ, СМ и мириплатина в молярном соотношении 2,5:3:7:0,75.

[0013] На фиг. 3 показана эксклюзионная хроматограмма по размеру для ПАЛМ, содержащей ПХК и приготовленной с пептидом SEQ ID NO: 25 в молярном соотношении пептид:фосфолипид:ПХК как 1:4:0,4. Отмечены положения элюирования белковых стандартов с различными диаметрами Стокса.

[0014] На фиг. 4 представлено сравнение эксклюзионных хроматограмм по размеру для ПАЛМ, содержащей ПТТК и приготовленной с пептидом SEQ ID NO: 25 (пунктирная линия) или с пептидом R4F (сплошная линия). Композиция обеих ПАЛМ представляла собой пептид:ПОФХ:СМ:ПТТК в молярном эквивалентном соотношении 1:2,8:1,2:0,4.

[0015] На фиг. 5 показана эксклюзионная хроматограмма по размеру для ПАЛМ, приготовленной с пептидом SEQ ID NO: 25 и содержащей фенретинид. Композиция ПАЛМ представляла собой пептид:ПОФХ:СМ:фенретинид в молярном эквивалентном соотношении 2,5:3:7:2.

[0016] На фиг. 6 представлено ингибирование роста клеток рака предстательной железы РС3 с помощью ПАЛМ(МП) по сравнению с ингибированием цисплатином.

[0017] На фиг. 7 показан эффект антитела против SR-BI на ингибирование роста клеток рака предстательной железы РС3 с помощью ПАЛМ(МП). Кривые построены на основании встраивания полученных данных в модель логистического уравнения.

[0018] На фиг. 8 представлено ингибирование роста клеток рака яичников SKOV3 с помощью ПАЛМ(ПХК) (квадрат, пунктирная линия) или ПАЛМ(ПТТК) (ромб, сплошная линия) по сравнению с ингибированием паклитакселом (круг, пунктирная линия). Кривые построены на основании встраивания полученных данных в модель логистического уравнения.

[0019] Фиг. 9. ПАЛМ, приготовленные с различными пептидами, как указано, и содержащие ДТИ, инкубировали с клетками ВНК(SR-BI), которые были стабильно трансфицированы индуцируемым мифепристоном геном SR-BI человека. Инкубации выполняли с неиндуцированными (контрольными) или индуцированными клетками. Для сравнения тестировали ЛПВП человека, меченный ДТИ. Количество ДТИ, поглощенного клетками в течение 4 часов инкубации, определяли на основании флуоресценции.

[0020] Фиг. 10. Клетки ВНК(SR-BI) с индуцируемым мифепристоном геном SR-BI человека, который был либо индуцирован (SR-BI+), либо не индуцирован (контроль), инкубировали с указанными концентрациями ПТТК или ПАЛМ(ПТТК) в течение 12 часов. Клетки инкубировали дополнительно в отсутствие тестируемых агентов в течение дополнительных 36 часов до определения % роста с помощью МТТ-теста.

[0021] Фиг. 11. Антитело против SR-BI блокирует поглощение ПТТК из ПАЛМ(ПТТК) (стрелка).

[0022] Фиг. 12. Столбчатая диаграмма, показывающая секрецию цитокина ИЛ-6 клетками SKOV-3, инкубированными 24 часа без добавления соединений (контроль), с

липополисахаридом (ЛПС, 10 мкг/мл), с паклитакселом (ПТК) или с ПАЛМ(ПТТК).

[0023] Фиг. 13. Линейный график, показывающий рост опухоли яичника человека (SKOV-3) у бестимусных мышей, которым вводили носитель кремофор/этанол (А), паклитаксел (10 мг/кг) (В), ПАЛМ(ПТТК) (эквиваленты 8 мг/кг паклитаксела) (С) или ПАЛМ(ПТТК) (эквиваленты 24 мг/кг паклитаксела) (D).

[0024] Фиг. 14. Линейный график, показывающий механическую аллодинию у крыс, которым вводили носитель кремофор/этанол (А), 1 мг/кг паклитаксела (В), физиологический раствор (носитель ПАЛМ) (С), дозу ПАЛМ(ПТТК), эквивалентную 1 мг/кг (D), дозу ПАЛМ(ПТТК), эквивалентную 2,7 мг/кг (E).

[0025] Фиг. 15. Линейный график, показывающий рост опухоли яичника человека (SKOV-3) у бестимусных мышей, которым вводили носитель кремофор/этанол (А), паклитаксел (10 мг/кг) (В) или ПАЛМ без ПТТК (С).

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0026] Определения

[0027] «Наночастица» означает частицу, размер которой не превышает 200 нм.

[0028] Употребляемые в данном документе формы единственного числа включают в себя ссылки на формы множественного числа, если из контекста явно не следует иное.

[0029] Следует отметить, что в данном документе такие термины, как «включает (-ют) в себя», «включающий (-ая, -ее, -ие) в себя», «содержит (-ат)», «содержащий (-ая, -ее, -ие)» и т. п., имеют значение, приписываемое им патентным законодательством Соединенных Штатов Америки; они являются инклюзивными или открытыми и не исключают дополнительных, не перечисленных элементов или стадий способа. Такие термины, как «состоящий (-ая, -ее, -ие) по существу из» и «состоит (-ят) по существу из», имеют значение, приписываемое им патентным законодательством Соединенных Штатов Америки; они допускают включение дополнительных ингредиентов или стадий, которые существенно не влияют на основные и новые характеристики заявляемого изобретения. Термины «состоит (-ят) из» и «состоящий (-ая, -ее, -ие) из» имеют значение, приписываемое им патентным законодательством Соединенных Штатов Америки, а именно: указанные термины являются закрытыми.

[0030] Термин «около» указывает на то, что стоящие после него значения являются приблизительными. Например, диапазон «от около 1 мг до около 50 мг» означает, что указанные значения являются приблизительными значениями. Диапазон «от около 1 мг до около 50 мг» включает в себя приблизительные и конкретные значения, например, диапазон включает в себя около 1 мг, 1 мг, около 50 мг и 50 мг.

[0031] Когда описывается диапазон, диапазон включает в себя как конечные точки диапазона, так и все числа между указанными конечными точками диапазона. Например, «между 1 мг и 10 мг» включает в себя 1 мг, 10 мг и все количества между 1 мг и 10 мг. Аналогично, «от 1 мг до 10 мг» включает в себя 1 мг, 10 мг и все количества от 1 мг до 10 мг.

[0032] Употребляемый в данном документе термин «алкил» относится к

насыщенной алифатической углеводородной группе, содержащей от 7 до 21 атома углерода. Употребляемый в данном документе термин алкил (C₁-C_n) относится к алкильной группе, содержащей 1-n атомов углерода. Например, алкил (C₈-C₁₂) относится к алкильной группе, содержащей 8, 9, 10, 11 или 12 атомов углерода. Алкильная группа может быть разветвленной или неразветвленной.

[0033] Употребляемый в данном документе термин «алкенил» относится к алифатической углеродной группе, которая содержит от 7 до 21 атома углерода и по меньшей мере одну двойную связь. Употребляемый в данном документе термин алкенил (C₁-C_n) относится к алкенильной группе, содержащей 1-n атомов углерода. Алкенильная группа может быть разветвленной или неразветвленной.

[0034] Термин «состоящий по существу из» при употреблении для описания липидного компонента означает, что липидный компонент включает меньше чем 0,1 мол.% любого дополнительного липида, отличного от указанных.

[0035] «ПХК» - сокращение для паклитаксел-2'-холестерилкарбоната.

[0036] «ПТЗК» или «ПТТК» - сокращения для паклитаксел-2'-δ-токотриенилкарбоната.

[0037] «МП» - сокращение для мириплатина.

[0038] «ПТК» - сокращение для паклитаксела.

[0039] «ПОФХ» - сокращение для 1-пальмитоил-2-олеоилфосфатидилхолина.

[0040] «СМ» - сокращение для сфингомиелина.

[0041] «ТБС» - сокращение для трет-бутилового спирта.

[0042] «ДМСО» - сокращение для диметилсульфоксида.

[0043] «ЛПВП» - сокращение для липопротеина высокой плотности.

[0044] «SR-VI» - сокращенное обозначение сквенджер-рецептора класса В, типа 1.

[0045] «ВНК» - сокращенное обозначение линии клеток, происходящей из почки новорожденного хомяка.

[0046] «ДТИ» - сокращение для 1,1'-диоктадецил-3,3,3',3'-тетраметилиндокарбоцианина.

[0047] «ИЛ-6» - сокращение для интерлейкина-6.

[0048] «ИХПН» - сокращение для индуцированной химиотерапией периферической нейропатии.

[0049] «ИППН» - сокращение для индуцированной паклитакселом периферической нейропатии.

[0050] «ПАЛМ» - сокращение, используемое для обозначения пептидно-амфифильных липидных мицелл, образованных из комбинации амфифильного пептида с фосфолипидами и, необязательно, другими гидрофобными молекулами, в водной суспензии.

[0051] Термин «амфифильная (-ый)» описывает молекулу или полимер (например, пептид), которые обладают аффинностью как к липидной, так и к водной фазам благодаря конформации, в которой гидрофильные (ищущие воду) заместители и гидрофобные

(избегающие воду) заместители в молекуле или полимере структурно отделены друг от друга.

[0052] Термин «липофильное» описывает вещество, которое распределяется преимущественно по липидным доменам богатых липидами частиц в водной суспензии. Богатые липидами частицы включают в себя липидные мицеллы, липосомы, липопротеины, клеточные мембраны и липидные эмульсии.

[0053] «Пептид» - это полимер, полученный из мономеров альфа-аминокислот, соединенных вместе амидными связями, образованными между карбоксильной группой одной аминокислоты и альфа-аминогруппой следующей аминокислоты в данном полимере. Термин «пептид» также включает в себя полимер из мономеров аминокислот, соединенных вместе. Могут быть использованы как L-оптические изомеры, так и D-оптические изомеры аминокислот. Аминокислоты, составляющие полимер, могут быть либо встречающимися в природе (т. е. природными аминокислотами), либо не встречающимися в природе аминокислотами. Термин «остаток» или «аминокислотный остаток» включает в себя ссылку на аминокислоту, которая включена в пептид, полипептид или белок.

[0054] Пептидные последовательности, как принято в данной области техники и как они указываются в данном документе, записываются в направлении от N-конца до C-конца слева направо.

[0055] «Мицелла» - это многомолекулярная структура, организованная нековалентными взаимодействиями в водной фазе. Мицелла состоит из амфифильных и гидрофобных молекул, которые агрегируются таким образом, что гидрофобные домены молекул защищены от воды, а гидрофильные компоненты находятся на границе раздела мицелла - вода.

[0056] «Транспортируемые молекулы» - это гидрофобные или амфифильные химиотерапевтические молекулы с противораковыми терапевтическими или диагностическими свойствами, которые стабильно включены в ПАЛМ и не нарушают стабильность ПАЛМ.

[0057] «миРНК» - это малые интерферирующие рибонуклеиновые кислоты, созданные для контроля экспрессии клеточных генов как часть РНК-индуцируемого комплекса подавления генов.

[0058] «Aib» - это стандартный трехбуквенный код аминокислоты альфа-аминоизомасляная кислота.

[0059] «Aba» - это стандартный трехбуквенный код аминокислоты альфа-аминомасляная кислота.

[0060] «Amv» - это стандартный трехбуквенный код аминокислоты альфа-метилвалин.

[0061] «Orn» - это стандартный трехбуквенный код аминокислоты орнитин.

[0062] «ЭХПР» - это эксклюзионная хроматография по размеру.

[0063] «ДРС» - это динамическое рассеяние света.

[0064] Термин «субъект» определяется в данном документе как включающий в себя животных, таких как млекопитающие, включая, но не ограничиваясь ими, приматов (например, людей), коров, овец, коз, лошадей, собак, кошек, кроликов, крыс, мышей и т. п. В предпочтительных вариантах осуществления субъект представляет собой человека. Субъект включает в себя пациента с онкологическим заболеванием или пациентов с онкологическими заболеваниями.

[0065] Употребляемый в данном документе термин «химиотерапевтический агент», или «агент химиотерапии», или «противоопухолевый агент» относится к агенту, который уменьшает, предотвращает и/или задерживает рост метастазов или новообразований, или убивает неопластические клетки непосредственно путем некроза или апоптоза в фармацевтически эффективном количестве, для уменьшения, предотвращения и/или задержки роста метастазов или новообразований у субъекта с опухолевым заболеванием.

[0066] «Химиотерапия» относится к лечению с использованием химиотерапевтических агентов, агентов химиотерапии или противоопухолевых агентов.

[0067] «Эффективное количество» или «фармацевтически эффективное количество» в отношении композиции, содержащей ПАЛМ, конъюгированные с химиотерапевтическим агентом, относится к количеству композиции, достаточному для индуцирования желаемого биологического, фармакологического или терапевтического результата у субъекта.

[0068] «Индукцированная химиотерапией периферическая нейропатия» - это токсическая нейропатия, возникающая в результате прямого повреждения периферической нервной системы химиотерапевтическим (-и) агентом (агентами). ИХПН может быть острой или хронической. ИХПН может быть сенсорной, моторной, вегетативной или комбинацией любого из трех классов.

[0069] «Нейротоксические эффекты» и «нейротоксичность» относятся к изменению нормальной деятельности нервной системы токсичными веществами.

[0070] «Нейропатическая боль» - это труднокупируемая боль, вызванная дисфункцией периферической или центральной нервной системы.

[0071] Без привязки к какой-либо теории, считается, что паклитаксел (ПТК) влияет на нервную функцию несколькими механизмами. Наиболее заметным является перинейральное воспаление, возникающее в результате способности ПТК активировать толл-подобный рецептор 4 (TLR4) в резидентных макрофагах (микроглия), прилегающих к нервам. Связывание TLR4 с ПТК стимулирует выработку и высвобождение воспалительных цитокинов микроглией. Затем данные цитокины активируют болевые каналы в соседних нервах. ИППН также происходит от ПТК, который проникает в нервы и, благодаря своей способности нацеливаться на тубулин, препятствует тубулинзависимому транспорту нейромедиаторов в аксонах. Кроме того, есть доказательства, что ПТК вызывает атрофию и потерю нервов.

[0072] Паклитаксел также лежит в основе когнитивных нарушений - еще одного неврологического расстройства, от которого страдают пациенты, проходящие

химиотерапию. Индуцированные паклитакселом когнитивные нарушения обусловлены способностью паклитаксела проникать в гиппокамп, вызывать воспаление и нарушать там функцию нейронов. Это те же самые процессы, которые вызывают ИППН.

[0073] Многочисленные механизмы, посредством которых ПТК воздействует на нервы, предполагают, что одно-единственное медицинское средство, снимающее симптомы, вряд ли будет успешным для противодействия ИППН. Лучшим подходом является разработка технологии получения лекарственных форм, которая полностью изолирует ПТК от TLR4 и нервов, сохраняя при этом воздействие ПТК на опухоли.

[0074] Существуют дополнительные преимущества для технологии, которая ограничивает взаимодействие ПТК с TLR4. Взаимодействие ПТК с TLR4 связано с воспалением желудочно-кишечного тракта и химиорезистентностью. Активация также связана с индукцией метастазирования и роста опухолевых клеток. Кроме того, воспалительный каскад, запускаемый активацией TLR4, приводит к иммуносупрессии внутри опухоли. На мышинных моделях было показано, что ПТК-индуцированное воспаление приводит к снижению иммуносупрессии роста опухоли. Эти примеры влияния TLR4 на прогрессирование опухоли подтверждаются наблюдением, что опухоли с низким уровнем TLR4 связаны с гораздо большей выживаемостью пациентов.

[0075] Данное изобретение направлено на удовлетворение потребности путем предоставления новых лекарственных форм наночастиц ПАЛМ из липидов и пептидов, и способов их получения, которые позволяют вводить химиотерапевтические молекулы, например, лекарственные препараты, и в которых наночастицы стабильны в растворах для инфузий или инъекций. Лекарственные формы согласно данному изобретению обеспечивают одно или большее число улучшений, включая, но не ограничиваясь ими, улучшенные фармакокинетические параметры, увеличенный период полужизни, нацеленную доставку, уменьшенную токсичность или улучшенный терапевтический индекс для противораковых препаратов, вводимых парентерально, в частности - для химиотерапевтических агентов, которые вызывают или связаны с ИХПН и, в частности, ИППН.

[0076] В данном изобретении представлены амфифильные альфа-спиральные пептиды, которые содержат аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 37 или SEQ ID NO: 59.

[0077] Кроме того, в данном изобретении представлены пептидно-амфифильные липидные мицеллы (ПАЛМ), которые содержат пептид, содержащий аминокислотную последовательность согласно данному изобретению, сфингомиелин и один или большее число дополнительных фосфолипидов. ПАЛМ согласно данному изобретению необязательно содержат одну или большее число транспортируемых молекул, таких как агенты визуализации и лекарственные препараты.

[0078] В данном изобретении также представлены способы получения ПАЛМ и композиций ПАЛМ, составленных в виде лекарственной формы с транспортируемыми молекулами.

[0079] Дополнительно, в данном изобретении представлены конъюгаты соединений и способы получения конъюгатов соединений, подходящих для применения с ПАЛМ.

[0080] Кроме того, в данном изобретении представлены способы лечения или профилактики нежелательных явлений ИХПН (например, ИППН) путем введения конъюгатов ПАЛМ с химиотерапевтическим агентом.

[0081] В данном изобретении представлен способ лечения ИХПН у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества композиции, содержащей наночастицы ПАЛМ, содержащие химиотерапевтический агент, вызывающий ИХПН, как проиллюстрировано в данном документе.

[0082] В другом аспекте данного изобретения представлен способ профилактического лечения ИХПН у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества композиции, содержащей наночастицы ПАЛМ, содержащие химиотерапевтический агент, вызывающий ИХПН, как проиллюстрировано в данном документе.

[0083] В другом аспекте данного изобретения представлен способ смягчения нейротоксических эффектов химиотерапевтического агента, который вызывает и/или связан с ИХПН, включающий в себя введение субъекту эффективного количества композиции, содержащей наночастицы ПАЛМ, содержащие химиотерапевтический агент, вызывающий ИХПН, как проиллюстрировано в данном документе.

[0084] В еще одном аспекте данного изобретения представлен способ лечения индуцированной химиотерапией нейропатической боли у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества композиции, содержащей фрагмент ПАЛМ, конъюгированный с химиотерапевтическим агентом, вызывающим ИХПН, как проиллюстрировано в данном документе.

[0085] В некоторых вариантах осуществления данного изобретения фрагмент ПАЛМ содержит или включает в себя один или большее число «амфифильных пептидов». Амфифильные пептиды способны принимать альфа-спиральную конформацию, в которой спираль имеет противоположные полярные и неполярные грани, ориентированные вдоль длинной оси спирали. Методики синтеза пептидов хорошо известны в данной области техники. Пептиды согласно данному изобретению могут быть синтезированы с помощью любой методики, известной в данной области техники.

[0086] В таблице 1 показано распределение зарядов специфических амфифильных пептидов согласно данному изобретению по сравнению с несколькими последовательностями предшествующего уровня техники. Распределение зарядов пептидов согласно данному изобретению является новым с учетом предшествующего уровня техники и показано ниже.

Таблица 1

Заряды аминокислотных остатков в пептидах - миметиках аполипопротеина А-I при нейтральном рН

Пептид	Положение аминокислоты																								С-конец Заряд	
	N-конец	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23		24
SEQ ID ^a	+	-	o	o	o	o	o	+	-	o	o	o	o	o	o	-	+	o	+	o	o					-
SEQ ID ^b	+	-	o	o	o	+	o	o	-	o	o	o	o	o	o	-	+	o	+	o	o					-
A-Icon ^c	+	o	o	o	-	-	o	+	-	+	o	o	-	o	o	-	o	o	+	o	+	o	+			-
LAP642 ^d	+	o	o	o	-	o	o	+	-	o	o	o	-	o	o	-	o	o	+	o	+	o	+			-
18A ^e	+	-	o	o	+	o	o	o	-	+	o	o	-	+	o	+	-	o	o							-
2F ^f	o	-	o	o	+	o	o	o	-	+	o	o	-	+	o	+	-	o	o							o
R4F ^g	o	o	o	-	+	o	+	-	o	o	+	-	o	o	o	+	o	o	-							o
FAMP ^h	+	o	o	-	o	o	o	o	o	o	-	+	o	o	+	o	o	-	-	o	o	+	+	o	o	-

a SEQ ID NO: 1-23

b SEQ ID NO: 24-35

c Anantharamaiah et al. (1990) Arteriosclerosis 10:95-105

d Homan et al. (2013) Anal. Biochem. 441:80-86

e Anantharamaiah et al. (1985) J. Biol. Chem. 260:10248-10255

f Datta et al. (2001) J. Lipid Res. 42:1096-1104

g Zhang et al. (2009) Angew. Chem. Int. Ed. 48:9171-9175

h Uehara et al. (2013) J Am Heart Assoc. 2(3): e000048. doi: 10.1161/JAHA.113.000048

«o» обозначает нулевой заряд в указанном положении.

«+» обозначает положительный заряд в указанном положении.

«-» обозначает отрицательный заряд в указанном положении.

[0086] В одном варианте осуществления первого аспекта данного изобретения представлен пептид, который содержит аминокислотную последовательность: X₁- X₂ -X₃- X₄ -X₅ -X₆ -X₇ -X₈ -X₉ -X₁₀ -X₁₁ -X₁₂ -X₁₃ -X₁₄ -X₁₅ -X₁₆ -X₁₇ -X₁₈- X₁₉ -X₂₀, где: X₁ представляет собой аминокислоту D; X₂ и X₂₀ каждый представляет собой аминокислоту V или Aib; X₃, X₆, X₁₀ и X₁₃ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из L и F; X₄, X₁₂ и X₁₉ каждый представляет собой аминокислоту Q; X₅ представляет собой аминокислоту A или Aib; X₇, X₁₆ и X₁₈ каждый представляет собой аминокислоту K; X₈ и X₁₅ каждый представляет собой аминокислоту E; X₉ и X₁₄ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы,

состоящей из A, L, F и Aib; X₁₁ представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из A, Aib и N; и X₁₇ представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из W, F и L, (SEQ ID NO: 1), при этом пептид имеет длину от 20 до 24 аминокислот.

[0087] В другом варианте осуществления первого аспекта представлен пептид, который состоит по существу из аминокислотной последовательности: X₁- X₂-X₃- X₄-X₅- X₆-X₇-X₈-X₉-X₁₀-X₁₁-X₁₂-X₁₃-X₁₄-X₁₅-X₁₆-X₁₇-X₁₈- X₁₉-X₂₀, где: X₁ представляет собой аминокислоту D; X₂ и X₂₀ каждый представляет собой аминокислоту V или Aib; X₃, X₆, X₁₀ и X₁₃ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из L и F; X₄, X₁₂ и X₁₉ каждый представляет собой аминокислоту Q; X₅ представляет собой аминокислоту A или Aib; X₇, X₁₆ и X₁₈ каждый представляет собой аминокислоту K; X₈ и X₁₅ каждый представляет собой аминокислоту E; X₉ и X₁₄ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из A, L, F и Aib; X₁₁ представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из A, Aib и N; и X₁₇ представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из W, F и L, (SEQ ID NO: 1), при этом указанный пептид имеет длину от 20 до 24 аминокислот.

[0088] В еще одном варианте осуществления первого аспекта представлен пептид, который состоит из аминокислотной последовательности: X₁- X₂-X₃- X₄-X₅-X₆-X₇-X₈- X₉-X₁₀-X₁₁-X₁₂-X₁₃-X₁₄-X₁₅-X₁₆-X₁₇-X₁₈- X₁₉-X₂₀, где: X₁ представляет собой аминокислоту D; X₂ и X₂₀ каждый представляет собой аминокислоту V или Aib; X₃, X₆, X₁₀ и X₁₃ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из L и F; X₄, X₁₂ и X₁₉ каждый представляет собой аминокислоту Q; X₅ представляет собой аминокислоту A или Aib; X₇, X₁₆ и X₁₈ каждый представляет собой аминокислоту K; X₈ и X₁₅ каждый представляет собой аминокислоту E; X₉ и X₁₄ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из A, L, F и Aib; X₁₁ представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из A, Aib и N; и X₁₇ представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из W, F и L. (SEQ ID NO: 1)

[0089] В еще одном варианте осуществления первого аспекта представлен пептид, который содержит аминокислотную последовательность: X₁- X₂-X₃- X₄-X₅-X₆-X₇-X₈-X₉-X₁₀-X₁₁-X₁₂-X₁₃-X₁₄-X₁₅-X₁₆-X₁₇-X₁₈- X₁₉-X₂₀, где: X₁, X₈ и X₁₅ независимо выбраны из группы, состоящей из аминокислот D и E; X₂ и X₂₀ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из V, I, Aib и L; X₃ и X₁₃ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из L, I, V, W, Amv, Aib, and F; X₆ и X₁₀ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из L, I, V, W, Y, Aib, Amv, и F; X₄, X₁₂ и X₁₉ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из Q и N; X₅, X₁₆ и X₁₈ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из K, R, H и Orn; X₇ представляет собой аминокислоту, выбранную из A, G, S, Aib и Aim; X₉ и X₁₄ каждый представляет собой

аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из A, G, S, V, Amv и Aib; X₁₁ представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из A, G, S, Aib, Amv, V и N; и X₁₇ представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из W, F, Y, I, V и L, (SEQ ID NO: 24), при этом указанный пептид имеет длину от 20 до 24 аминокислот.

[0090] В другом варианте осуществления первого аспекта представлен пептид, который состоит по существу из аминокислотной последовательности: X₁-X₂-X₃-X₄-X₅-X₆-X₇-X₈-X₉-X₁₀-X₁₁-X₁₂-X₁₃-X₁₄-X₁₅-X₁₆-X₁₇-X₁₈-X₁₉-X₂₀, где: X₁ представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из D и E; X₂ и X₂₀ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из V, I, Aib и L; X₃, X₆, X₁₀ и X₁₃ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из L, I, V, W, Y, Aib, Amv и F; X₄, X₁₂ и X₁₉ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из Q и N; X₅, X₁₆ и X₁₈ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из K, R, H и Orn; X₇ выбран из группы, состоящей из A, G, S, V, Aib и Amv; X₈ и X₁₅ независимо выбраны из группы, состоящей из аминокислот E и D; X₉ и X₁₄ представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из A, G, S, L, F, V, Amv и Aib; X₁₁ представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из A, G, S, Aib, Amv, V и N; и X₁₇ представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из W, F, Y, I, V и L, (SEQ ID NO: 24), при этом указанный пептид имеет длину от 20 до 24 аминокислот.

[0091] В еще одном варианте осуществления первого аспекта представлен пептид, который состоит из аминокислотной последовательности: X₁-X₂-X₃-X₄-X₅-X₆-X₇-X₈-X₉-X₁₀-X₁₁-X₁₂-X₁₃-X₁₄-X₁₅-X₁₆-X₁₇-X₁₈-X₁₉-X₂₀, где: X₁ представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из D и E; X₂ и X₂₀ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из V, I, Aib и L; X₃, X₆, X₁₀ и X₁₃ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из L, I, V, W, Y, Aib, Amv и F; X₄, X₁₂ и X₁₉ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из Q и N; X₅, X₁₆ и X₁₈ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из K, R, H и Orn; X₇ выбран из группы, состоящей из A, G, S, V, Aib и Amv; X₈ и X₁₅ независимо выбраны из группы, состоящей из аминокислот E и D; X₉ и X₁₄ представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из A, G, S, L, F, V, Amv и Aib; X₁₁ представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из A, G, S, Aib, Amv, V и N; и X₁₇ представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из W, F, Y, I, V и L. (SEQ ID NO: 24).

[0092] Предполагается, что любой из описанных вариантов осуществления пептидов в соответствии с первым аспектом необязательно ацилирован по альфа-амину N-концевой аминокислоты указанного пептида, необязательно амидирован по концевой карбоксильной группе пептида или необязательно ацилирован по альфа-амину N-

концевой аминокислоты и амидирован по концевой карбоксильной группе пептида. Пептиды могут быть ацилированы или амидированы способами, известными в данной области техники.

[0093] Конкретные пептиды согласно данному изобретению представлены в таблице 2 ниже.

Таблица 2

SEQ ID NO:	Пептидная последовательность	Среднее значение гидрофобного момента ^a	Среднее значение гидрофобности ^b
2	DVFQALKELFAQLLEKWKQV	0,846	-1,043
3	DVFQ{AIB}LKELFNQLLEKWKQV	0,908	-1,135
4	DVFQ{AIB}LKELLAQLLEKFKQV	0,885	-0,995
5	DVFQ{AIB}LKELLNQLLEKFKQV	0,948	-1,092
6	DVFQ{AIB}LKELLNQL{AIB}EKFKQV	0,940	-1,120
7	DVFQ{AIB}LKELLNQL{AIB}EKWKQV	0,910	-1,151
8	DVFQALKELLAQLLEKFKQV	0,887	-1,000
9	DVFQALKELLNQLLEKFKQV	0,950	-1,097
10	DVFQ{AIB}LKELFAQLLEKWKQV	0,845	-1,038
11	DVFQ{AIB}LKELFNQLLEKWKQV	0,908	-1,135
12	DVFQ{AIB}LKELFNQLLEKFKQV	0,938	-1,104
13	DVFQALKELFAQL{AIB}EKWKQV	0,836	-1,071
14	DVFQALKELFNQL{AIB}EKWKQV	0,902	-1,168
15	DVFQALKELFNQL{AIB}EKFKQV	0,932	-1,137
16	DVFQAFKEAFAQLFEKWKQV	0,821	-1,099
17	DVFQAFKE{AIB}FAQLFEKWKQV	0,822	-1,094
18	DVFQ{AIB}FKE{AIB}FAQLFEKWKQV	0,820	-1,089
19	DVFQAFKEAF{AIB}QLFEKWKQV	0,818	-1,094
20	DVFQAFKE{AIB}F{AIB}QLFEKWKQV	0,819	-1,089
21	DVFQ{AIB}FKE{AIB}F{AIB}QLFEKWKQV	0,817	-1,084
22	DVFQALKELFNQLLEKWKQV	0,910	-1,140
23	DVFQ{AIB}LKELLNQLLEKWKQV	0,959	-1,081
25	DVFQKL{AIB}ELFNQLLEKWKQV	0,976	-1,135
26	DVFQKLVLEFNQLLEKWKQV	0,979	-1,119

27	DV{AIB}QKLFELFNQLLEKWKQV	0,966	-1,135
28	DVFQKL{AIB}ELFNQLLEKFKQV	1,007	-1,104
29	DVFQKLVELFNQLLEKFKQV	1,010	-1,088
30	DV{AIB}QKLFELFNQLLEKFKQV	0,997	-1,104
31	DVLQKF{AIB}ELFNQLLEKWKQV	0,974	-1,135
32	DV{AIB}QKFLELFNQLLEKWKQV	0,958	-1,135
33	DVFQKLE{AIB}FNQLLEKWKQV	0,979	-1,135
34	DVFQKL{AIB}ELFNQ{AIB}LEKWKQV	0,955	-1,163
35	DVFQKL{AIB}ELFNQL{AIB}EKWKQV	0,961	-1,163
36	D{AIB}FQKL{AIB}ELFNQL{AIB}EKWKQV	0,953	-1,179
<p>^a Рассчитано по гидрофобностям аминокислот (Hessa et al. Nature 433:377-381 (2005)) согласно Pownall et al. (FEBS Letters 159:17-23 (1983)).</p> <p>^b Рассчитано как сумма гидрофобностей аминокислот, деленная на число остатков (ккал/моль/остаток).</p>			

[0094] Одним из вариантов осуществления первого аспекта данного изобретения является пептид, содержащий любую одну из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 1-23, при этом пептид имеет длину от 20 до 24 аминокислот. Еще одним вариантом осуществления является пептид, состоящий по существу из любой одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 1-23, при этом пептид имеет длину от 20 до 24 аминокислот. Еще одним вариантом осуществления является пептид, состоящий из любой одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 1-23. В любом из вышеуказанных вариантов осуществления пептидов согласно данному изобретению необязательно ацилирован альфа-амин N-концевой аминокислоты пептида; амидирована концевая карбоксильная группа пептида; или ацилирован альфа-амин N-концевой аминокислоты и амидирована концевая карбоксильная группа пептида.

[0095] Другим вариантом осуществления первого аспекта данного изобретения является пептид, содержащий любую одну из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 25-36, при этом пептид имеет длину от 20 до 24 аминокислот. Еще одним вариантом осуществления является пептид, состоящий по существу из любой одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 25-36, при этом пептид имеет длину от 20 до 24 аминокислот. Другим вариантом осуществления является пептид, состоящий из любой одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 25-36. В любом из вышеуказанных вариантов осуществления пептидов необязательно ацилирован альфа-амин N-концевой аминокислоты пептида; амидирована концевая карбоксильная группа пептида; или ацилирован альфа-амин N-концевой аминокислоты и амидирована концевая карбоксильная группа пептида.

[0096] Варианты осуществления данного изобретения дополнительно включают в себя пептиды, которые имеют последовательность, обратную последовательностям

пептидов, обобщенно определяемых в SEQ ID NO: 1 и 24.

[0097] В одном варианте осуществления первого аспекта данного изобретения представлены пептиды, которые являются обратными последовательности SEQ ID NO: 1, и пептиды содержат аминокислотную последовательность: X₁-X₂-X₃-X₄-X₅-X₆-X₇-X₈-X₉-X₁₀-X₁₁-X₁₂-X₁₃-X₁₄-X₁₅-X₁₆-X₁₇-X₁₈-X₁₉-X₂₀, где X₁ и X₁₉ каждый представляет собой аминокислоту V или Aib; X₂, X₉ и X₁₇ каждый представляет собой аминокислоту Q; X₃, X₅ и X₁₄ каждый представляет собой аминокислоту K; X₄ представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из W, F и L; X₆ и X₁₃ каждый представляет собой аминокислоту E; X₇ и X₁₂ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из A, L, F и Aib; X₈, X₁₁, X₁₅ и X₁₈ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из L и F; X₁₀ представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из A, Aib и N; X₁₆ представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из A и Aib; и X₂₀ представляет собой аминокислоту D. (SEQ ID NO: 37), при этом указанный пептид имеет длину от 20 до 24 аминокислот.

[0098] В другом варианте осуществления первого аспекта данного изобретения представлены пептиды, которые являются обратными последовательности SEQ ID NO: 24, и обратные пептиды содержат аминокислотную последовательность: X₁-X₂-X₃-X₄-X₅-X₆-X₇-X₈-X₉-X₁₀-X₁₁-X₁₂-X₁₃-X₁₄-X₁₅-X₁₆-X₁₇-X₁₈-X₁₉-X₂₀, где X₁ и X₁₉ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из V, Aib, I и L; X₂, X₉ и X₁₇ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из Q и N; X₃, X₅ и X₁₆ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из K, R, H и Orn; X₄ представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из W, F, Y, I, V и L; X₆, X₁₃ и X₂₀ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из E и D; X₇ и X₁₂ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из A, G, S, L, F, V, Amv и Aib; X₈, X₁₁, X₁₅ и X₁₈ независимо выбраны из группы, состоящей из аминокислот L, I, V, W и F; X₁₀ представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из A, G, S, Aib, Amv, V и N; и X₁₄ представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из A, G, S, V, Aib и Amv. (SEQ ID NO: 59), при этом пептид имеет длину от 20 до 24 аминокислот.

[0099] В другом варианте осуществления первого аспекта данного изобретения представлены пептиды, которые являются обратными последовательности SEQ ID NO: 24, и обратные пептиды состоят из аминокислотной последовательности: X₁-X₂-X₃-X₄-X₅-X₆-X₇-X₈-X₉-X₁₀-X₁₁-X₁₂-X₁₃-X₁₄-X₁₅-X₁₆-X₁₇-X₁₈-X₁₉-X₂₀, где X₁ и X₁₉ каждый представляет собой аминокислоту V или Aib; X₂, X₉ и X₁₇ каждый представляет собой аминокислоту Q; X₃, X₅ и X₁₄ каждый представляет собой аминокислоту K; X₄ представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из W, F и L; X₆ и X₁₃ каждый представляет собой аминокислоту E; X₇ и X₁₂ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из A, L, F и Aib; X₈, X₁₁, X₁₅

и X₁₈ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из L и F; X₁₀ представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из A, Aib и N; X₁₆ представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из A и Aib; и X₂₀ представляет собой аминокислоту D. (SEQ ID NO: 37).

[00100] В таблице 3 представлены дополнительные пептиды согласно данному изобретению. Последовательности аминокислот в данных пептидах являются обратными аминокислотным последовательностям SEQ ID NO: 2-23 и 25-36.

ТАБЛИЦА 3

SEQ ID NO:	Пептидная последовательность
38	VQKWKELLQAFLEKLAQFVD
39	VQKWKELLQNFLEKL{AIB}QFVD
40	VQKFKELLQALLEKL{AIB}QFVD
41	VQKFKELLQNLLEKL{AIB}QFVD
42	VQKFKE{AIB}LQNLLEKL{AIB}QFVD
43	VQKWKE{AIB}LQNLLEKL{AIB}QFVD
44	VQKFKELLQALLEKLAQFVD
45	VQKFKELLQNLLEKLAQFVD
46	VQKWKELLQAFLEKL{AIB}QFVD
47	VQKWKELLQNFLEKL{AIB}QFVD
48	VQKFKELLQNFLEKL{AIB}QFVD
49	VQKWKE{AIB}LQAFLEKLAQFVD
50	VQKWKE{AIB}LQNFLEKLAQFVD
51	VQKFKE{AIB}LQNFLEKLAQFVD
52	VQKWKEFLQAFAEKFAQFVD
53	VQKWKEFLQAF{AIB}EKFAQFVD
54	VQKWKEFLQAF{AIB}EKF{AIB}QFVD
55	VQKWKEFLQ{AIB}FAEKFAQFVD
56	VQKWKEFLQ{AIB}F{AIB}EKFAQFVD
57	VQKWKEFLQ{AIB}F{AIB}EKF{AIB}QFVD
58	VQKWKELLQNFLEKLAQFVD
60	VQKWKELLQNLLEKL{AIB}QFVD
61	VQKWKELLQNFLE{AIB}LKQFVD
62	VQKWKELLQNFLEVLIKQFVD
63	VQKWKELLQNFLEFLKQ{AIB}VD
64	VQKFKELLQNFLE{AIB}LKQFVD

65	VQKFKELLQNFLEVLKQFVD
66	VQKFKELLQNFLEFLKQ{AIB}VD
67	VQKWKELLQNFLE{AIB}FKQLVD
68	VQKWKELLQNFLELFKQ{AIB}VD
69	VQKWKELLQNF{AIB}ELLKQFVD
70	VQKWKEL{AIB}QNFLE{AIB}LKQFVD
71	VQKWKE{AIB}LQNFLE{AIB}LKQFVD
72	VQKWKE{AIB}LQNFLE{AIB}LKQF{AIB}D

[00101] Другим вариантом осуществления первого аспекта данного изобретения является пептид, содержащий любую одну из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 38-58, при этом пептид имеет длину от 20 до 24 аминокислот. Еще одним вариантом осуществления является пептид, состоящий по существу из любой одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 38-58. Еще одним вариантом осуществления является пептид, состоящий из любой одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 38-58. В любом из вышеуказанных вариантов осуществления пептидов необязательно ацилирован альфа-амин N-концевой аминокислоты пептида; амидирована концевая карбоксильная группа пептида; или ацилирован альфа-амин N-концевой аминокислоты и амидирована концевая карбоксильная группа пептида.

[00102] Одним из вариантов осуществления первого аспекта данного изобретения является пептид, содержащий любую одну из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 60-72, при этом пептид имеет длину от 20 до 24 аминокислот. Еще одним вариантом осуществления является пептид, состоящий по существу из любой одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 60-72. Еще одним вариантом осуществления является пептид, состоящий из любой одной из аминокислотных последовательностей SEQ ID NO: 60-72. В любом из вышеуказанных вариантов осуществления пептидов необязательно ацилирован альфа-амин N-концевой аминокислоты пептида; амидирована концевая карбоксильная группа пептида; или ацилирован альфа-амин N-концевой аминокислоты и амидирована концевая карбоксильная группа пептида.

[00103] Когда пептид согласно данному изобретению содержит аминокислотную последовательность любой из SEQ ID NO: 1-72 и либо к N-концу, либо к C-концу данной аминокислотной последовательности независимо добавлено от 1-4 дополнительных аминокислот, тогда дополнительные аминокислоты выбирают таким образом, чтобы добавление аминокислот не оказывало отрицательного влияния на амфифильность пептида.

[00104] Во втором аспекте данного изобретения представлен структурный фрагмент пептидно-амфифильной липидной мицеллы (ПАЛМ) (также называемый в данном документе «ПАЛМ»), образованный из комбинации амфифильного пептида с фосфолипидами. ПАЛМ согласно второму аспекту данного изобретения содержат один

или большее число пептидов согласно первому аспекту данного изобретения, объединенных в комплекс с липидным компонентом, при этом липидный компонент содержит сфингомиелин и один или большее число дополнительных фосфолипидов. ПАЛМ согласно данному изобретению может быть пассивно или активно доставлена в популяцию клеток-мишеней. В одном варианте осуществления второго аспекта данного изобретения ПАЛМ содержит один или большее число пептидов согласно данному изобретению, при этом липидный компонент состоит по существу из сфингомиелина и одного или большего числа дополнительных фосфолипидов. В одном варианте осуществления ПАЛМ содержит пептид согласно данному изобретению и липидный компонент, при этом липидный компонент содержит сфингомиелин и один или большее число дополнительных фосфолипидов, при этом дополнительный фосфолипид выбран из группы, состоящей из фосфатидилхолина, полиэтиленгликоль-фосфатидилэтаноламина (ПЭГ-ФЭ, англ. «PEG-PE»), фосфатидилэтаноламина, фосфатидилглицерина, фосфатидилсерина, фосфатидилинозитола, кардиолипина и любой их комбинации. В другом варианте осуществления ПАЛМ содержит пептид согласно данному изобретению, а липидный компонент содержит сфингомиелин и фосфатидилхолин. В другом варианте осуществления ПАЛМ содержит пептид согласно данному изобретению, сфингомиелин и 1-пальмитоил-2-олеоилфосфатидилхолин (ПОФХ). В еще одном варианте осуществления ПАЛМ содержит пептид согласно данному изобретению, а липидный компонент содержит сфингомиелин и фосфатидилэтаноламин. В еще одном варианте осуществления ПАЛМ содержит пептид согласно данному изобретению, а липидный компонент содержит сфингомиелин и поли(этиленгликоль)фосфатидилэтаноламин. В еще одном варианте осуществления ПАЛМ содержит пептид согласно данному изобретению, а липидный компонент содержит сфингомиелин и фосфатидилсерин. В другом варианте осуществления ПАЛМ содержит пептид согласно данному изобретению, а липидный компонент содержит сфингомиелин и кардиолипин.

[00105] В еще одном варианте осуществления второго аспекта данного изобретения ПАЛМ содержит пептид согласно данному изобретению, а липидный компонент состоит по существу из сфингомиелина и одного или большего числа дополнительных фосфолипидов, при этом один или большее число дополнительных фосфолипидов выбраны из группы, состоящей из фосфатидилхолина, полиэтиленгликоль-фосфатидилэтаноламина (ПЭГ-ФЭ), фосфатидилэтаноламина, фосфатидилглицерина, фосфатидилсерина, фосфатидилинозитола, кардиолипина и любой их комбинации. В еще одном варианте осуществления ПАЛМ содержит пептид согласно данному изобретению, а липидный компонент состоит по существу из сфингомиелина и фосфатидилхолина. В другом варианте осуществления ПАЛМ содержит пептид согласно данному изобретению, а липидный компонент состоит по существу из сфингомиелина и 1-пальмитоил-2-олеоилфосфатидилхолина (ПОФХ).

[00106] В некоторых вариантах осуществления второго аспекта данного изобретения ПАЛМ содержит пептид согласно данному изобретению, а липидный

компонент состоит по существу из сфингомиелина и одного или большего числа дополнительных фосфолипидов, при этом один или большее число дополнительных фосфолипидов выбраны из группы, состоящей из фосфатидилхолина, полиэтиленгликоль-фосфатидилэтаноламина (ПЭГ-ФЭ), фосфатидилэтаноламина, фосфатидилглицерина, фосфатидилсерина, фосфатидилинозитола, кардиолипина и любой их комбинации, при этом молярное соотношение фосфолипида к сфингомиелину составляет от около 95:5 до около 10:90. В другом варианте осуществления молярное соотношение фосфолипида к сфингомиелину составляет от около 90:10 до около 20:80. В еще одном варианте осуществления молярное соотношение фосфолипида к сфингомиелину составляет от около 25:75 до около 35:65. В другом варианте осуществления молярное соотношение фосфолипида к сфингомиелину составляет около 30:70. В другом варианте осуществления молярное соотношение фосфолипида к сфингомиелину составляет от около 80:20 до около 60:40. В еще одном варианте осуществления молярное соотношение фосфолипида к сфингомиелину составляет от около 75:25 до около 65:35. В еще одном варианте осуществления молярное соотношение фосфолипида к сфингомиелину составляет около 70:30.

[00107] Жирнокислотные компоненты фосфолипидов включают в себя жирные кислоты с формулой: R-COОН, где R представляет собой группу алкила (C₇-C₂₁) группу алкенила (C₇-C₂₁), при этом группа алкенила может иметь от одной до шести двойных связей. Примеры подходящих жирных кислот включают в себя, но не ограничиваются ими, фитановую кислоту, линоленовую кислоту, линолевую кислоту, докозатетраеновую кислоту, олеиновую кислоту, каприловую кислоту, лауриновую кислоту, арахидоновую кислоту, миристиновую кислоту и пальмитиновую кислоту. Жирные кислоты в паре, этерифицированные до глицериновой основы конкретного фосфолипида, могут быть одинаковыми или каждая может представлять собой жирную кислоту другого типа.

[00108] Молярное соотношение липидного компонента к пептиду составляет от около 10:1 до около 2:1. В одном варианте осуществления соотношение составляет от около 9:1 до около 2:1. В другом варианте осуществления молярное соотношение липидного компонента к пептиду составляет от около 8:1 до около 2:1. В еще одном варианте осуществления молярное соотношение липидного компонента к пептиду составляет от около 7:1 до около 3:1. В другом варианте осуществления молярное соотношение липидного компонента к пептиду составляет от около 6:1 до около 4:1.

[00109] Известны комплексы фосфатидилхолина с амфифильными пептидами. Одним из способов получения этих комплексов является начальная совместная лиофилизация из фазы общего растворителя с последующей регидрацией сухого лиофилизата с образованием комплексов в водной суспензии.

[00110] Размер частиц измеряется с помощью ДРС и выражается в виде среднего гидродинамического диаметра («средний диаметр»). ПАЛМ согласно второму аспекту данного изобретения представляют собой частицы нанометрового размера, имеющие средний диаметр 200 нм или меньше, 50 нм или меньше, 40 нм или меньше, или 30 нм или

меньше. В одном варианте осуществления средний диаметр частицы составляет от около 5 нм до около 200 нм. В другом варианте осуществления средний диаметр частицы составляет от около 5 нм до около 50 нм. В одном варианте осуществления средний диаметр частицы составляет от около 5 нм до около 30 нм. В еще одном варианте осуществления средний диаметр частицы составляет от около 7,5 нм до около 30 нм. В еще одном варианте осуществления средний диаметр частицы составляет от около 10 нм до около 30 нм. В другом варианте осуществления средний диаметр частицы составляет от около 5 нм до около 25 нм. В другом варианте осуществления средний диаметр частицы составляет от около 7,5 нм до около 25 нм. В еще одном варианте осуществления средний диаметр частицы составляет от около 10 нм до около 25 нм. В другом варианте осуществления средний диаметр частицы составляет от около 5 нм до около 20 нм. В другом варианте осуществления средний диаметр частицы составляет от около 7,5 нм до около 20 нм. В еще одном варианте осуществления средний диаметр частицы составляет от около 10 нм до около 20 нм. В еще одном варианте осуществления средний диаметр частицы составляет от около 5 нм до около 15 нм. В другом варианте осуществления средний диаметр частицы составляет от около 7,5 нм до около 15 нм. В еще одном варианте осуществления средний диаметр частицы составляет от около 10 нм до около 15 нм. В еще одном варианте осуществления средний диаметр частицы составляет от около 7,5 нм до около 10 нм.

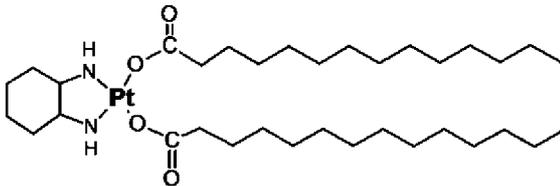
[00111] В третьем аспекте данного изобретения представлены композиции ПАЛМ - транспортируемая молекула, которые содержат любой из вариантов осуществления ПАЛМ согласно второму аспекту данного изобретения и транспортируемую молекулу. Транспортируемые молекулы включают в себя, но не ограничиваются ими, молекулы, обладающие фармацевтическими или терапевтическими свойствами. Неограничивающие примеры транспортируемых молекул включают в себя противораковые соединения, такие как политрансретиноевая кислота, сложные спиртовые эфиры политрансретиноевой кислоты, включая метиловые, этиловые и алкиловые (с более длинной жирнокислотной цепью) сложные спиртовые эфиры ретиноевой кислоты и холестеринные эфиры ретиноевой кислоты; амиды ретиноевой кислоты, такие как фенретинид; ретинол и сложные эфиры карбоновой кислоты и ретинола, включая метиловые, этиловые и алкиловые (с более длинной жирнокислотной цепью) сложные спиртовые эфиры ретиноевой кислоты; липофильные противогрибковые агенты, такие как амфотерицин В или нистатин; стероиды, такие как прогестерон, тестостерон, преднизолон, гидрокортизон, дексаметазон и эстрадиолы; анальгетики, такие как пропофол и галоперидол; нейролептики, такие как деканоат флуфеназина и арипипразол; аналоги витамина D - холекальциферол и эргокальциферол; и изомеры витамина E, как в совокупности, так и по отдельности.

[00112] Транспортируемые молекулы также включают в себя молекулы, позволяющие проводить диагностические или визуализирующие процедуры, например, флуоресцентные визуализирующие агенты, меченные радиоактивным изотопом

визуализирующие агенты и агенты, используемые для МРТ, ПЭТ, КТ, ОФЭКТ-КТ и рентгенологических исследований. Визуализирующие агенты для МРТ включают в себя, но не ограничиваются ими, контрастные агенты, такие как фосфатидилэтаноламин с фрагментом диэтилентриаминпентауксусной кислоты, который хелатирован с ионом гадолиния или аналогичным ионом лантаноида или индия-111, или галлия-67 или лютеция-177, или самария-153.

[00113] Транспортируемые молекулы могут также представлять собой различные типы РНК или ДНК различной длины, связанные с холестерином или другими полициклическими жирными спиртами известными способами.

[00114] В одном варианте осуществления третьего аспекта транспортируемой молекулой является мириплатин, который имеет химическое название: цис-(((1R, 2R)-1,2-циклогександиамин-N, N')бис(миристано))платина(II).



[00115] Еще одним вариантом осуществления третьего аспекта данного изобретения является комплекс ПАЛМ - транспортируемая молекула, при этом указанная транспортируемая молекула представляет собой конъюгированное соединение с формулой I

[00116] A-R-L-X (формула I)

где А представляет собой агент, имеющий гидроксильную или аминную группу; R представляет собой гидроксильную или аминную группу агента; L представляет собой линкер, а X представляет собой якорную часть.

[00117] Другим вариантом осуществления третьего аспекта данного изобретения является комплекс ПАЛМ - транспортируемая молекула, при этом указанная транспортируемая молекула представляет собой конъюгированное соединение с формулой I:

[00118] A-R-L-X (формула I)

где А представляет собой агент, имеющий гидроксильную или аминную группу; R представляет собой гидроксильную или аминную группу агента; L представляет собой угольную кислоту, янтарную кислоту или дигликолевую кислоту; и X представляет собой холестерол, α -токоτριенол, β -токоτριенол, γ -токоτριенол, δ -токоτριенол, копростанол, растительные стеролы (β -ситостерол, ситостанол, стигмастерол, стигмастанол, кампестерол, брассикастерол), эргостерол, ретинол, холекальциферол, эргокальциферол, токоферол или токоτριенол.

[00119] Другим вариантом осуществления третьего аспекта данного изобретения является комплекс ПАЛМ - транспортируемая молекула, при этом указанная транспортируемая молекула представляет собой конъюгированное соединение с формулой I:

где А представляет собой агент, имеющий гидроксильную или аминную группу; R представляет собой гидроксильную или аминную группу агента; L выбран из группы, состоящей из угольной кислоты, янтарной кислоты или дигликолевой кислоты; и X выбран из группы, состоящей из холестерина, α -токотриенола, β -токотриенола, γ -токотриенола, δ -токотриенола, холестерина, копростанола, растительных стеролов (β -ситостерола, ситостанола, стигмастерола, стигмастанола, кампестерола, брассикастерола), эргостерола, ретинола, холекальциферола, эргокальциферола, α -токоферола, β -токоферола, γ -токоферола и δ -токоферола,

[00120] Другим вариантом осуществления третьего аспекта данного изобретения является комплекс ПАЛМ - транспортируемая молекула, при этом указанная транспортируемая молекула представляет собой конъюгированное соединение с формулой I:

где А представляет собой агент, имеющий гидроксильную или аминную группу; R представляет собой гидроксильную или аминную группу агента; L представляет собой линкер, а X представляет собой якорную часть, выбранную из группы, состоящей из холестерина, холекальциферола и δ -токотриенола.

[00121] В одном варианте осуществления конъюгированного соединения с формулой (1) R представляет собой гидроксильную группу агента, а якорная часть ковалентно связана с агентом карбонатной сложноэфирной связью. В одном варианте осуществления конъюгированного соединения с формулой (1) R представляет собой аминную группу агента, а якорная часть ковалентно связана с агентом карбаматной сложноэфирной связью.

[00122] В другом варианте осуществления конъюгированного соединения с формулой (1) якорная часть представляет собой холестерол. В еще одном варианте осуществления конъюгированного соединения с формулой (1) якорная часть представляет собой холестерол при условии, что если якорная часть представляет собой холестерол, то соединение не является паклитакселом.

[00123] В еще одном варианте осуществления конъюгированного соединения с формулой (1) якорная часть представляет собой α -токотриенол. В другом варианте осуществления конъюгированного соединения с формулой (1) якорная часть представляет собой β -токотриенол. В еще одном варианте осуществления конъюгированного соединения с формулой (1) якорная часть представляет собой γ -токотриенол. В еще одном варианте осуществления конъюгированного соединения с формулой (1) якорная часть представляет собой δ -токотриенол. В еще одном варианте осуществления конъюгированного соединения с формулой (1) якорная часть представляет собой эргокальциферол.

[00124] В некоторых вариантах осуществления конъюгированного соединения с формулой (1) агент представляет собой лекарственный препарат.

[00125] В некоторых вариантах осуществления конъюгированного соединения с формулой (1) агент представляет собой химиотерапевтический агент, который вызывает

и/или связан с ИХПН. В одном варианте осуществления конъюгированного соединения с формулой (1) агент представляет собой химиотерапевтический агент, вызывающий ИХПН, и химиотерапевтический агент ковалентно связан с якорной частью карбонатной сложноэфирной связью.

[00126] В одном варианте осуществления конъюгированного соединения с формулой (1) агент представляет собой химиотерапевтический агент, вызывающий ИХПН, и химиотерапевтический агент, вызывающий ИХПН, ковалентно связан с якорной частью карбаматной сложноэфирной связью.

[00127] Неограничивающие примеры химиотерапевтических агентов, вызывающих ИХПН, имеющих гидроксильную группу, доступную для образования карбонатной сложноэфирной связи, включают в себя винкрестин, дезацетилвинбластин, дезацетилвинорелбин, тубулизин А, эпотилон В, иксабепилон, эрибулин, эмтанзин, доцетаксел, кабазитаксел или паклитаксел

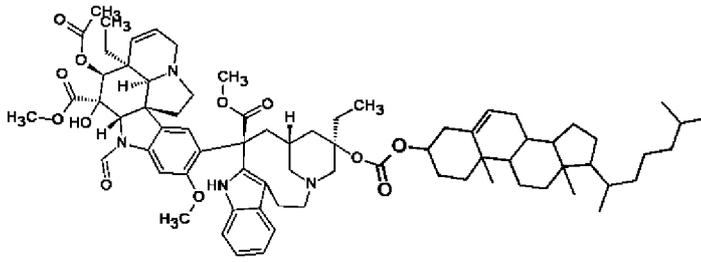
Неограничивающие примеры химиотерапевтических агентов, вызывающих ИХПН, имеющих амин, доступный для образования карбаматной сложноэфирной связи, включают в себя гемцитабин и цитарабин.

[00128] В некоторых вариантах осуществления композиций конъюгированных наночастиц ПАЛМ - химиотерапевтический агент согласно третьему аспекту данного изобретения химиотерапевтический агент, вызывающий ИХПН, представляет собой паклитаксел-2'-холестерилкарбонат. В другом варианте осуществления химиотерапевтический агент представляет собой паклитаксел-2'- δ -токотриенилкарбонат.

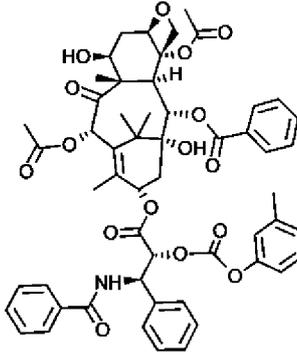
[00129] В других вариантах осуществления химиотерапевтический агент, вызывающий ИХПН, представляет собой доцетаксел-2'-холестерилкарбонат. В других вариантах осуществления химиотерапевтический агент, вызывающий ИХПН, представляет собой сложный холестерилкарбонатный эфир гемцитабина. В других вариантах осуществления химиотерапевтический агент, вызывающий ИХПН, представляет собой сложный холестерилкарбонатный эфир тубулизина А.

[00130] В других вариантах осуществления композиций конъюгированных наночастиц ПАЛМ - химиотерапевтический агент согласно третьему аспекту данного изобретения указанный химиотерапевтический агент, вызывающий ИХПН, представляет собой сложный холестерилкарбаматный эфир гемцитабина (холестерил-(N⁴)-гемцитабинкарбамат).

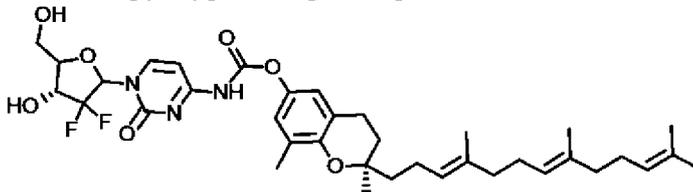
[00131] В других вариантах осуществления химиотерапевтический агент, вызывающий ИХПН, представляет собой сложный холестерилкарбонатный эфир винкрестина, структура которого представляет собой:



[00132] В еще одном варианте осуществления химиотерапевтический агент, вызывающий ИХПН, представляет собой сложный дельта-токоτριенилкарбаматный эфир паклитаксела, структура которого представляет собой:

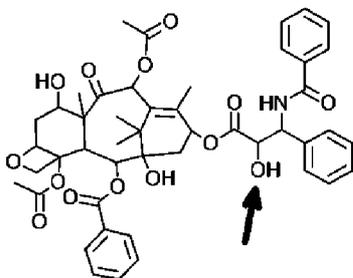


[00133] В еще одном варианте осуществления химиотерапевтический агент, вызывающий ИХПН, представляет собой сложный дельта-токоτριенилкарбонатный эфир гемцитабина, структура которого представляет собой:

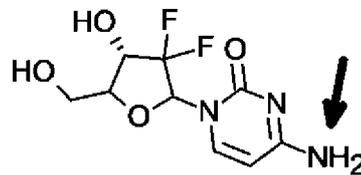


[00134] В таблице 4 представлены структуры неограничивающих примеров химиотерапевтического агента, вызывающего ИХПН, (А), пригодного для данного изобретения, с гидроксильной или аминной группой (R), обозначенной стрелкой.

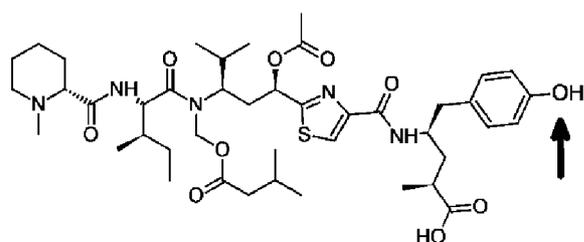
Таблица 4



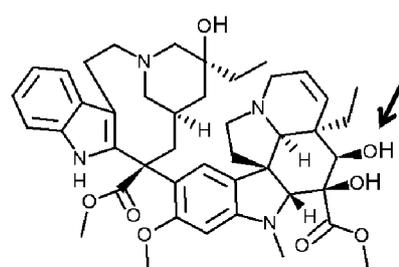
Паклитаксел



Гемцитабин



Тубулизин А



Деацетилвинбластин

[00135] В таблице 5 представлены неограничивающие примеры композиций ПАЛМ - химиотерапевтический агент с формулой А-R-L-X.

Таблица 5

Соединение	А	Р	Л	Х
1	Паклитаксел	ОН	Угольная кислота	γ-токоτριенол
2	Паклитаксел	ОН	Угольная кислота	δ-токоτριенол
3	Паклитаксел	ОН	Угольная кислота	Холекальциферол
4	Паклитаксел	ОН	Угольная кислота	Эргокальциферол
5	Паклитаксел	ОН	Янтарная кислота	Холестерол
6	Паклитаксел	ОН	Янтарная кислота	γ-токоτριенол
7	Паклитаксел	ОН	Янтарная кислота	δ-токоτριенол
8	Паклитаксел	ОН	Янтарная кислота	Холекальциферол
9	Паклитаксел	ОН	Янтарная кислота	Эргокальциферол
10	Паклитаксел	ОН	Дигликолевая кислота	Холестерол
11	Паклитаксел	ОН	Дигликолевая кислота	γ-токоτριенол
12	Паклитаксел	ОН	Дигликолевая кислота	δ-токоτριенол
13	Паклитаксел	ОН	Дигликолевая кислота	Холекальциферол
14	Паклитаксел	ОН	Дигликолевая кислота	Эргокальциферол
15	Гемцитабин	NH ₂	Угольная кислота	Холестерол
16	Гемцитабин	NH ₂	Угольная кислота	γ-токоτριенол
17	Гемцитабин	NH ₂	Угольная кислота	δ-токоτριенол
18	Гемцитабин	NH ₂	Угольная кислота	Холекальциферол
19	Гемцитабин	NH ₂	Угольная кислота	Эргокальциферол
20	Гемцитабин	NH ₂	Янтарная кислота	Холестерол
21	Гемцитабин	NH ₂	Янтарная кислота	γ-токоτριенол
22	Гемцитабин	NH ₂	Янтарная кислота	δ-токоτριенол
23	Гемцитабин	NH ₂	Янтарная кислота	Холекальциферол
24	Гемцитабин	NH ₂	Янтарная кислота	Эргокальциферол
25	Гемцитабин	NH ₂	Дигликолевая кислота	Холестерол

26	Гемцитабин	NH ₂	Дигликолевая кислота	γ-токоτριенол
27	Гемцитабин	NH ₂	Дигликолевая кислота	δ-токоτριенол
28	Гемцитабин	NH ₂	Дигликолевая кислота	Холекальциферол
29	Гемцитабин	NH ₂	Дигликолевая кислота	Эргокальциферол
30	Тубулизин А	ОН	Угольная кислота	Холестерол
31	Тубулизин А	ОН	Угольная кислота	γ-токоτριенол
32	Тубулизин А	ОН	Угольная кислота	δ-токоτριенол
33	Тубулизин А	ОН	Угольная кислота	Холекальциферол
34	Тубулизин А	ОН	Угольная кислота	Эргокальциферол
35	Тубулизин А	ОН	Янтарная кислота	Холестерол
36	Тубулизин А	ОН	Янтарная кислота	γ-токоτριенол
37	Тубулизин А	ОН	Янтарная кислота	δ-токоτριенол
38	Тубулизин А	ОН	Янтарная кислота	Холекальциферол
39	Тубулизин А	ОН	Янтарная кислота	Эргокальциферол
40	Тубулизин А	ОН	Дигликолевая кислота	Холестерол
41	Тубулизин А	ОН	Дигликолевая кислота	γ-токоτριенол
42	Тубулизин А	ОН	Дигликолевая кислота	δ-токоτριенол
43	Тубулизин А	ОН	Дигликолевая кислота	Холекальциферол
44	Тубулизин А	ОН	Дигликолевая кислота	Эргокальциферол

[00136] В четвертом аспекте данного изобретения представлены удивительно эффективные методики совместной лиофилизации для получения композиций наночастиц ПАЛМ или ПАЛМ - химиотерапевтический агент из гомогенной фазы растворителя, состоящей из трет-бутилового спирта и воды. Преимущества данного подхода заключаются в следующем: 1) все компоненты ПАЛМ, включая пептид, фосфолипид и дополнительную транспортируемую молекулу (например, химиотерапевтический агент, вызывающий ИХПН), например, паклитаксел-2'-холестерилкарбонат, совместно растворяются в одной фазе растворителя; 2) компоненты растворителя полностью смешиваются и хорошо подходят для удаления с помощью стандартной процедуры лиофилизации; 3) указанные процедуры позволяют избежать потенциально токсичных веществ, поскольку трет-бутиловый спирт является малотоксичным растворителем класса 3; и 4) полученный высушенный лиофилизат обеспечивает большую стабильность при хранении, чем это возможно с водными препаратами.

[00137] Смесь растворителей, используемая для приготовления ПАЛМ, предпочтительно представляет собой смесь трет-бутилового спирта (ТБС) и воды. В одном варианте осуществления процентное соотношение ТБС к воде составляет от около 70%:30% до около 90%:10%. В другом варианте осуществления соотношение составляет

от около 75%:25% до около 85%:15%. В еще одном варианте осуществления соотношение составляет 80%:20%.

[00138] В одном варианте осуществления четвертого аспекта представлен способ получения ПАЛМ, включающий в себя следующие стадии:

- i) растворение амфифильного пептида в первой смеси растворителей для получения раствора пептида;
- ii) растворение сфингомиелина во второй смеси растворителей для получения раствора сфингомиелина;
- iii) растворение дополнительного фосфолипида в третьей смеси растворителей для получения раствора фосфолипида;
- iv) объединение раствора пептида, раствора сфингомиелина и раствора фосфолипида для получения раствора пептид/сфингомиелин/фосфолипид; и
- v) лиофилизацию раствора пептид/сфингомиелин/фосфолипид, при этом стадии i), ii) и iii) выполняют в любом порядке; и при этом первая, вторая и третья смеси растворителей содержат трет-бутиловый спирт и воду.

[00139] В другом варианте осуществления четвертого аспекта данного изобретения представлен способ получения ПАЛМ, включающий в себя следующие стадии:

- i) объединение амфифильного пептида, сфингомиелина и дополнительного фосфолипида для получения смеси пептид/сфингомиелин/фосфолипид;
- ii) растворение смеси пептид/сфингомиелин/фосфолипид в смеси растворителей для получения раствора пептид/сфингомиелин/фосфолипид; и
- iii) лиофилизацию раствора пептид/фосфолипид, при этом смесь растворителей содержит трет-бутиловый спирт и воду.

[00140] В четвертом аспекте данного изобретения дополнительно представлен способ получения ПАЛМ, содержащей химиотерапевтический агент, вызывающий ИХПН, с получением наночастицы ПАЛМ - химиотерапевтический агент. Для получения наночастицы ПАЛМ - химиотерапевтический агент получают пептид, сфингомиелин, один или большее число дополнительных фосфолипидов и химиотерапевтический агент, вызывающий ИХПН, каждый отдельно, в смеси растворителей и, в зависимости от желаемой лекарственной формы, объединяют в определенных молярных соотношениях. В качестве альтернативы пептид, сфингомиелин, один или большее число дополнительных фосфолипидов и химиотерапевтический агент, вызывающий ИХПН, могут быть объединены непосредственно, без предварительного растворения, а затем переводят в раствор с требуемой смесью растворителей перед лиофилизацией.

[00141] В одном варианте осуществления четвертого аспекта данного изобретения представлен способ получения наночастицы ПАЛМ - химиотерапевтический агент, включающий в себя следующие стадии:

- i) растворение амфифильного пептида в первой смеси растворителей для получения раствора пептида;
- ii) растворение сфингомиелина во второй смеси растворителей для получения

раствора сфингомиелина;

iii) растворение дополнительного фосфолипида в третьей смеси растворителей для получения раствора фосфолипида;

iv) растворение химиотерапевтического агента, вызывающего ИХПН, в четвертой смеси растворителей для получения раствора транспортируемой молекулы;

v) объединение раствора пептида, раствора сфингомиелина, раствора фосфолипида и раствора химиотерапевтического агента, вызывающего ИХПН, для получения раствора пептид/сфингомиелин/фосфолипид/химиотерапевтический агент; и

vi) лиофилизацию раствора пептид/сфингомиелин/фосфолипид/химиотерапевтический агент,

при этом стадии i), ii), iii) и iv) выполняют в любом порядке; и при этом первая, вторая, третья и четвертая смеси растворителей содержат трет-бутиловый спирт и воду.

[00142] Другой вариант осуществления получения наночастицы ПАЛМ - химиотерапевтический агент включает в себя следующие стадии:

i) объединение амфифильного пептида, сфингомиелина, дополнительного фосфолипида и транспортируемой молекулы для получения смеси пептид/сфингомиелин/фосфолипид/транспортируемая молекула;

ii) растворение смеси пептид/сфингомиелин/фосфолипид/транспортируемая молекула в смеси растворителей для получения раствора пептид/фосфолипид; и

iii) лиофилизацию раствора пептид/сфингомиелин/фосфолипид/транспортируемая молекула,

при этом смесь растворителей содержит трет-бутиловый спирт и воду

[00143] Полученная лиофилизированная масса может храниться в течение длительного периода времени и будет оставаться стабильной. Лиофилизированный продукт регидрируют путем добавления любого подходящего водного раствора, например, воды или физиологического раствора, с последующим мягким перемешиванием содержимого. Восстановление лиофилизатов ПАЛМ может быть улучшено путем инкубации раствора ПАЛМ при температуре 50°C в течение от 5 до 30 минут. Затем раствор стерилизуют фильтрацией (0,2 мкм) и хранят при температуре 4-8°C. В качестве альтернативы смесь растворителей, содержащую пептид, фосфолипид и транспортируемую молекулу, стерилизуют фильтрацией перед лиофилизацией.

[00144] В пятом аспекте данного изобретения представлены способы лечения ИХПН, например, ИППН (индуцированной паклитакселом периферической нейропатии), включающие в себя введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества композиции, содержащей композицию наночастиц, содержащую ПАЛМ - химиотерапевтический агент согласно любому из вариантов осуществления данного изобретения.

[00145] Скевенджер-рецептор В-1 (SR-B1) представляет собой мембранный рецептор, который связывает аполипопротеин А-I - основной белковый компонент ЛПВП - для облегчения клеточного транспорта холестерина. Холестерол является важным

питательным веществом для пролиферирующих клеток, например тех, которые встречаются в злокачественных опухолях. Уровни экспрессии SR-BI высоки во многих опухолевых клетках, включая, но не ограничиваясь ими, рак молочной железы, рак предстательной железы, рак толстой кишки, рак поджелудочной железы, рак надпочечников, рак кожи, рак носоглотки и рак яичников. SR-BI распознают и связываются также с некоторыми амфифильными пептидами. ПАЛМ образуются из комбинаций фосфолипидных и амфифильных пептидов, предназначенных для связывания с SR-BI и, таким образом, для селективной доставки химиотерапевтического агента в SR-BI-положительные клетки.

[00146] Для фармацевтического применения лиофилизированная ПАЛМ может быть предоставлена в контейнерах с одной дозой или несколькими дозами, которые можно с легкостью восстановить на месте применения, например, в больнице или кабинете врача, используя стандартные разбавители, такие как стерильная вода для инъекций, обычный стерильный физиологический раствор или стерильный 5%-й раствор декстрозы. Подходящие контейнеры затем асептически заполняют стерилизованной смесью, лиофилизируют и герметизируют соответствующим образом для поддержания стерильности лиофилизованного материала. Подходящие контейнеры включают в себя, но не ограничиваются ими, флакон, содержащий резиновое уплотнение, или его эквивалент, который позволяет вводить разбавитель для восстановления, например, с помощью шприца. Такие препараты ПАЛМ подходят для парентерального введения, включая внутривенную, подкожную, внутримышечную, внутрибрюшинную инъекции.

[00147] Данное изобретение также частично относится ко всем композициям, содержащим ПАЛМ и химиотерапевтический агент, вызывающий ИХПН, и способам их применения. Молекулы ПАЛМ и их химиотерапевтический (-е) агент (-ы), вызывающий (-е) ИХПН, можно вводить с эксципиентом или без него. Эксципиенты включают в себя, но не ограничиваются ими, инкапсуляторы и добавки, такие как ускорители абсорбции, антиоксиданты, связующие вещества, буферы, агенты для покрытия, красители, разбавители, разрыхлители, эмульгаторы, наполнители, ароматизаторы, увлажнители, смазочные материалы, отдушки, консерванты, пропелленты, высвобождающие агенты, стерилизующие агенты, подсластители, солюбилизаторы, смачивающие агенты, их смеси и т. п.

[00148] Общая суточная доза ПАЛМ согласно данному изобретению, которую вводят в организм человека или другого млекопитающего в однократных или разделенных дозах, может составлять, например, от 0,1 до 300 мг/кг массы тела в сутки, обычно - от 0,1 до 200 мг/кг массы тела в сутки, или от 0,1 до 100 мг/кг массы тела в сутки.

[00149] В одном варианте осуществления данного изобретения доза наночастиц ПАЛМ - химиотерапевтический агент (общая) находится в диапазоне от 0,1 до 300 мг/кг, в диапазоне от 5 до 200 мг/кг, в диапазоне от 10 до 100 мг/кг или в диапазоне от 10 мг/кг до 50 мг/кг. В дополнительном варианте осуществления данного изобретения доза молекул

ПАЛМ и химиотерапевтического агента(общая) находится в диапазоне около 5 мг/кг, 10 мг/кг, 20 мг/кг, 40 мг/кг, 50 мг/кг, 60 мг/кг, 70 мг/кг, 80 мг/кг, 90 мг/кг или 100 мг/кг, 200 мг/кг, 300 мг/кг. Дозу можно вводить один раз в сутки. Дозу можно вводить три раза в неделю. В качестве альтернативы дозу можно вводить два раза в неделю. В качестве альтернативы дозу можно вводить один раз в неделю. В другом варианте реализации дозу можно вводить один раз в месяц.

[00150] В родственных вариантах осуществления количество химиотерапевтического агента в комбинации ПАЛМ и химиотерапевтического агента, доза может варьировать от около 0,01 мг до около 35 мг на килограмм массы тела, от около 0,01 мг до около 30 мг на килограмм массы тела, от около 0,01 мг до около 25 мг на килограмм массы тела, от около 0,01 до около 20 мг на килограмм массы тела или от около 0,01 до около 10 мг на килограмм массы тела пациента. В других родственных вариантах осуществления количество химиотерапевтического агента в композиции с молекулами ПАЛМ представляет собой предписанную Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США (англ. «FDA USA») или Европейским агентством по лекарственным средствам (англ. «EMA») дозу химиотерапевтического агента для лечения онкологического заболевания, который может быть у пациента или лечение которым он проходит.

[00151] В одном варианте осуществления ИХПН является сенсорной. В одном варианте осуществления нейропатия проявляется в виде дистальной аксонопатии. В другом варианте осуществления нейропатия проявляется в виде дизестезии, парестезии, жжения, онемения и/или боли.

[00152] В одном варианте осуществления ИХПН является двигательной. В другом варианте осуществления нейропатия проявляется в виде миоатрофии. В другом варианте осуществления нейропатия проявляется в виде потери дистальных глубоких сухожильных рефлексов.

[00153] В одном варианте осуществления ИХПН является автономной.

[00154] В одном варианте осуществления субъект имеет повышенный риск развития индуцированной химиотерапией периферической нейропатии. Субъекты с повышенным риском развития ИХПН имеют предшествующие патологические состояния, включая диабет, дефицит питательных веществ, алкоголизм и предшествующее воздействие нейротоксической химиотерапией. В другом варианте осуществления у субъекта в анамнезе присутствует предшествующая нейропатия. Предшествующая нейропатия могла быть вызвана диабетом, дефицитом питательных веществ, алкоголизмом, наследственными заболеваниями и/или нейротоксической химиотерапией.

[00155] В одном варианте осуществления данное изобретение дополнительно включает в себя стадию введения одного или большего числа химиотерапевтических агентов в дополнение к химиотерапевтическому агенту, сопровождающему ПАЛМ-содержащую композицию.

[00156] В различных вариантах осуществления химиотерапевтический агент или

агенты в ПАЛМ-содержащей композиции и/или транспортируемая молекула могут включать в себя, например, антиметаболиты (т. е. антагонисты фолата, антагонисты пурина и антагонисты пиримидина), блеомицины, агенты, алкилирующие ДНК (т. е. нитрозомочевины, перекрестно-сшивающие агенты, и алкилирующие агенты), гормоны, ингибиторы ароматазы, моноклональные антитела, антибиотики, комплексы платины, ингибиторы протеасом, аналоги таксана, алкалоиды барвинка, ингибиторы топоизомеразы (т. е. антрациклины, камптотецины, подофиллотоксины), ингибиторы тирозинкиназы, или их комбинацию.

[00157] В другом варианте осуществления химиотерапевтический агент или агенты в ПАЛМ-содержащей композиции и/или транспортируемая молекула могут включать в себя, например, комплекс платины, аналог барвинка, аналог таксана, алкилирующий агент, антиметаболит, ингибитор протеасом или их комбинацию.

[00158] Комплексы платины могут включать в себя, например, цисплатин, оксалиплатин, эптаплатин, лобаплатин, недаплатин, карбоплатин, сатраплатин, пикоплатин, мириплатин и т. п.

[00159] Алкалоиды барвинка могут включать в себя, например, винкристин, винбластин, винорелбин, виндезин и т. п.

[00160] Таксаны могут включать в себя, например, паклитаксел, доцетаксел, кабазитаксел и их различные лекарственные формы и аналоги.

[00161] Алкилирующие агенты могут включать в себя, например, дакарбазин, прокарбазин, темозоламид, тиотепу, мехлорэтамин, хлорамбуцил, L-фенилаланин мустард, мелфалан, ифосфамид, циклофосфамид, мефосфамид, перфосфамид, трофосфамид, бусульфан, кармустин, ломустин, тиотепу, семустин и т. п.

[00162] Антиметаболиты включают в себя пеметрексед динатриевый, 5-азацитидин, капецитабин, кармофур, кладрибин, клофарабин, цитарабин, окфосфат цитарабина, арабинозид цитозина, децитабин, дефероксамин, доксифлуридин, эфлорнитин, эноцитабин, этилцитидин, флударабин, 5-фторурацил сам по себе или в комбинации с лейковорином, гемцитабин, гидроксимочевину, мелфалан, меркаптопурин, рибозид 6-меркаптопурина, метотрексат, микофеноловую кислоту, неларабин, нолатрексед, окфосфат, пелитрексол, пентостатин, ралтитрексед, рибавирин, триапин, триметрексед, S-1, тиазофурин, тегафур, TS-1, видарабин, UFT и т. п.

[00163] Ингибиторы протеасом могут включать в себя, например, бортезомиб.

[00164] Ингибиторы топоизомеразы включают в себя акларубицин, 9-аминокамптотецин, амонафид, амсакрин, бекатекарин, белотекан, гидрохлорид иринотекана, камптотецин, дексразоксин, дифломотекан, эдотекарин, эпирубицин, этопозид, экзатекан, 10-гидроксикамптотецин, гиматекан, луртотекан, митоксантрон, оратецин, пирарбуцин, пиксантрон, рубитекан, собузоксан, SN-38, тафлупозид, топотекан и т. п.

[00165] В другом варианте осуществления химиотерапевтические агенты представляют собой бортезомиб, карбоплатин, цисплатин, мизонидазол, оксалиплатин,

прокарбазин, талидомид, доцетаксел, гексаметилмеламин, паклитаксел, винкристин, винбластин или винорелбин.

[00166] В одном варианте осуществления химиотерапевтический агент представляет собой доцетаксел, паклитаксел, карбоплатин, доксорубицин, цисплатин, оксалиплатин, капецитабин, 5-фторурацил и лейковорин.

[00167] В различных вариантах осуществления пациент, испытывающий ИХПН, или пациент, который вероятно будет испытывать ИХПН, проходит или ранее проходил лечение химиотерапевтическим агентом, например, одним или большим числом из доцетаксела, паклитаксела, карбоплатина, цисплатина, гемцитабина, оксалиплатина, капецитабина, 5-фторурацила и лейковорина, который вызывает ИХПН у проходящего лечение пациента, или который связан с ИХПН у пациента или может вызвать ИХПН у пациента. У таких пациентов способ лечения или профилактики ИХПН, например ИППН, включает в себя предоставление химиотерапевтического средства, лечение которым пациент проходит или проходил, которое связано в новой лекарственной форме, содержащей композицию, содержащую ПАЛМ, для лечения ИХПН у пациента или для профилактики возникновения ИХПН у проходящего лечение пациента с онкологическим заболеванием.

[00168] В другом варианте осуществления химиотерапевтический агент или агенты вводят для лечения онкологического заболевания.

[00169] В одном варианте осуществления данного изобретения онкологическое заболевание, подлежащее лечению, представляет собой нейрому слухового нерва, острый лейкоз, острый лимфоцитарный лейкоз, острый миелоцитарный лейкоз (моноцитарный, миелобластный, аденокарциному, ангиосаркому, астроцитому, миеломоноцитарный и промиелоцитарный), острый Т-клеточный лейкоз, базально-клеточную карциному, карциному желчных протоков, рак мочевого пузыря, рак головного мозга, рак молочной железы, бронхогенную карциному, рак шейки матки, хондросаркому, хордому, хориокарциному, хронический лейкоз, хронический лимфолейкоз, хронический миелоцитарный (гранулоцитарный) лейкоз, хронический миелогенный лейкоз, рак толстой кишки, колоректальный рак, краниофарингиому, цистаденокарциному, диффузную В-крупноклеточную лимфому, диспролиферативные изменения (дисплазии и метаплазии), эмбриональную карциному, рак эндометрия, эндотелиосаркому, эпендимому, эпителиальную карциному, эритролейкемию, рак пищевода, эстроген-рецептор-положительный рак молочной железы, эссенциальную тромбоцитемию, опухоль Юинга, фибросаркому, фолликулярную лимфому, рак половых клеток яичек, глиому, болезнь тяжелых цепей, гемангиобластому, гепатому, гепатоцеллюлярный рак, нечувствительный к гормонам рак простаты, лейомиосаркому, липосаркому, рак легких, лимфангиоэндотелиосаркому, лимфангиосаркому, лимфобластный лейкоз, лимфому (Ходжкина и неходжкинскую), злокачественные новообразования и гиперпролиферативные заболевания мочевого пузыря, молочной железы, толстой кишки, легких, яичников, поджелудочной железы, простаты, кожи и матки, лимфоидные

злокачественные новообразования Т-клеточного или В-клеточного происхождения, лейкоз, лимфому, медуллярную карциному, медуллобластому, меланому, менингиому, мезотелиому, множественную миелому, миелогенную лейкемию, миелому, миксосаркому, нейробластому, немелкоклеточный рак легких, олигодендроглиому, рак полости рта, остеогенную саркому, рак яичников, рак поджелудочной железы, папиллярные аденокарциномы, папиллярную карциному, пинеалому, истинную полицитемию, рак простаты, рак прямой кишки, почечно-клеточную карциному, ретинобластому, рабдомиосаркому, саркому, карциному сальных желез, семиному, рак кожи, мелкоклеточную карциному легких, солидные опухоли (карциному и саркомы), мелкоклеточный рак легких, рак желудка, плоскоклеточную карциному, синовиому, карциному потовых желез, рак щитовидной железы, макроглобулинемию Вальденстрема, опухоли яичек, рак матки и опухоль Вильмса.

[00170] В еще одном варианте осуществления данного изобретения онкологическое заболевание, подлежащее лечению, выбрано из группы, состоящей из рака яичников, рака шейки матки, колоректального рака, рака предстательной железы, рака молочной железы, аденокарциномы желудка, раковых заболеваний головы и шеи, рака яичек, лейкоза, нейробластомы, лимфомы Ходжкина, неходжкинской лимфомы и немелкоклеточного рака легких.

[00171] Введение композиции, содержащей ПАЛМ и химиотерапевтический агент, и их лекарственных форм может выполняться до, непосредственно до, во время, непосредственно после или после введения одного или большего числа химиотерапевтических агентов. Композицию, содержащую ПАЛМ и химиотерапевтический агент, можно вводить профилактически до установления ИХПН или для лечения установленной ИХПН. Установленная ИХПН может быть острой или хронической.

[00172] В различных вариантах осуществления способов профилактики и лечения ИХПН, представленных в данном документе, композиции, вводимые пациенту с онкологическим заболеванием до, во время или после ИХПН, могут содержать количество химиотерапевтического агента в диапазоне от около 5 мг до около 5000 мг, которое может составлять эффективную дозу, или субэффективную дозу, или суточную дозу, или разделенную суточную дозу химиотерапевтического агента.

[00173] В некоторых вариантах осуществления цисплатин можно вводить в диапазоне от 20 мг/м² до 140 мг/м² курсами по 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8. Например, цисплатин можно вводить в дозе 20 мг/м² ежедневно в течение пяти суток за курс. Цисплатин можно вводить в дозе от 75 до 100 мг/м² один раз за курс каждые четыре недели (1-е сутки). Цисплатин можно вводить в дозе от 50 до 70 мг/м² один раз за курс каждые три-четыре недели (1-е сутки).

[00174] Карбоплатин можно вводить в дозе около 300 мг/м² или меньше, или в дозе около 360 мг/м² или меньше один раз за курс каждые три-четыре недели (1-е сутки). Карбоплатин можно вводить курсами по 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8.

[00175] Оксалиплатин можно вводить в дозе около 85 мг/м^2 или меньше один раз за курс каждые 2 недели. Оксалиплатин можно вводить курсами по 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8.

[00176] Доцетаксел можно вводить в дозе от около 60 мг/м^2 до около 100 мг/м^2 курсами по 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8. Например, доцетаксел можно вводить в дозе 75 мг/м^2 один раз за курс каждые три недели (1-е сутки).

[00177] Паклитаксел можно вводить в дозе от около 100 мг/м^2 до около 175 мг/м^2 курсами по 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8. Паклитаксел можно вводить в дозе около 100 мг/м^2 один раз за курс каждые три недели (1-е сутки). Паклитаксел можно вводить в дозе около 135 мг/м^2 один раз за курс каждые 3 недели (1-е сутки). Паклитаксел можно вводить в дозе около 175 мг/м^2 один раз за курс каждые 3 недели (1-е сутки).

[00178] Винкристин можно вводить в дозе от около $0,4 \text{ мг/м}^2$ до около $1,4 \text{ мг/м}^2$ один раз за курс каждые одну-четыре недели (1-е сутки). Винкристин можно вводить курсами по 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8.

[00179] Винбластин можно вводить в дозе от около $3,7 \text{ мг/м}^2$ до около $18,5 \text{ мг/м}^2$ один раз за курс каждые одну-четыре недели (1-е сутки). Например, винбластин можно вводить в дозе $3,7 \text{ мг/м}^2$, $5,5 \text{ мг/м}^2$, $7,4 \text{ мг/м}^2$, $9,25 \text{ мг/м}^2$ или $11,1 \text{ мг/м}^2$. Винбластин можно вводить курсами по 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8.

[00180] Винорелбин можно вводить в дозе от около 25 мг/м^2 до около 120 мг/м^2 один раз за курс каждые одну-шесть недель (1-е сутки). Например, винорелбин можно вводить в дозе 30 мг/м^2 . Винорелбин можно вводить курсами по 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8.

[00181] В одном варианте осуществления композиции, содержащие ПАЛМ и химиотерапевтический агент, и их лекарственные формы вводят один раз в сутки в течение курса лечения, например, вводят в 1-е сутки курса, при этом курс составляет 5 суток, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель или 6 недель.

[00182] В одном варианте осуществления композиции, содержащие ПАЛМ и химиотерапевтический агент, и их лекарственные формы вводят два раза в сутки в течение курса лечения, например, вводят в 1-е сутки курса, при этом курс составляет 5 суток, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель или 6 недель.

[00183] В одном варианте осуществления композиции, содержащие ПАЛМ и химиотерапевтический агент, и их лекарственные формы вводят два раза в неделю в течение курса лечения, например, вводят в 1-е сутки курса, при этом курс составляет 5 суток, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель или 6 недель.

[00184] В одном варианте осуществления композиции, содержащие ПАЛМ и химиотерапевтический агент, и их лекарственные формы вводят один раз в неделю в течение курса лечения, например, вводят в 1-е сутки курса, при этом курс составляет 5 суток, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель или 6 недель.

[00185] В одном варианте осуществления композиции, содержащие ПАЛМ и химиотерапевтический агент, и их лекарственные формы вводят один раз в неделю в течение курса лечения, например, вводят в 1-е сутки курса, при этом курс составляет 5 суток, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель или 6 недель.

[00186] В одном варианте осуществления композиции, содержащие ПАЛМ и химиотерапевтический агент, и их лекарственные формы вводят один раз в сутки в течение курса лечения, при этом химиотерапевтический агент или агенты вводят в 1-е сутки курса, при этом курс составляет 5 суток, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель или 6 недель.

[00187] В одном варианте осуществления композиции, содержащие ПАЛМ и химиотерапевтический агент, и их лекарственные формы вводят два раза в сутки в течение курса лечения, при этом химиотерапевтический агент или агенты вводят в 1-е сутки курса, при этом курс составляет 5 суток, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель или 6 недель.

[00188] В одном варианте осуществления композиции, содержащие ПАЛМ и химиотерапевтический агент, и их лекарственные формы вводят два раза в неделю в течение курса лечения, при этом химиотерапевтический агент или агенты вводят в 1-е сутки курса, при этом курс составляет 5 суток, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель или 6 недель.

[00189] В одном варианте осуществления композиции, содержащие ПАЛМ и химиотерапевтический агент, и их лекарственные формы вводят один раз в неделю в течение курса лечения, при этом химиотерапевтический агент или агенты вводят в 1-е сутки курса, при этом курс составляет 5 суток, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель или 6 недель.

[00190] В одном варианте осуществления композиции, содержащие ПАЛМ и химиотерапевтический агент, и их лекарственные формы вводят один раз в неделю в течение курса лечения, при этом химиотерапевтический агент или агенты вводят в 1-е сутки курса, при этом курс составляет 5 суток, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель или 6 недель.

[00191] В другом варианте осуществления композиции, содержащие ПАЛМ и химиотерапевтический агент, и их лекарственные формы вводят по меньшей мере за одни сутки до химиотерапии. В другом варианте осуществления композиции, содержащие ПАЛМ и химиотерапевтический агент, и их лекарственные формы вводят за двое суток до химиотерапии. В другом варианте осуществления композиции, содержащие ПАЛМ и химиотерапевтический агент, и их лекарственные формы вводят за одну неделю до химиотерапии. В еще одном варианте осуществления композиции, содержащие ПАЛМ и химиотерапевтический агент, и их лекарственные формы вводят непосредственно перед каждым сеансом химиотерапевтической терапии. В еще одном варианте осуществления композиции, содержащие ПАЛМ и химиотерапевтический агент, и их лекарственные формы вводят одновременно с каждым сеансом химиотерапевтической терапии. В еще одном варианте осуществления композиции, содержащие ПАЛМ и химиотерапевтический агент, и их лекарственные формы вводят после химиотерапии.

[00192] В подмножестве вышеуказанных вариантов осуществления химиотерапия и сеанс химиотерапевтической терапии могут включать в себя однократное введение или

многократное введение композиций согласно данному изобретению, например, композиций, содержащих ПАЛМ и химиотерапевтический агент, в отсутствие каких-либо дополнительных химиотерапевтических агентов. В других связанных вариантах осуществления, примеры которых представлены выше, химиотерапия и сеанс химиотерапевтической терапии включают в себя введение химиотерапевтического агента, отличного от химиотерапевтического агента, присутствующего в композициях и лекарственных формах, содержащих ПАЛМ и химиотерапевтический агент, и ссылка на химиотерапию и сеанс химиотерапевтической терапии означает введение химиотерапевтического агента, отличного от химиотерапевтического агента, присутствующего в композиции, содержащей ПАЛМ и химиотерапевтический агент.

[00193] Данное изобретение дополнительно позволяет вводить более высокие дозы химиотерапии. Кроме того, данное изобретение позволяет проводить дополнительные курсы химиотерапии. Данное изобретение также позволяет сократить время между курсами химиотерапии.

[00194] Тяжесть заболевания ИХПН отражается в степени, т. е. 0, 1, 2, 3 или 4. Шкала повышается со степени 0, нормальной и бессимптомной, до степени 4, инвалидизирующей и/или опасной для жизни. (Postma T. J., *Annals of Oncology* 1998 9:739-744). Степень 3 требует корректирующих мер, включая снижение дозы и/или задержки.

[00195] Существует несколько шкал Общих критериев токсичности (англ. «СТС»), используемых в клинической практике для оценки тяжести ИХПН: шкала Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), шкала Восточной объединенной онкологической группы (англ. «ECOG»), Общие критерии токсичности Национального института онкологии США (англ. «NCI-СТС») и шкала Аджани. (Cavaletti G., et al., *European Journal of Cancer* 2010 46:479-494). Шкалы представляют собой комбинацию объективной оценки и восприятия пациентами влияния ИХПН.

[00196] В одном варианте осуществления данного изобретения представлены способы лечения, в том числе профилактического лечения, индуцированной химиотерапией периферической нейропатии композицией согласно данному изобретению, содержащей ПАЛМ и химиотерапевтический агент, при этом снижается частота ИХПН степени 3 или 4. В другом варианте осуществления снижается частота ИХПН степени 1 или 2. В другом варианте осуществления частота ИХПН степени 3 или 4 снижается до ИХПН степени 1 или 2. В другом варианте осуществления частота ИХПН степени 2 снижается до степени 1.

[00197] В данном изобретении дополнительно представлен способ смягчения нейротоксических эффектов химиотерапевтического агента, при этом снижается частота ИХПН степени 3 или 4. В другом варианте осуществления снижается частота ИХПН степени 1 или 2. В другом варианте осуществления частота ИХПН степени 3 или 4 снижается до ИХПН степени 1 или 2. В другом варианте осуществления частота ИХПН степени 2 снижается до степени 1.

[00198] В качестве альтернативы ИХПН можно оценить на основании оценивания качества жизни. Одним из способов такого оценивания является вопросник QLQ-CIPN20 Европейской организации по исследованию и лечению онкологических заболеваний (англ. «EORTC»). (Cavaletti G., et al., European Journal of Cancer 2010 46:479-494).

[00199] В одном варианте осуществления данного изобретения происходит улучшение ИХПН согласно оценивания по вопроснику EORTC QLQ-CIPN 20, когда пациенту с онкологическим заболеванием выполняют одно или большее число введений композиций согласно данному изобретению, содержащих ПАЛМ и химиотерапевтический агент, при этом агент, вызывающий или связанный с ИХПН, является тем же химиотерапевтическим агентом, который присутствует в композициях согласно данному изобретению.

[00200] В одном варианте осуществления данного изобретения представлены способы лечения или профилактики индуцированной химиотерапией нейропатической боли с помощью композиций согласно данному изобретению, содержащих ПАЛМ и химиотерапевтический агент. Нейропатическая боль - это труднокупируемая боль, вызванная дисфункцией периферической или центральной нервной системы.

[00201] Боль можно оценить на основании оценивания качества жизни. Одним из способов такого оценивания является вопросник EORTC QLQ-C30/L13 Европейской организации по исследованию и лечению онкологических заболеваний (англ. «EORTC»).

[00202] В одном варианте осуществления данного изобретения происходит уменьшение боли на основании оценивания по вопроснику EORTC QLQ-C30/L13.

[00203] В одном варианте осуществления данного изобретения боль представляет собой периферическую нейропатическую боль или центральную нейропатическую боль.

[00204] В другом варианте осуществления данного изобретения боль является хронической или острой.

[00205] В другом варианте осуществления данного изобретения сокращается применение поддерживающей терапии при болях. Поддерживающая терапия включает в себя, например, НПВП или опиоиды.

[00206] Все ссылки, включая публикации, патентные заявки и патенты, указанные в данном документе, включены в данный документ посредством ссылки в той же степени, как если бы каждая ссылка была индивидуально и конкретно указана включенной посредством ссылки и была изложена в данном документе во всей своей полноте.

[00207] Употребление терминов в единственном числе и аналогичных ссылок на единственное число в контексте описания данного изобретения (особенно в контексте прилагаемой формулы данного изобретения) должно толковаться как охватывающее термины и в единственном числе, и во множественном числе, если иное не указано в данном документе или не противоречит контексту. Термины «включающий в себя», «имеющий», «в том числе» и «содержащий» должны толковаться как открытые термины (т. е. означающие «включая, но не ограничиваясь»), если не указано иное. Перечисление диапазонов значений в данном документе предназначено лишь для того, чтобы служить

кратким способом индивидуальной ссылки на каждое отдельное значение, попадающее в этот диапазон, если в данном документе не указано иное, и каждое отдельное значение включено в описание, как если бы оно было отдельно указано в данном документе. Все способы, описанные в данном документе, могут быть выполнены в любом подходящем порядке, если иное не указано в данном документе или явно не противоречит контексту. Употребление любого и всех примеров или иллюстративных формулировок (например, «такой как»), представленных в данном документе, предназначено только для лучшей иллюстрации данного изобретения и не накладывает ограничения на объем данного изобретения, если не заявлено иное. Ни одна формулировка в данном описании не должна истолковываться как указывающая на какой-либо не заявленный элемент как существенный для практического осуществления данного изобретения.

[00208] В данном документе описаны предпочтительные варианты осуществления данного изобретения, включая наилучший способ осуществления данного изобретения, известный авторам данного изобретения. Вариации предпочтительных вариантов осуществления могут стать очевидными для специалистов в данной области техники после прочтения вышеизложенного описания. Авторы ожидают, что квалифицированные специалисты будут использовать такие вариации в соответствующих случаях, а также авторы предполагают, что данное изобретение будет реализовано на практике иначе, чем конкретно описано в данном документе. Соответственно, данное изобретение включает в себя все модификации и эквиваленты предмета данного изобретения, изложенного в прилагаемой формуле изобретения, как это разрешено применимым законодательством. Более того, данное изобретение охватывает любую комбинацию описанных выше элементов во всех возможных вариациях, если в данном документе не указано иное или если это явно не противоречит контексту.

ПРИМЕРЫ

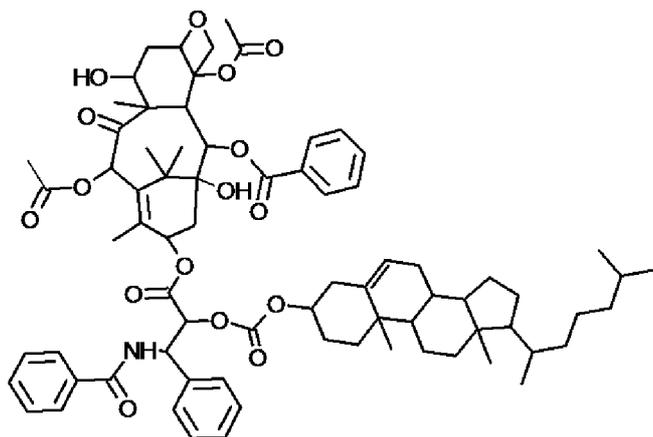
[00209] Пример 1. Синтез и очистка пептидов

[00210] Пептиды получали с помощью стандартных методик твердофазного синтеза с применением Fmoc в компании GenScript USA, Inc. (г. Пискатауэй, штат Нью-Джерси, США). Определенные пептиды модифицировали на концевых аминокислотах путем ацетилирования N-конца и амидирования C-конца с помощью стандартных методик. Пептиды хроматографически очищали до чистоты, превышающей 95%, с помощью стандартного способа высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) для очистки пептидов. Чистоту подтверждали с помощью ВЭЖХ и масс-спектроскопического анализа.

[00211] Пример 2. Синтез паклитаксел-2'-холестерилкарбоната (ПХК)

[00212] Пятьдесят миллиграммов паклитаксела растворяли в 2 мл хлороформа, а затем соединяли с 1,5-молярным избытком холестеролхлорформиата в 2 мл хлороформа плюс 4 мл N, N-диизопропилэтиламина и 2 мл ацетонитрила. Смесь перемешивали в течение ночи при температуре окружающей среды, а затем сушили на ротаторном испарителе. Затем полученный беловатый осадок растворяли в этилацетате/гексане (3:1) и

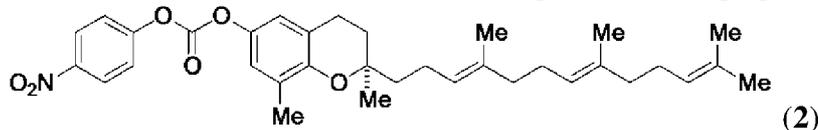
экстрагировали водой, сушили, а затем повторно растворяли в хлороформе. Образование продукта подтверждали с помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ) с использованием этилацетата/гексана (3:1) в качестве подвижной фазы (R_f паклитаксела=0,4, R_f паклитаксел-7-карбонилхолестерола=0,92). Дальнейшую очистку продукта затем проводили на колонке из силикагеля с использованием этилацетата/гексана (3:1) в качестве подвижной фазы с получением указанного в заголовке соединения (1). Структуру подтверждали масс-спектрометрией и ЯМР-анализом.



(1)

[00213] **Пример 3. Синтез паклитаксел-2'- δ -токотриенилкарбоната (ПТТК, также известного как ПТЗК или соединение 1)**

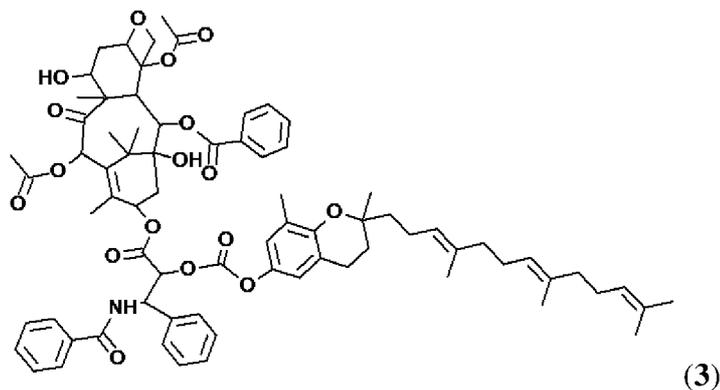
[00214] Стадия 1. Синтез дельта-токотриенол-*p*-нитрофенилкарбоната



(2)

[00215] К раствору дельта-токотриенола (25 мг, 0,0629 ммоль) в безводном метиленхлориде (1,5 мл) добавляли 4-нитрофенилхлорформиат (51 мг, 0,25 ммоль) и триэтиламин (35 мкл, 0,25 ммоль) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч, концентрировали, а затем получали желаемый продукт (2) с использованием препаративной ТСХ с этилацетатом/гептанами (10:90) в качестве элюента. Желаемый продукт был получен в виде желтого порошка (18 мг). ^1H -ЯМР (CDCl_3): δ 8,30 (d, 2H), 7,45 (d, 2H), 6,80 (dd, 2H), 5,05-5,20 (m, 3H), 2,72-2,78 (t, 2H), 2,18 (s, 4H), 1,95-2,15 (m, 4H), 1,72-1,85 (m, 4H), 1,68 (s, 3H), 1,55-1,62 (br s, 12 H), 1,30 (br s, 5H).

[00216] Стадия 2. Синтез паклитаксел-дельта-токотриенолкарбоната (3)



[00217] Объединяли раствор соединения (2) (18 мг, продукт стадии 1) в метилхлориде (2 мл), паклитаксел (28 мг) и диметиламинопиридин (ДМАП, 10 мг) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч. Полученную смесь концентрировали и очищали с помощью препаративной ТСХ с использованием этилацетата/гептанов (50:50) в качестве элюента. Желаемый продукт (3) (17 мг) был получен в виде бесцветного твердого вещества. ТСХ-анализ (R_f 0,25, этилацетат/гексаны: 1:1). ^1H -ЯМР (CDCl_3): δ 8,20 (d, 2H), 7,75 (d, 2H), 7,60-7,62 (m, 1H), 7,30-7,52 (m, 9H), 6,90-6,95 (d, 1H), 6,60-6,75 (dd, 2H), 6,20-6,30 (m, 2H), 6,00-6,05 (m, 1H), 5,70-5,75 (d, 1H), 5,50 (s, 1H), 5,10-5,20 (br s, 2H), 4,95-5,00 (d, 1H), 4,30-4,35 (br s, 1H), 4,20-4,30 (dd, 2H), 3,75-3,80 (d, 1H), 2,70-2,75 (m, 2H), 2,30-2,60 (m, 7H), 2,23-2,27 (m, 11H), 1,50-2,20 (m, 26H), 1,25 (m, 9H), 1,15 (s, 3H).

[00218] **Пример 4. Получение пептидно-амфифильных липидных мицелл (ПАЛМ)**

[00219] Отдельные исходные растворы пептида и фосфолипидов готовили в смеси растворителей, состоящей из 80% трет-бутилового спирта (ТБС) и 20% воды, для получения отдельных растворов 10 мМ пептида, 20 мМ 1,2-диолеоил-sn-глицеро-3-фосфохолина (ДОФХ) или 20 мМ 1-пальмитоил-2-олеоилфосфатидилхолина (ПОФХ) и 20 мМ яичного СМ. Аликвоты исходного раствора объединяли для получения конечного раствора, содержащего 10 молярных эквивалентов пептида, 42 молярных эквивалента фосфатидилхолина и 18 молярных эквивалентов СМ. Растворы объединяли в стеклянный флакон объемом 1,5 мл, замораживали (-70°C) и лиофилизировали при температуре от -5°C до -10°C в течение ночи. Полученную лиофилизированную массу регидрировали добавлением фосфатно-солевого буфера Дульбекко с последующим мягким перемешиванием содержимого. Формирование ПАЛМ завершали инкубацией раствора ПАЛМ при 50°C в течение 10 минут. Некоторые пептидные комплексы оставались мутными при нагревании и также подвергались одному циклу замораживания до -80°C с последующим оттаиванием до комнатной температуры в попытке получить прозрачный раствор. Качество препаратов ПАЛМ было очевидно по их внешнему виду. Визуальная прозрачность препарата указывала на то, что любые образовавшиеся наночастицы имели диаметр меньше чем около 40 нм, основываясь на эффекте Тиндаля. Результаты представлены в таблице 5.

Таблица 5

Стабильность комплексов пептид/фосфолипид на основании визуальной оценки						
Фосфолипид Содержание ^a	Моль Соотношение ФХ/СМ	Молярное соотношение C ₁₆ ПТТК/ФЛ	Пептид			
			SEQ ID No. 25 ^b	SEQ ID No. 26	SEQ ID No. 27	SEQ ID No. 32
ПОФХ, СМ	70/30	0	Прозра чный	Прозрач ный	Прозрач ный	Прозрач ный
ПОФХ, СМ	70/30	0,1	Прозра чный	Мутный	Мутный	Мутный
ДОФХ, СМ	70/30	0	Прозра чный		Мутный	Мутный
ДОФХ, СМ	70/30	0,1	Прозра чный			Мутный

^a 1-пальмитоил-2-олеоилфосфатидилхолин (ПОФХ), 1,2-диолеоилфосфатидилхолин (ДОФХ), яичный сфингомиелин (СМ), фосфатидилхолин (ФХ), фосфолипиды (ФЛ), паклитаксел-2'-пальмитат (C₁₆ПТТК)

^b Молярное отношение пептида к фосфолипидам составляло 1/4.

[00220] Пример 5. Иллюстративное получение ПАЛМ

[00221] Пептид, имеющий аминокислотную последовательность, как указано в SEQ ID NO: 35, с противоионами ацетата, был синтезирован на заказ стандартным твердофазным пептидным синтезом с использованием ФМОС. Исходные растворы компонентов ПАЛМ готовили следующим образом. 10-миллимолярный раствор пептида готовили в смеси трет-бутиловый спирт (ТБС)/вода/уксусная кислота (80:20:7). Двадцатимиллимолярные растворы ПОФХ и СМ готовили в смеси ТБС/вода (80/20). 10-миллимолярный раствор ПТТК находился в смеси ТБС/вода (95:5).

[00222] Получение ПАЛМ начинали путем смешивания 10 мМ ПТТК (эквивалент 1 моля), плюс 20 мМ ПОФХ (эквивалент 5,6 моля), плюс 20 мМ СМ (эквивалент 2,4 моля), плюс 10 мМ SEQ ID NO: 35 (эквивалент 2 моля). Смешанный объем замораживали путем взбалтывания в ванне с сухим льдом/2-пропанолом и дальнейшего замораживания путем помещения в морозильную камеру при температуре -76°C на 1 час. Смесь лиофилизировали в течение 24 часов при -15°C, а затем еще 20 часов при 15°C. К полученному лиофилизату добавляли объем стерильного фосфатно-солевого буфера Дульбекко для получения 6,3 мМ ПТТК (эквивалент 5,4 мг/мл ПТТК). Образцы кратковременно перемешивали, чтобы растворить осадок, а затем помещали на водяную баню при температуре 55°C в течение 30 минут и, наконец, кратковременно (~10-20 секунд) выдерживали в звуковой камере ультразвукового соникатора на водяной бане.

Образцы стерилизовали фильтрацией через полиэфирсульфоновые (ПЭС) фильтры калибра 25 мм x 0,2 мкм и объединяли. Полученный стерильный препарат распределяли по стеклянным флаконам, не содержащим пирогенов, которые закрывали пробками из бутылкаучука с обтяжными алюминиевыми крышками и хранили при температуре 4°C.

[00223] Пример 6. Ингибирование роста SKOV-3 in vitro

[00224] Клетки SKOV-3 высевали в 96-луночные культуральные планшеты по 5000 клеток/лунка в 100 мкл минимальной питательной среды Дульбекко, содержащей 10% фетальной бычьей сыворотки, и инкубировали при 37°C в инкубаторе, содержащем 5% CO₂, в увлажненной атмосфере. Через 24 часа среду заменяли полной средой, содержащей исследуемые соединения. Наивысшую концентрацию паклитаксела в полной среде (10 мкМ) получали путем добавления 1 мМ исходного раствора паклитаксела в ДМСО. Исходные препараты ПАЛМ - 3 мМ ПТТК в ПАЛМ - разбавляли в среде до концентрации 50 мкМ. Выполняли серийное разведение исследуемых растворов в полной среде для получения исследуемых растворов с более низкими концентрациями. Клетки инкубировали с растворами исследуемых соединений в течение 72 часов. Затем во все лунки добавляли по 20 мкл 5 мг/мл тиазолилового синего тетразолий бромида в фосфатно-солевом буфере (ФСБ) с последующей 4-часовой инкубацией. Все лунки промывали фосфатно-солевым буфером Дульбекко (с кальцием/магнием) и снова заполняли их ДМСО, по 100 мкл. Планшеты инкубировали при 37°C в течение 30 минут с последующим определением оптической плотности в каждой лунке с помощью планшетного анализатора, установленного на считывание при 590 нм. Концентрацию, приводящую к 50%-му ингибированию роста (IC₅₀), определяли путем нелинейного регрессионного встраивания данных в модель логистического уравнения. Средняя оптическая плотность контрольных лунок отображала 100%-й рост.

[00225] Пример 7. Выработка цитокинов

[00226] Клетки SKOV-3 высевали в 96-луночные культуральные планшеты по 10000 клеток/лунка в 100 мкл минимальной питательной среды Дульбекко, содержащей 10% фетальной бычьей сыворотки. Через 24 часа среду удаляли. Слои клеток промывали фосфатно-солевым буфером Дульбекко (с кальцием/магнием). Лунки снова заполняли средой без сыворотки, содержащей исследуемые соединения. Исследовали такие условия: 1) без добавления исследуемых соединений; 2) липополисахарид, 10 мкг/мл; 3) паклитаксел, 10 мкМ (добавленный в среду из исходного раствора в ДМСО); и 4) ПАЛМ(ПТТК) в концентрации, эквивалентной 10 мкМ паклитаксела, приготовленные с пептидом SEQ ID NO: 25. Клетки инкубировали в течение 24 часов. Затем среды собирали и центрифугировали (микроцентрифуга, 1500 об/мин). Супернатанты собирали и замораживали для анализа на цитокины. Содержание интерлейкина 6 (ИЛ-6) в среде определяли с помощью набора реактивов для определения ИЛ-6 человека от RayBiotech Life (г. Пичтри Корнерс, штат Джорджия, США).

[00227] Пример 8. Ксенотрансплантаты SKOV-3 у мышей

[00228] Протокол был одобрен Институциональным комитетом по содержанию и

использованию животных. Тридцать самок бестимусных мышей NU(NCr)-Foxn1nu (Harlan Laboratories) содержали в облученных стерильных клетках с индивидуальной вентиляцией (до 5 мышей на клетку) при температуре 22-25°C, влажности 40-60% при 12 часах света и 12 часах темноты. Клетки содержали облученную подстилку из кукурузных початков и стерильную воду. Рацион состоял из стерилизованной облучением сухой гранулированной пищи. Мышей акклиматизировали в течение 7 суток.

[00229] Опухолевые клетки яичников человека SKOV-3 (ATCC) поддерживали *in vitro* в виде монослойной культуры в среде МакКоя 5А, дополненной 10% фетальной бычьей сывороткой при 37°C в воздушной атмосфере с 5% CO₂. Клетки регулярно подвергали субкультуре два раза в неделю путем обработки трипсином-ЭДТА (0,25% трипсин-ЭДТА). Клетки в фазе экспоненциального роста собирали и анализировали методом проточной цитометрии на цитометре GUAVA PCA относительно числа клеток и их жизнеспособность (99%) перед ксенотрансплантацией.

[00230] Тридцати мышам в возрасте 9-11 недель подкожно инокулировали в область бока опухолевые клетки SKOV-3 ($1,0 \times 10^6$) в 0,1 мл 1хФСБ, смешанного с матригелем (1:1) для развития опухоли. Измеримые опухоли (50-100 мм³) развились через 7 суток. Двадцать пять животных с опухолями около 50-100 мм³ (измеренными электронным штангенциркулем) были отобраны для исследования и случайным образом распределены по группам 1-5 с использованием схемы рандомизированных блоков следующим образом. Сначала подопытных животных разделили на 5 однородных блоков в зависимости от объема их опухоли. Затем в рамках каждого блока проводили рандомизацию экспериментальных животных по разным группам.

[00231] Мышей ежедневно проверяли на болезненность, смертность и любые неблагоприятные эффекты роста опухоли и лечения на нормальное поведение, такое как подвижность, визуальная оценка потребления пищи и воды, увеличение/потеря массы тела, на предмет изменения состояния глаз/шерсти и любые другие патологические проявления.

[00232] Инъекции исследуемых растворов в хвостовую вену выполняли с помощью шприцевого насоса Genie Touch (Kent Scientific). Для доступа к хвостовым венам использовали инфузионные системы Terumo Surshield с защитными лопастями (S25BLS, 25Gx3/4). Для каждого отдельного исследуемого соединения использовали новый шприц. Все работы выполнялись в боксе биологической безопасности.

[00233] Введение доз соединений проводили на 7-е, 11-е, 15-е, 19-е, 23-е и 27-е сутки. За 0-е сутки приняли день проведения ксенотрансплантации. Всем мышам вводили дозу в 8 мг/кг. Группы введения исследуемых растворов были следующими: 17% кремофор EL/этанол (1:1) в физиологическом растворе (носитель паклитаксела) (группа 1); 1,25 мг/мл паклитаксела в смеси кремофор EL/этанол/физиологический раствор (группа 2); ПАЛМ(ПТТК) в концентрации, эквивалентной 1 мг/мл паклитаксела (группа 3); ПАЛМ(ПТТК) в концентрации, эквивалентной 2,5 мг/мл паклитаксела (группа 4); и ПАЛМ без ПТТК в концентрации, эквивалентной 1,25-кратному количеству компонентов

ПАЛМ из группы 4 (группа 5). ПАЛМ были приготовлены с пептидом SEQ ID NO: 35.

[00234] Объемы опухолей измеряли на 7-е, 12-е, 17-е, 22-е, 27-е, 32-е, 37-е и 42-е сутки в двух измерениях с использованием электронного штангенциркуля, а объем выражали в мм³ по формуле: $V=0,5 a \times b^2$, где а и b - продольный и поперечный диаметры опухоли соответственно.

[00235] **Пример 9. Индуцированная химиотерапевтическим агентом периферическая нейропатия (ИХПН) у крыс**

[00236] Паклитаксел фармацевтической степени чистоты (ПТК, Teva Pharmaceuticals) разводили из исходного раствора концентрацией 6 мг/мл в смеси кремафора EL и этанола 1:1 до концентрации 1 мг/мл в физиологическом растворе. ПТК вводили в дозе 1 мг/кг каждые вторые сутки в общей сложности 6 раз. ПАЛМ, приготовленные с пептидом SEQ ID NO: 35 и содержащие ПТТК, вводили в дозе, эквивалентной 1 мг/кг ПТК, и в дозе, эквивалентной 2,7 мг/кг ПТК, применяя ту же схему введения доз, что и для ПТК. Все инъекции лекарственных препаратов и носителей выполняли внутривенно на 2-е, 4-е, 6-е, 8-е, 10-е и 12-е сутки.

Самцы крыс Спрег-Дули в контрольной и экспериментальной группах получали эквивалентные объемы раствора. Всего было 5 групп с размером выборки по 10 животных на группу. Группа А получала раствор смеси кремофор EL/этанол/физиологический раствор, эквивалентный дозе раствора, в котором вводили ПТК; группа В получала 1 мг/кг паклитаксела; группа С получала фосфатно-солевой буфер (носитель ПАЛМ); группа D получала ПТТК в ПАЛМ в концентрации, эквивалентной 1 мг/кг ПТК; группа E получала ПТТК в ПАЛМ в концентрации, эквивалентной 2,7 мг/кг ПТК.

[00237] Животных размещали парами, причем каждая пара животных принадлежала к одной и той же группе, для контроля воздействия соединения вследствие выделения паклитаксела (и, возможно, исследуемого соединения) с мочой и калом, в помещении с регулируемой температурой с циклом света/темноты 12:12 (с 7 утра до 7 вечера) со свободным доступом к воде и пище. Все процедуры были одобрены Институциональным комитетом по содержанию и использованию животных и соответствовали руководящим принципам, изложенным Комитетом по исследованиям и этическим вопросам Международной ассоциации по изучению боли (Zimmerman, 1983).

[00238] Чтобы определить момент начала периферической нейропатии, животных обследовали на предмет изменений значений порога механического отведения лапы (ПМОЛ) на исходном уровне, а затем через сутки в течение 14-суточного протокола (1-е сутки (базовый уровень), 3-и, 5-е, 7-е, 9-е, 11-е, 13-е сутки). Для этого исследования животных помещали в камеру из органического стекла (20 см x 10,5 см x 40,5 см) и давали привыкнуть в течение 15 минут. Камера была расположена поверх сетчатого экрана таким образом, чтобы можно было воздействовать механическими раздражителями на подошвенную поверхность обеих задних лап. Измерения механического порога для каждой задней лапы получали с использованием движения вверх/вниз с помощью восьми калиброванных нитей фон Фрея (3,85, 5,68, 9,74, 18,39, 39,42, 77,30, 135,30 и 251,34 мН).

Каждое испытание начинали с силы фон Фрея 9,74 мН, приложенной к правой задней лапе примерно на 1 секунду, а затем к левой задней лапе. Если реакции отведения не последовало, то применяли следующую более высокую силу. Если следовала реакция, то далее применяли следующую меньшую силу. Эту процедуру продолжали до тех пор, пока не было получено ответа с наибольшей силой (251,34 мН) или пока не были приложены четыре стимула после первоначального ответа. Порог реакции отведения для каждой лапы рассчитывали по следующей формуле: $[X_{th}]_{log} = [vFr]_{log} + ky$, где $[vFr]$ - значение силы последней использованной нити фон Фрея, $k=0,2593$, что является средним интервалом (в логарифмических единицах) между значениями нитей фон Фрея, а y - значение, которое зависит от характера реакции отведения. Если животное не реагировало на нить фон Фрея, имеющую наивысшее значение силы, то $y = 1,00$, и реакцию механического отведения лапы для данной лапы принимали как равную 456,63 мН. Исследование ПМОЛ проводили в трех повторностях за сеанс, и значения порога отведения усредняли по трем повторностям, чтобы определить средний порог механического отведения лапы для каждого животного.

[00239]

[00240] **Пример 10. Получение ПАЛМ, содержащих флуоресцентный краситель ДТИ**

[00241] Аликвоту объемом 40 мкл пептида в концентрации 10 мМ смешивали с 56 мкл 20 мМ ПОФХ, 24 мкл 20 мМ СМ (яичный) и 16 мкл 2,5 мМ ДТИ в небольшом стеклянном флаконе. Растворы пептидов и липидов готовили в смеси 80% ТБС/20% воды. Исходный раствор ДТИ готовили в смеси 92% ТБС/8% воды. Объединенный раствор лиофилизировали, а полученный осадок регидрировали добавлением 0,2 мл фосфатно-солевого буфера Дульбекко. Полученный раствор кратковременно перемешивали, обрабатывали ультразвуком на водяной бане (в течение около 15 с) и помещали в нагревательный блок с температурой 50°C на 20 минут.

[00242] **Пример 11. Получение ПАЛМ, содержащих мириплатин**

[00243] Аликвоту объемом 50 мкл с концентрацией 10 мМ пептида, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25, в 80% ТБС/20% воды, соответствующую 2,5 мольным эквивалентам пептида, объединяли с 3 мольными эквивалентами ПОФХ и 7 мольными эквивалентами яичного СМ из исходных растворов концентрацией 40 мМ и 20 мМ, соответственно, составленных в той же смеси растворителей. К полученной смеси добавляли 0,75 молярных эквивалентов мириплатина (Medkoo Biosciences, г. Роли, штат Северная Каролина, США) из исходного раствора концентрацией 1 мМ, приготовленного в 100% ТБС. Полученный раствор лиофилизировали, а полученный осадок регидрировали добавлением 0,4 мл 5%-й декстрозы в воде. Полученный раствор кратковременно перемешивали, обрабатывали ультразвуком на водяной бане (в течение около 15 с) и помещали в нагревательный блок с температурой 50°C на 20 минут. Полученный прозрачный раствор пропускали через стерилизационный полиэфирсульфоновый фильтр калибра 0,2 мкм и хранили при 4°C.

Анализ размера частиц (пример 16) с помощью ДРС показал, что их средний гидродинамический диаметр составляет 8 нм. Результаты ЭХПР подтвердили единую популяцию частиц, сравнимых по размеру с ЛПВП. ЭХПР-хроматограмма показана на фиг. 2 (мириплатин (сплошная линия), ЛПВП человека (пунктирная линия)).

[00244] Пример 12. Получение ПАЛМ, содержащих паклитакселхолестерилкарбонат (ПХК)

[00245] Аликвоту объемом 50 мкл пептида с SEQ ID NO: 25 с концентрацией 10 мМ в 80% ТБС/20% воды, соответствующую 2,5 молярным эквивалентам пептида, объединяли с 7 молярными эквивалентами ПОФХ и 3 молярными эквивалентами яичного СМ из исходных растворов концентрацией 20 мМ, составленных в той же смеси растворителей. К полученной смеси добавляли 1 молярный эквивалент ПХК из 10 мМ исходного раствора в 92% ТБС/8% воды. Полученный раствор лиофилизировали, и полученный осадок регидрировали фосфатно-солевым буфером Дульбекко до конечной концентрации ПХК 1 мМ. Средний гидродинамический диаметр данного препарата, определенный с помощью ДРС, составил 9 нм (пример 16). Анализ размеров с помощью ЭХПР показал наличие единой популяции частиц, которые в основном имеют диаметр 10 нм (фиг. 3).

[00246] Пример 13. Получение ПАЛМ, содержащих паклитаксел- δ -токотриенилкарбонат (ПТТК)

[00247] Аликвоту объемом 50 мкл пептида с SEQ ID NO: 25 с концентрацией 10 мМ в 80% ТБС/20% воды, соответствующую 2,5 молярным эквивалентам пептида, объединяли с 7 молярными эквивалентами ПОФХ и 3 молярными эквивалентами яичного СМ из исходных растворов концентрацией 20 мМ, составленных в той же смеси растворителей. К полученной смеси добавляли 1 молярный эквивалент ПТТК из 10 мМ исходного раствора в 92% ТБС/8% воды. Лиофилизированную массу регидрировали в 0,4 мл фосфатно-солевого буфера Дульбекко.

[00248] Пример 14. R4F не пригоден для получения ПАЛМ, содержащих паклитаксел- δ -токотриенилкарбонат (ПТТК)

[00249] ПАЛМ получали так, как указано в примере 13, с пептидом, имеющим аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25, и с пептидом R4F (таблица 1). В отличие от ПАЛМ, приготовленных с пептидом SEQ ID NO: 25, которые оставались прозрачным раствором при комнатной температуре и при 4°C, ПАЛМ, содержащие пептид R4F, были прозрачным раствором при комнатной температуре, но превращались в мутный гель при 4°C. Гель превращался обратно в прозрачную жидкость при нагревании до комнатной температуры. Препараты ПАЛМ анализировали относительно размера их частиц (пример 16). Динамическое рассеяние света выявило, что ПАЛМ с пептидом SEQ ID NO: 25 имели средний гидродинамический диаметр 8 нм (объемная интенсивность). Тот же анализ для ПАЛМ с R4F показал, что 94% популяции частиц имеют средний гидродинамический диаметр 11 нм, а остальная часть популяции - 32 нм. Результаты ЭХПР подтвердили равномерное распределение размеров для ПАЛМ с пептидом SEQ ID

NO: 25 (фиг. 4). Напротив, ПАЛМ с пептидом R4F имели диапазон элюирующихся пиков с большими и меньшими размерами, чем у ПАЛМ с SEQ ID NO: 25. Отсутствие обнаружения частиц меньшего размера с помощью ДРС неудивительно, поскольку чувствительность данного способа для частиц размером менее 7 нм довольно слабая. Эти результаты указывают на то, что R4F не является подходящим пептидом для получения ПАЛМ.

[00250] Пример 15. Загрузка фенретинида в ПАЛМ, приготовленные с пептидом SEQ ID NO: 25

[00251] Аликвоту объемом 35 мкл с концентрацией 10 мМ пептида с SEQ ID NO: 25, в 80% ТБС/20% воды, соответствующую 2,5 мольным эквивалентам пептида, объединяли с 3 мольными эквивалентами ПОФХ и 7 мольными эквивалентами яичного СМ из исходных растворов концентрацией 40 мМ и 20 мМ, соответственно, составленных в той же смеси растворителей. Также добавляли два молярных эквивалента 20 мМ фенретинида в той же смеси растворителей. Полученный раствор лиофилизировали, а полученный осадок регидрировали добавлением 0,325 мл фосфатно-солевого буфера. Полученный раствор становился прозрачным в течение 20 мин при 50°C. Анализ с помощью ЭХПР (пример 16) показал, что все компоненты элюируются в виде одного пика в диапазоне диаметров 8-10 нм (фиг. 5).

[00252] Пример 16. Определение размера ПАЛМ

[00253] Размер препаратов ПАЛМ и их однородность по размеру определяли с помощью ДРС и ЭХПР. Размеры, основанные на средних гидродинамических диаметрах, определялись с помощью ДРС на анализаторе размера частиц Nicomp 370. Анализатор был откалиброван по латексным стандартам. Размеры частиц, указанные в данном документе и в формуле данного изобретения, рассчитаны с помощью ДРС, как описано выше, если явным образом не указано иное.

[00254] Относительные гидродинамические размеры частиц ПАЛМ также определяли с помощью ЭХПР на колонке GE Superose 6 Increase column (10×300 мм), подключенной к насосу Beckman/Coulter модели 126 и диодно-матричному детектору модели 128. Скорость потока подвижной фазы (150 мМ NaCl, 6 мМ NaPO₄ (pH 7,4)) составляла 0,5 мл/мин. Элюент контролировали при длинах волн 215 нм и 280 нм. Показатели работы системы подтверждали введением белковых стандартов молекулярной массы (фиг. 3).

[00255] Пример 17. Селективность ПАЛМ по отношению к SR-BI в клетках ВНК(SR-BI)

[00256] Исследования взаимодействия SR-BI проводили с клетками ВНК(SR-BI), стабильно трансфицированными индуцируемым геном SR-BI человека с помощью системы GeneSwitch™ (Invitrogen) (Vickers et al. (2011) Nat. Cell Biol. 13: 423-433). Клетки высевали (96-луночный планшет, по 8000 клеток/луночка) в питательную среду (среда Игла, модифицированная по Дульбекко, содержащая 10% фетальной бычьей сыворотки), содержащую по 200 мкг/мл зеоцина и гигромицина. После 24-часовой инкубации

питательную среду удаляли и заменяли 0,2% бычьим сывороточным альбумином в среде Игла, модифицированной по Дульбекко. Среда для клеток, подлежащих индукции для экспрессии SR-BI, также содержала 10 нМ мифепристона, добавленного из исходного раствора в ДМСО. В среду для неиндуцированных клеток добавляли только ДМСО. Индукционную среду удаляли через 24 часа и заменяли средой, содержащей ПАЛМ, меченный ДТИ (32 мкг пептида/мл), или ЛПВП, меченный ДТИ (19 мкг белка/мл) (Kalen Biomedical, г. Монтгомери Виллидж, штат Мэриленд, США). Исследуемые среды готовили путем разведения аликвоты ПАЛМ, меченных ДТИ (пример 10), или ЛПВП, меченных ДТИ, в 0,2% бычьего сывороточного альбумина в среде Игла, модифицированной по Дульбекко. Растворы перед использованием пропускали через полиэфирсульфоновые стерилизационные фильтры калибра 0,2 мкм. Клетки инкубировали в течение 4 часов. Затем клетки трижды промывали 0,1% альбумином в фосфатно-солевом буфере Дульбекко (с кальцием и магнием). Последнюю промывку заменяли смесью т-бутанола/воды (95%/5%), по 200 мкл/лунка. Запечатанный планшет оставляли при комнатной температуре (20-21°C) на 30 минут с периодическим встряхиванием. Флуоресценцию в каждой лунке определяли при возбуждении 520 нм и излучении 580 нм с помощью фильтра с отсечкой 550 нм на планшетном анализаторе флуоресценции Molecular Dynamics Gemini (фиг. 9).

Таблица 6

Поглощение ДТИ из ЛПВП и из ПАЛМ, приготовленных с различными пептидами, клетками ВНК(SR-BI) зависит от экспрессии SR-BI

	Неиндуцированные	Индукцированные	Повышение по сравнению с Неиндуцированные
	Поглощение ДТИ ^a (пмоль/мкг/мл)	Поглощение ДТИ (пмоль/мкг/мл)	
ЛПВП ^b	0,13 ± 0,02	0,86 ± 0,03	561%
SEQ ID NO: 3	0,16 ± 0,01	0,29 ± 0,03	88%
SEQ ID NO: 5	0,54 ± 0,03	0,93 ± 0,03	73%
SEQ ID NO: 25	0,24 ± 0,01	0,83 ± 0,02	245%
SEQ ID NO: 26	0,49 ± 0,04	0,81 ± 0,04	65%
SEQ ID	0,34 ± 0,01	0,66 ± 0,02	90%

NO: 27

SEQ ID	0,28 ± 0,02	0,90 ± 0,03	221%
NO: 32			

SEQ ID	0,35 ± 0,01	1,26 ± 0,06	264%
NO: 35			

^a Количество ДТИ, поглощаемое клетками, относительно концентрации белка (ЛПВП) или пептида (ПАЛМ). Показаны среднее значение (n=4) и стандартная ошибка среднего значения.

^b Содержание ДТИ в ЛПВП составляло 21 пмоль/мкг белка. Содержание ДТИ в ПАЛМ составляло 40 пмоль/мкг пептида. Концентрация ЛПВП составляла 19 мкг/мл. Концентрация пептида ПАЛМ составляла 32 мкг/мл.

[00257] Пример 18. Количественное определение паклитаксела

[00258] Паклитаксел, ПТТК и ПХК экстрагировали из водных образцов путем смешивания 1 объема водного образца с 4 объемами смеси этилацетат/ацетон/метанол (70/30/5, об/об). Верхний органический слой, полученный после встряхивания и центрифугирования, собирали, сушили выпариванием растворителя и вакуумом, и повторно растворяли в подвижной фазе ВЭЖХ (метанол/вода (65/35, об/об)). Аликвоту восстановленного образца объемом 20 мкл вводили в систему ВЭЖХ со скоростью потока 1,2 мл/мин через колонку Macherey-Nagel (4 x 250 мм с нуклеозилом 10-5 С18) и проводили детекцию с помощью УФ-детектора при длине волны 230 нм.

[00259] Пример 19. ПАЛМ, содержащие мирiplатин, ингибируют рост клеток РС-3 так же, как и цисплатин

[00260] Клетки РС-3 (Американская коллекция типовых культур, CRL-1435) высевали в 96-луночные планшеты с плотностью 5×10^3 клеток на лунку (100 мкл) и выращивали примерно до 70%-й конfluenceности (24 часа) в питательной среде, состоящей из среды F-12К, дополненной 10% фетальной бычьей сывороткой. Затем питательную среду заменяли либо 100 мкл свежей питательной среды (контроль), либо питательной средой, дополненной различными концентрациями цисплатина (например, 0 мкМ и от 0,1 до 100 мкМ конечной концентрации в среде), добавленного из 100-кратно концентрированных исходных растворов, приготовленных в 5% декстрозе, или с эквивалентными количествами мирiplатина в ПАЛМ, приготовленного как в примере 11. Каждое условие исследовали в трех экземплярах. Планшеты инкубировали в течение 48 часов. Жизнеспособность клеток определяли с помощью анализа тетразолий бромида тиазолилового синего (МТТ-анализа) путем добавления 20 мкл МТТ концентрацией 5 мг/мл в фосфатно-солевой буфер Дульбекко (с кальцием и магнием) и инкубации в течение 3 часов. Затем среду осторожно удаляли и заменяли диметилсульфоксидом (ДМСО), по 200 мкл. Планшеты подвергали мягкому перемешиванию на круговом

шейкере в течение 15 минут. Коэффициент абсорбции каждой лунки считывали при 570 нм. Концентрацию, приводящую к 50%-му ингибированию роста (IC_{50}), определяли путем нелинейного регрессионного встраивания данных в модель логистического уравнения. Средняя абсорбция контрольных лунок отображала 100%-й рост (фиг. 6).

[00261] Пример 20. Антитело против SR-BI ослабляет ингибирование роста клеток РС-3, вызванное ПАЛМ, содержащими мироплатин

[00262] Клетки РС-3 выращивали так, как описано в примере 19. Клетки, подлежащие исследованию в присутствии антитела против SR-BI (Novus Biologicals, NB 400-113), предварительно инкубировали в течение 1 часа в питательной среде, содержащей 1/400 разведения исходного раствора антитела. Затем все среды удаляли и заменяли питательной средой, содержащей указанные количества соединений платины, приготовленные так, как описано в примере 13. Питательная среда с ПАЛМ(МП) для клеток, обработанных антителами, содержала антитело в разведении 1/400 исходного раствора антитела. Клетки инкубировали в течение 5 часов. Затем все среды удаляли; клетки промывали один раз средой, а затем инкубировали в течение еще 43 часов в питательной среде. Выживаемость клеток определяли методом МТТ-анализа, как описано в примере 19 (фиг. 7).

[00263] Пример 21. ПТТК в ПАЛМ более активно, чем ПХК в ПАЛМ, блокирует рост клеток SKOV-3 ПХК

[00264] Клетки рака яичников SKOV-3 (Американская коллекция типовых культур, НТВ-77) высевали в 96-луночные планшеты с плотностью 5×10^3 клеток на лунку (100 мкл) и выращивали примерно до 70%-й конfluence (24 часа) в питательной среде, состоящей из среды МакКоя, дополненной 10% фетальной бычьей сывороткой. Затем питательную среду заменяли либо 100 мкл свежей питательной среды (контроль), либо питательной средой, дополненной различными концентрациями паклитаксела, ПАЛМ(ПХК) или ПАЛМ(ПТТК). Исследуемый раствор паклитаксела концентрацией 20 мкМ готовили путем разведения исходного 5-миллимолярного раствора паклитаксела в ДМСО в питательной среде с последующей стерилизацией фильтром (фильтр 0,2 мкм). Аликвоту полученного раствора концентрацией 20 мкМ разбавляли в 5 раз в питательной среде для получения паклитаксела концентрацией 4 мкМ. 5-кратное разбавление продолжали с 4 мкМ для получения раствора паклитаксела концентрацией 800 нМ. Такое разбавление продолжали до получения раствора паклитаксела концентрацией 0,051 нМ в питательной среде. Четыре аликвоты по 100 мкл каждого из 9 полученных таким образом растворов вносили в отдельные лунки, содержащие клетки. Похожий, но модифицированный процесс применяли для приготовления исследуемых растворов ПАЛМ(ПХК) и ПАЛМ(ПТТК). Самая высокая исследованная концентрация составляла 50 мкМ, которую получали путем разведения препаратов ПАЛМ(ПХК) и ПАЛМ(ПТТК) концентрацией 1 мМ в питательной среде с последующей стерилизацией фильтром. Самая низкая концентрация, полученная в процессе 5-кратного разведения каждого предшествующего разведения, повторенного 8 раз, составляла 0,13 нМ. Клетки

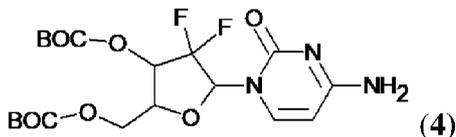
инкубировали с исследуемыми растворами в течение 72 часов. В конце этого периода определяли жизнеспособность клеток методом МТТ-анализа, как описано в примере 19. (Фиг. 8).

[00265] Пример 22. Ингибирование роста клеток ВНК(SR-BI) с помощью ПАЛМ(ПТТК) зависит от SR-BI

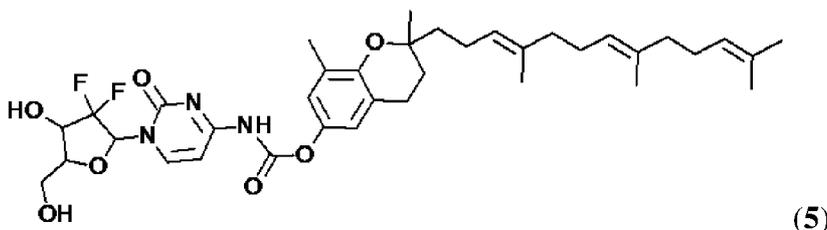
[00266] Клетки ВНК(SR-BI) высевали (по 3000 клеток/лунка) в 96-луночные планшеты с питательной средой (среда Игла, модифицированная по Дульбекко, содержащая 10% фетальной бычьей сыворотки и по 200 мкг/мл зеоцина и гигромицина) и инкубировали 24 часа. Питательную среду заменяли 0,2% бычьим сывороточным альбумином в среде Игла, модифицированной по Дульбекко, содержащей либо 10 нМ мифепристона (индуцированные образцы), добавленного из исходного раствора в ДМСО, либо эквивалентное количество только ДМСО (контроль). Клетки инкубировали в течение 24 часов. Затем среду заменяли раствором ПТК или ПАЛМ(ПТТК) с 0,2% бычьим сывороточным альбумином в среде Игла, модифицированной по Дульбекко, в указанных концентрациях, и клетки инкубировали в течение 12 часов. Затем среды заменяли нормальной питательной средой, и клетки инкубировали еще 36 часов. Процент роста клеток по сравнению с клетками без исследуемого агента определяли с помощью МТТ-анализа (фиг. 10).

[00267] Пример 23. δ -токотриенил-(N⁴)-гемцитабинкарбамат

[00268] Гидроксильные группы в гемцитабине защищали конверсией в сложные эфиры трет-бутоксикарбонила (БОК) с ди-трет-бутилдикарбонатом в соответствии с процедурой, описанной Го и Галло (Guo and Gallo, J. Org. Chem. 1999, 64, 8319), чтобы получить (1)



[00269] Соединение 4 растворяли в безводном дихлорметане до конечной концентрации 0,2 М соединения (4). Объединяли по 1,2 молярных эквивалента соединения (2) при концентрации 0,5 М в метиленхлориде и 3 молярных эквивалента ДМАП на каждый моль соединения (4) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч. С полученного продукта снимали защиту с помощью трифторуксусной кислоты, как указано в литературе. Чистое соединение получали с помощью колоночной флэш-хроматографии с использованием элюента дихлорметана и метанола, начиная со 100% дихлорметана и постепенно увеличивая концентрацию до 10% метанола с получением указанного в заголовке соединения (5).

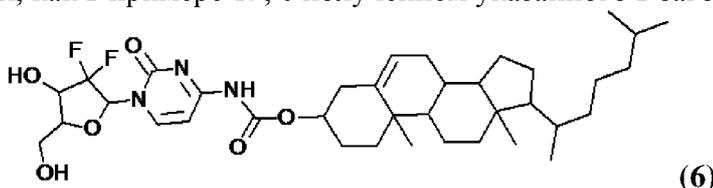


(5)

[00270] **Пример 24. Синтез (N⁴)-гемцитабинкарбаматов с изомерами α -, β - или γ -токоотриенола** осуществляли аналогично тому, что указано в примере 24.

[00271] **Пример 25. Холестерил-(N⁴)-гемцитабинкарбамат**

[00272] Синтез холестерил-(N⁴)-гемцитабинкарбамата (6) осуществляли таким же образом, как описано в примере 25, за исключением того, что соединение (4) приводили в реакцию с холестеролхлороформиатом (коммерчески доступным) и освобождали от защиты, как в примере 19, с получением указанного в заголовке соединения (6).



(6)

[00273] **Пример 26. Паклитаксел, связанный с жирными спиртами через янтарную и дигликолевую кислоты**

[00274] Синтез паклитаксела, связанного с жирным спиртом посредством диэфирной сукцинатной или дигликолятной связи, осуществляли путем взаимодействия жирного спирта с 4-(диметиламино)пиридином и янтарным ангидридом или дигликолевым ангидридом в безводном пиридине при постоянном перемешивании в течение 24 ч при комнатной температуре. Реакцию гасили с помощью 0,1 Н НСl в дихлорметане. Продукт получали методом препаративной ТСХ или колоночной флэш-хроматографии с этилацетатом в петролейном эфире. Конъюгат спирт - янтарная кислота или спирт - дигликолевая кислота объединяли с 4-(диметиламино)пиридином и N-(3-диметиламинопропил)-N'-этилкарбодиимидом в сухом дихлорметане. В реакционную смесь добавляли паклитаксел. Через 24 ч реакцию гасили водой и экстрагировали дихлорметаном. Продукт получали методом препаративной ТСХ с использованием этилацетата/гептанов (50:50) в качестве элюента.

[00275] **Пример 27. Влияние антитела против SR-BI на цитотоксичность ПАЛМ(ПТТК) в отношении клеток SKOV-3**

[00276] SKOV-3 высевали и инкубировали в течение 24 часов, как в примере 16. Затем питательную среду заменяли средой без сыворотки, содержащей 0,5% альбумина и указанные концентрации исследуемых агентов, с антителом против SR-BI или без него (разведение 1/250) (NB400-113, Novus Biologicals). Клетки инкубировали в течение 12 часов. Затем клетки промывали средой без сыворотки, содержащей 0,5% альбумина, и выращивали еще 60 часов в питательной среде. Рост клеток определяли методом МТТ-анализа (фиг. 11).

[00277] Несмотря на то, что в данном документе описан ряд вариантов

осуществления данного изобретения, очевидно, что основные примеры могут быть изменены для предоставления других вариантов осуществления, в которых применяются или которые охватывают способы и процессы согласно данному изобретению. Варианты осуществления и примеры приведены в иллюстративных целях и не должны интерпретироваться как ограничивающие данное изобретение; напротив, объем данного изобретения определяет прилагаемая формула данного изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения или профилактики индуцированной химиотерапией периферической нейропатии (ИХПН) у пациента с онкологическим заболеванием, которого лечат или которого предстоит лечить химиотерапевтическим агентом, вызывающим ИХПН, включающий:

введение терапевтически эффективного количества композиции, содержащей наночастицу пептидно-амфифильной липидной мицеллы (ПАЛМ), пациенту с онкологическим заболеванием, при этом наночастица ПАЛМ содержит ПАЛМ, содержащую химиотерапевтический агент, вызывающий ИХПН, и при этом ПАЛМ содержит пептид и липидный компонент, содержащий сфингомиелин и один или большее число дополнительных фосфолипидов,

при этом пептид в ПАЛМ содержит аминокислотную последовательность: X₁- X₂ - X₃- X₄ -X₅ -X₆ -X₇ -X₈ -X₉ -X₁₀ -X₁₁ -X₁₂ -X₁₃ -X₁₄ -X₁₅ -X₁₆ -X₁₇ -X₁₈- X₁₉ -X₂₀, где: X₁ представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из D и E; X₂ и X₂₀ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из V, Aib, I и L; X₃, X₆, X₁₀ и X₁₃ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из L, I, V, W, Y, Aib, Amv и F; X₄, X₁₂ и X₁₉ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из Q и N; X₅, X₁₆ и X₁₈ каждый представляет собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из K, R, H и Orn; X₇ выбран из группы, состоящей из A, G, S, V, Aib и Amv; X₈ и X₁₅ независимо выбраны из группы, состоящей из аминокислот E и D; X₉ и X₁₄ представляют собой аминокислоту, независимо выбранную из группы, состоящей из A, G, S L, F, V, Amv и Aib; X₁₁ представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из A, G, S, Aib, Amv, V и N; и X₁₇ представляет собой аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из W, F, Y, I, V и L (SEQ ID NO: 24), при этом пептид необязательно ацилирован по N-концу, амидирован по C-концу, либо и ацилирован по N-концу, и амидирован по C-концу, и при этом указанный пептид имеет длину от 20 до 24 аминокислот.

2. Пептид по п. 1, отличающийся тем, что пептид в ПАЛМ состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 25; SEQ ID NO: 26; SEQ ID NO: 27; SEQ ID NO: 28; SEQ ID NO: 29; SEQ ID NO: 30; SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32; SEQ ID NO: 33; SEQ ID NO: 34; SEQ ID NO: 35 и SEQ ID NO: 36, при этом указанный пептид необязательно ацилирован по N-концу, амидирован по C-концу, либо и ацилирован по N-концу, и амидирован по C-концу.

3. Способ лечения или профилактики индуцированной химиотерапией периферической нейропатии (ИХПН) у пациента с онкологическим заболеванием, которого лечат или которого предстоит лечить химиотерапевтическим агентом, вызывающим ИХПН, включающий:

введение терапевтически эффективного количества композиции, содержащей наночастицу пептидно-амфифильной липидной мицеллы (ПАЛМ), пациенту с

онкологическим заболеванием, при этом наночастица ПАЛМ содержит ПАЛМ, содержащую химиотерапевтический агент, вызывающий ИХПН, и при этом ПАЛМ содержит пептид и липидный компонент, содержащий сфингомиелин и один или большее число дополнительных фосфолипидов,

при этом пептид в ПАЛМ содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3; SEQ ID NO: 4; SEQ ID NO: 5; SEQ ID NO: 6; SEQ ID NO: 7; SEQ ID NO: 8; SEQ ID NO: 9; SEQ ID NO: 10; SEQ ID NO: 11; SEQ ID NO: 12; SEQ ID NO: 13; SEQ ID NO: 14; SEQ ID NO: 15; SEQ ID NO: 16; SEQ ID NO: 17; SEQ ID NO: 18; SEQ ID NO: 19; SEQ ID NO: 20; SEQ ID NO: 21; SEQ ID NO: 22 или SEQ ID NO: 23; при этом пептид необязательно ацилирован по N-концу, амидирован по C-концу, либо и ацилирован по N-концу, и амидирован по C-концу, и при этом указанный пептид имеет длину от 20 до 24 аминокислот.

4. Способ по п. 1, отличающийся тем, что химиотерапевтический агент, содержащийся в ПАЛМ, представляет собой химиотерапевтический агент, который вызывает ИХПН, может вызвать ИХПН или связан с ИХПН у пациента с онкологическим заболеванием.

5. Способ по п. 1, дополнительно включающий введение одного или большего числа дополнительных химиотерапевтических агентов, при этом один или большее число дополнительных химиотерапевтических агентов, вызывающих ИХПН, содержатся в ПАЛМ.

6. Способ по п. 4, отличающийся тем, что химиотерапевтический агент, вызывающий ИХПН и содержащийся в ПАЛМ, выбран из группы, состоящей из бортезомиба, карбоплатина, цисплатина, гемцитабина, мизонидазола, оксалиплатина, прокарбазина, талидомида, доцетаксела, гексаметилмеламина, паклитаксела, винкристина, винбластина, винорелбина, иксабепилона, эрибулина, мертанзина.

7. Способ по п. 6, отличающийся тем, что химиотерапевтический агент, вызывающий ИХПН и содержащийся в ПАЛМ, представляет собой карбоплатин, цисплатин, паклитаксел или винорелбин.

8. Способ по п. 1, отличающийся тем, что пациент с онкологическим заболеванием имеет онкологическое заболевание, которое выбрано из группы, состоящей из рака яичников, рака шейки матки, рака эндометрия, колоректального рака, рака предстательной железы, рака молочной железы, рака поджелудочной железы, раковых заболеваний головы и шеи, рака яичек, лейкоза, нейробластомы, лимфомы Ходжкина, неходжкинской лимфомы и немелкоклеточного рака легких.

9. Способ по п. 8, отличающийся тем, что онкологическое заболевание выбрано из группы, состоящей из рака яичников, рака молочной железы и немелкоклеточного рака легких.

10. Способ по п. 1, отличающийся тем, что наночастицу ПАЛМ вводят до начала ИХПН, или во время ИХПН, или после смягчения ИХПН, или при любой комбинации вышеперечисленного.

11. Способ по п. 1, отличающийся тем, что липидный компонент ПАЛМ состоит по существу из сфингомиелина и одного или большего числа дополнительных фосфолипидов.

12. Способ по п. 1, отличающийся тем, что один или большее число дополнительных фосфолипидов выбраны из группы, состоящей из фосфатидилхолина, полиэтиленгликоль-фосфатидилэтаноламина (ПЭГ-ФЭ), фосфатидилэтаноламина, фосфатидилглицерина, фосфатидилсерина, фосфатидилинозитола, кардиолипина или любой их комбинации.

13. Способ по п. 12, отличающийся тем, что один или большее число дополнительных фосфолипидов содержат фосфатидилхолин.

14. Способ по п. 13, отличающийся тем, что фосфатидилхолин представляет собой 1-пальмитоил-2-олеоилфосфатидилхолин (ПОФХ).

15. Способ по п. 1, отличающийся тем, что молярное соотношение фосфолипида к сфингомиелину составляет от около 90:10 до около 5:95.

16. Способ по п. 15, отличающийся тем, что молярное соотношение фосфолипида к сфингомиелину составляет 30:70.

17. Способ по п. 15, отличающийся тем, что молярное соотношение фосфолипида к сфингомиелину составляет от около 80:20 до около 60:40.

18. Способ по п. 17, отличающийся тем, что молярное соотношение фосфолипида к сфингомиелину составляет около 70:30.

19. Способ по п. 1, отличающийся тем, что молярное соотношение липидного компонента к пептиду составляет от около 10:1 до около 2:1.

20. Способ по п. 19, отличающийся тем, что молярное соотношение липидного компонента к пептиду составляет от около 6:1 до около 4:1.

21. Способ по п. 1, отличающийся тем, что композиция дополнительно содержит агент визуализации.

22. Способ по п. 21, отличающийся тем, что агент визуализации представляет собой гадолиниевую соль 1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин-N-диэтилентриаминпентауксусной кислоты (PE-DTPA(Gd)), марганцевую соль 1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин-N-диэтилентриаминпентауксусной кислоты (PE-DTPA(Mn)) или ^{111}In -DTPA-A.

23. Способ по любому из пп. 1-20, отличающийся тем, что композиция дополнительно содержит по меньшей мере одну транспортируемую молекулу.

24. Способ по п. 23, отличающийся тем, что по меньшей мере одна транспортируемая молекула представляет собой агент визуализации.

25. Способ по п. 23, отличающийся тем, что по меньшей мере одна транспортируемая молекула представляет собой лекарственный препарат.

26. Способ по п. 25, отличающийся тем, что лекарственный препарат представляет собой мириплатин или фенретинид.

27. Способ по п. 23, отличающийся тем, что по меньшей мере одна

транспортируемая молекула представляет собой конъюгированное соединения с формулой (I):

A-R-L-X (формула I)

где А представляет собой агент, имеющий гидроксильную или аминную группу; R представляет собой гидроксильную или аминную группу агента; L представляет собой линкер; и X представляет собой якорную часть, выбранную из группы, состоящей из холестерина, α -токоτριенола, β -токоτριенола, γ -токоτριенола, δ -токоτριенола, холекальциферола или эргокальциферола.

28. Способ по п. 27, отличающийся тем, что R представляет собой гидроксильную группу, а якорная часть ковалентно связана с агентом карбонатной сложноэфирной связью.

29. Способ по п. 27, отличающийся тем, что R представляет собой аминную группу, а якорная часть ковалентно связана с агентом карбаматной сложноэфирной связью.

30. Способ по любому из пп. 27-29, отличающийся тем, что якорная часть представляет собой холестерол.

31. Способ по любому из пп. 27-29, отличающийся тем, что якорная часть представляет собой δ -токоτριенол.

32. Способ по любому из пп. 27-29, отличающийся тем, что химиотерапевтический агент выбран из группы, состоящей из аденозина, бортезомиба, гидроксикамптотецина, даунорубицина, доксорубицина, топотекана, гемцитабина, мизонидазола, доцетаксела, паклитаксела, винкристина, винбластина, винорелбина, иксабепилона, эрибулина, мертанзина и их комбинаций.

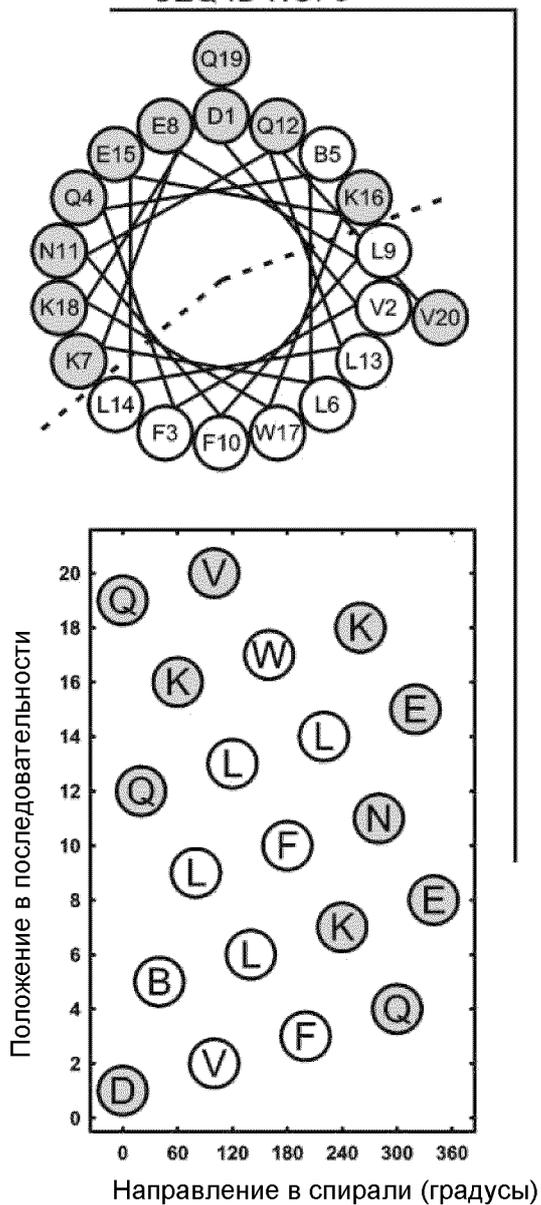
33. Способ по п. 32, отличающийся тем, что химиотерапевтический агент, конъюгированный с ПАЛМ, представляет собой гидроксикамптотетин, даунорубицин, доксорубицин, топотекан, паклитаксел или доцетаксел.

34. Способ по п. 33, отличающийся тем, что химиотерапевтический агент, конъюгированный с ПАЛМ, представляет собой паклитаксел.

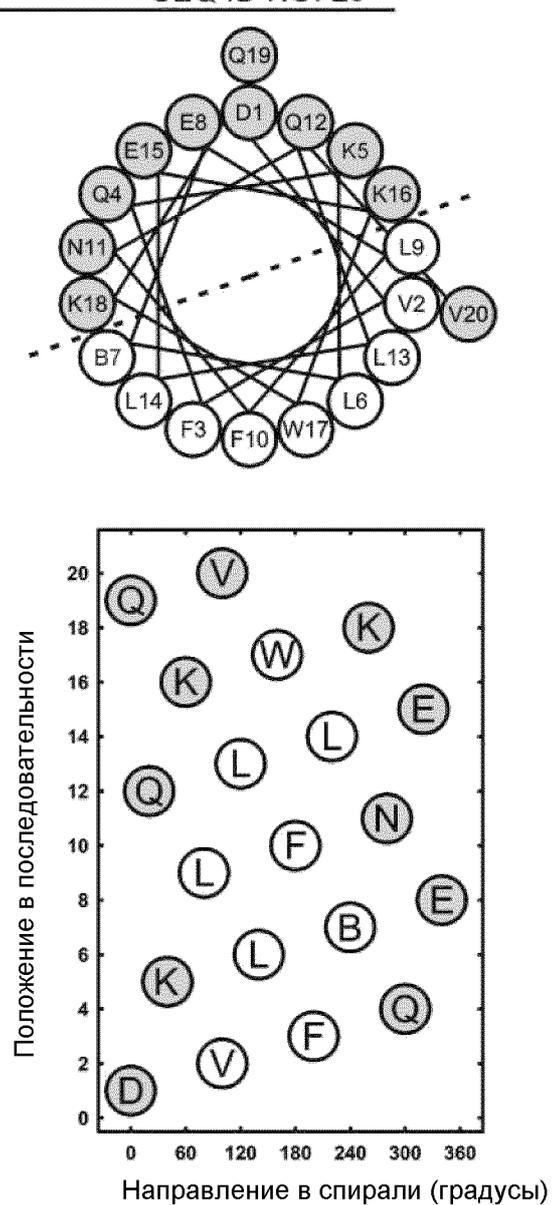
По доверенности

Фиг. 1А

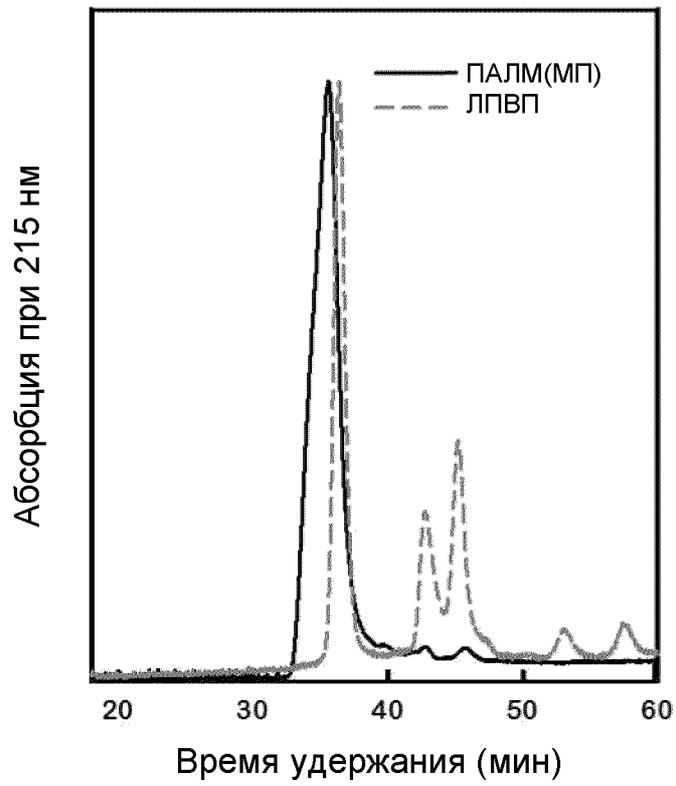
SEQ ID NO: 3

**Фиг. 1С****Фиг. 1В**

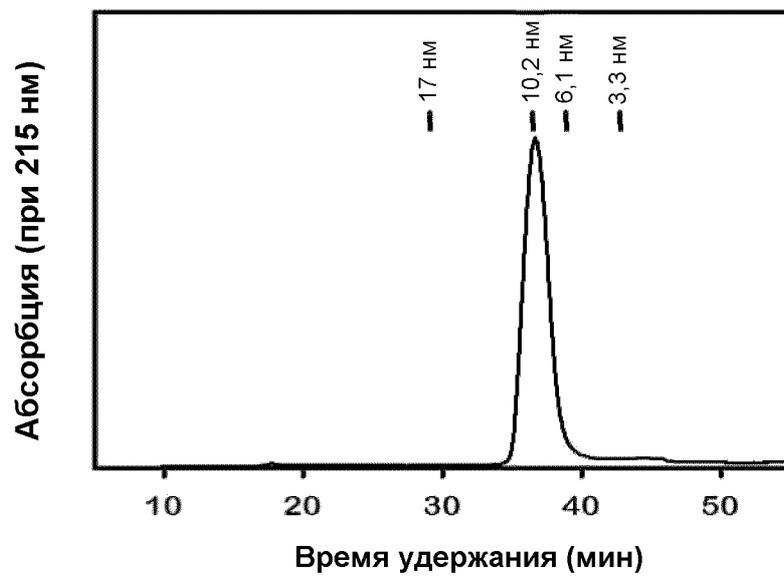
SEQ ID NO: 25

**Фиг. 1D**

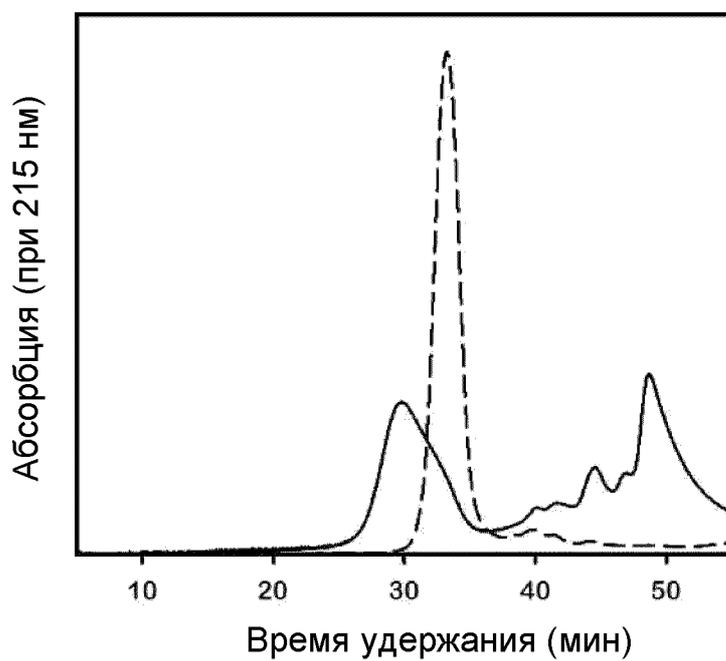
Фиг. 2



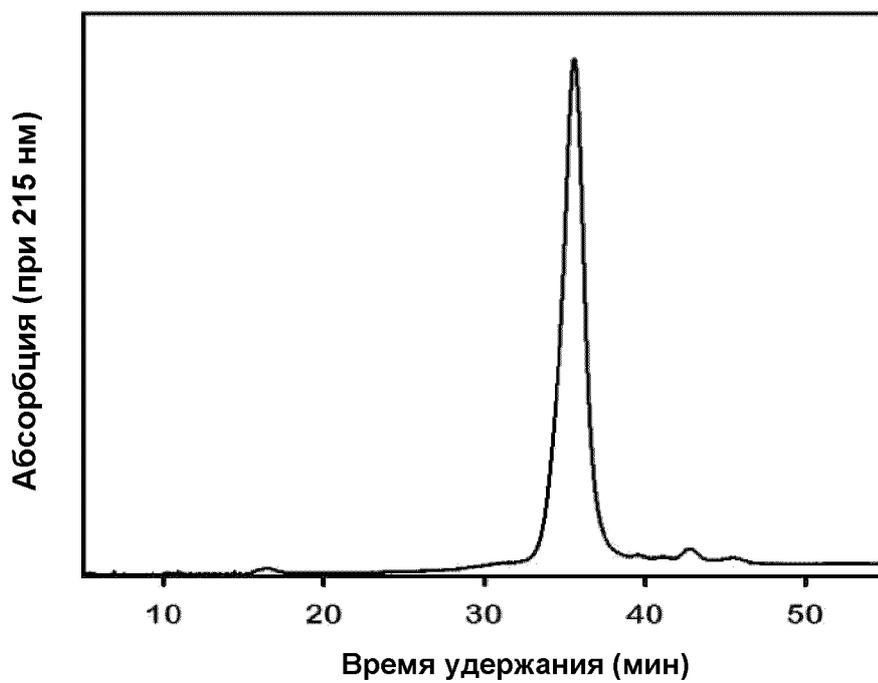
Фиг. 3



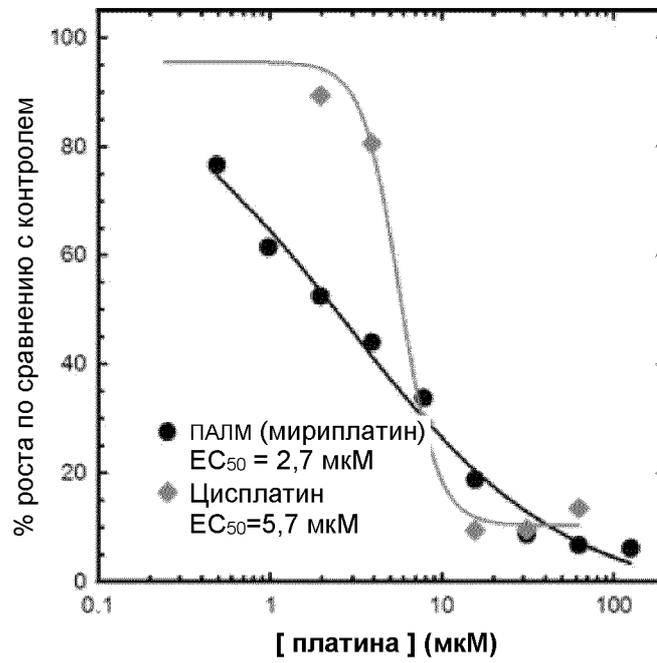
Фиг. 4



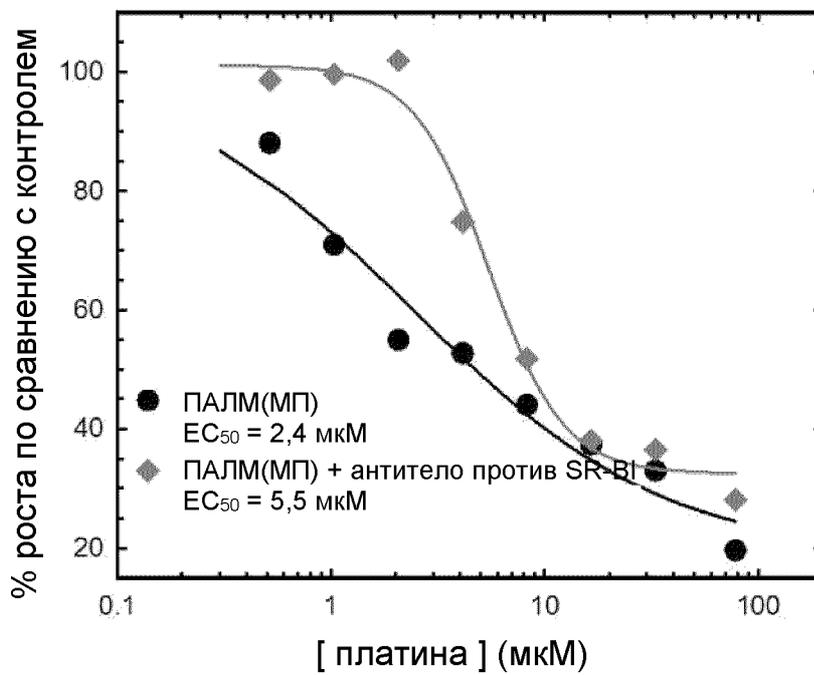
Фиг. 5



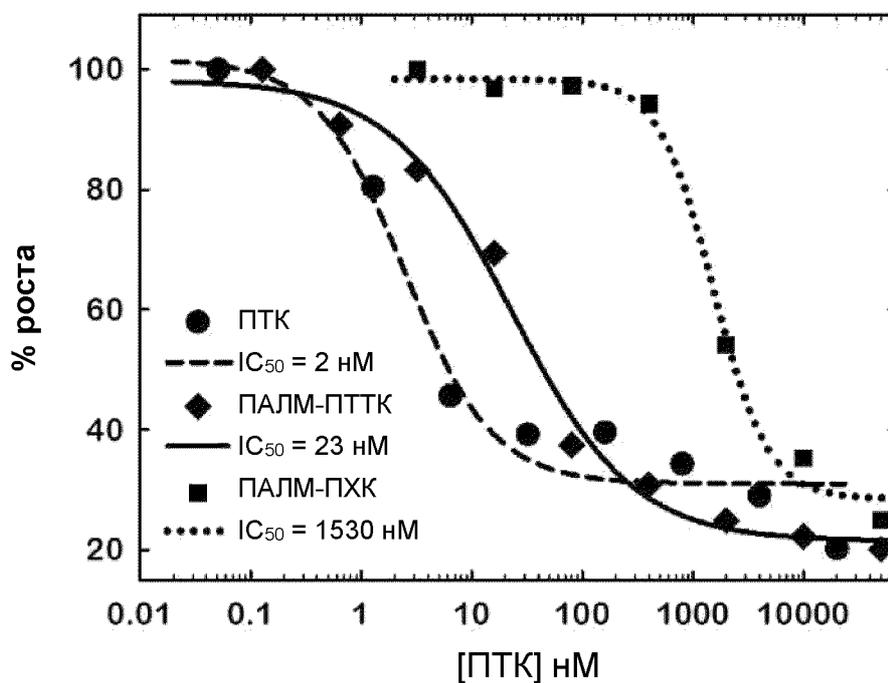
Фиг. 6



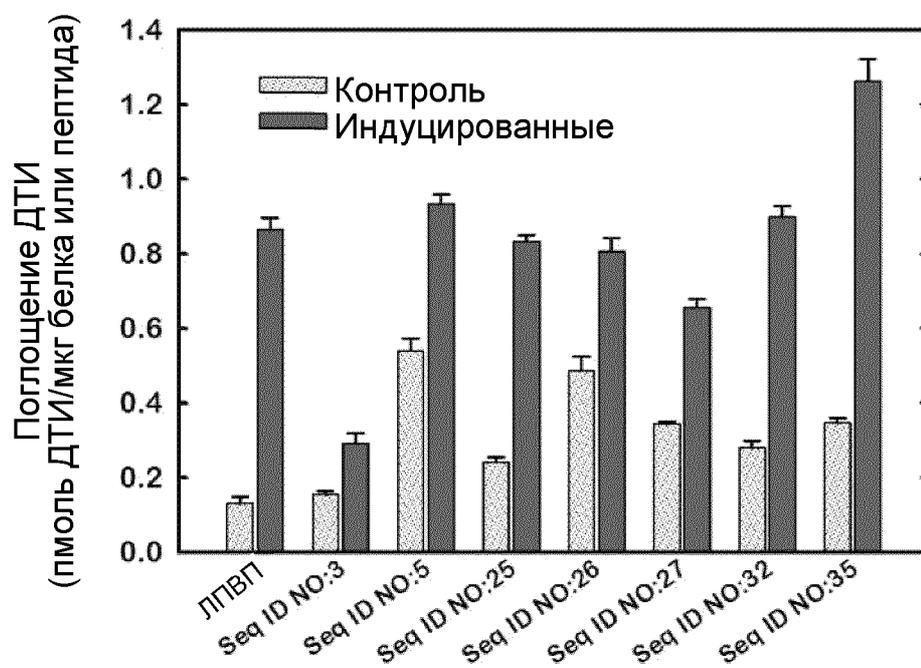
Фиг. 7



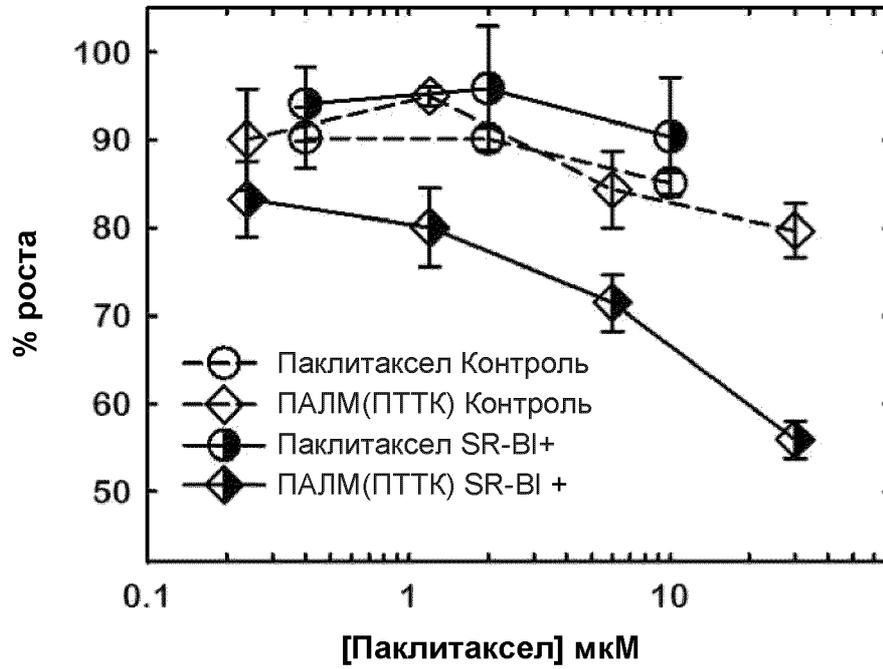
Фиг. 8



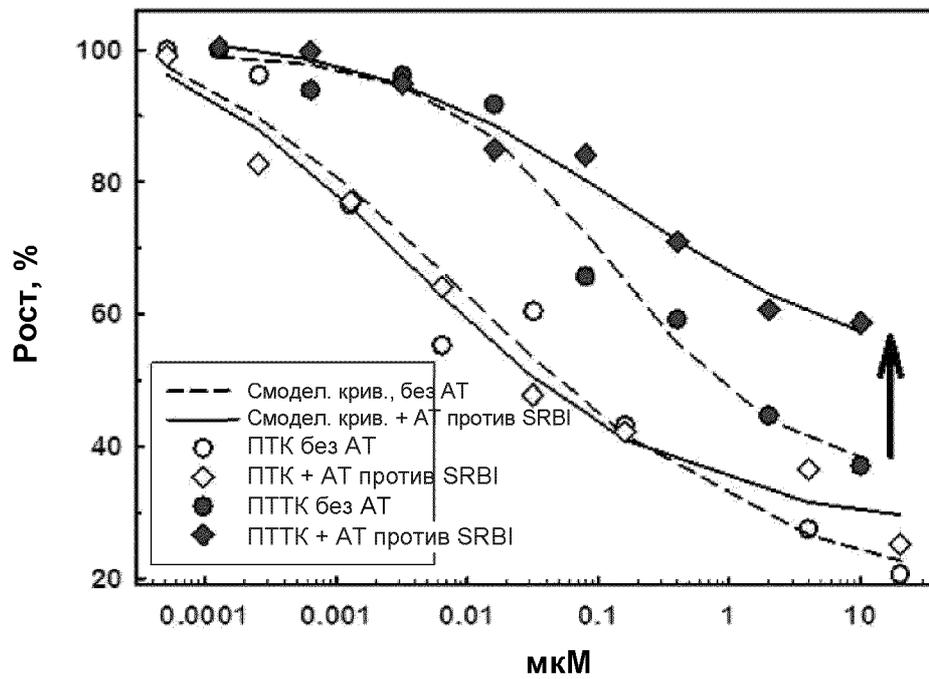
Фиг. 9



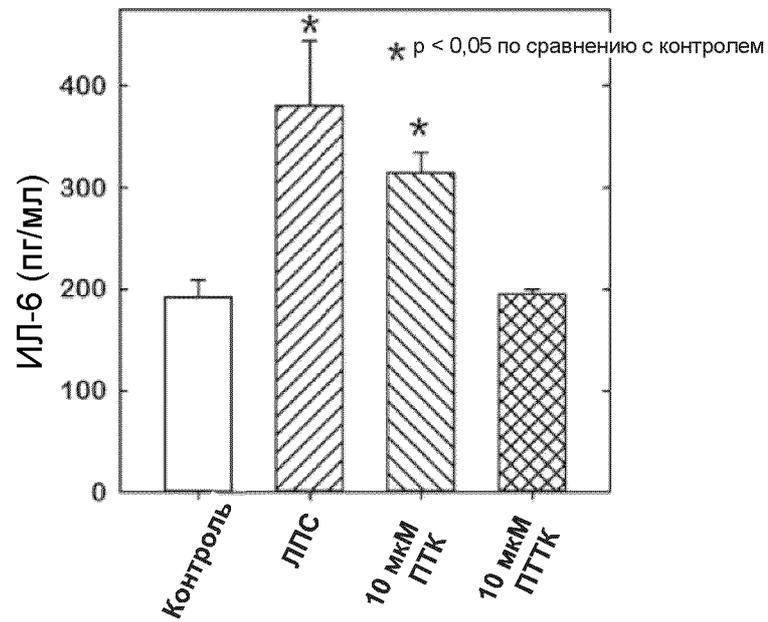
Фиг. 10



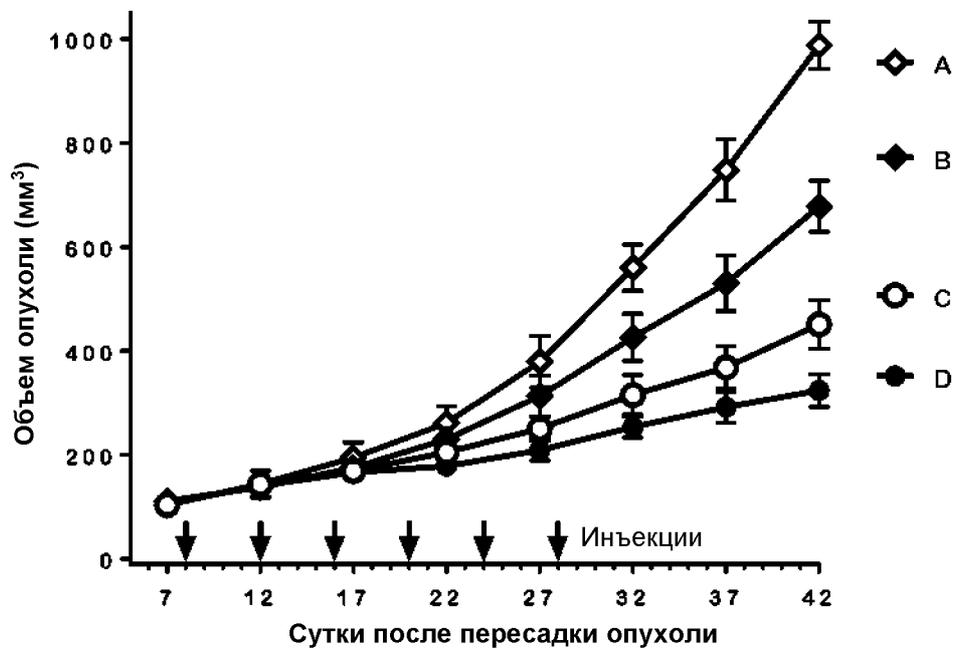
Фиг. 11



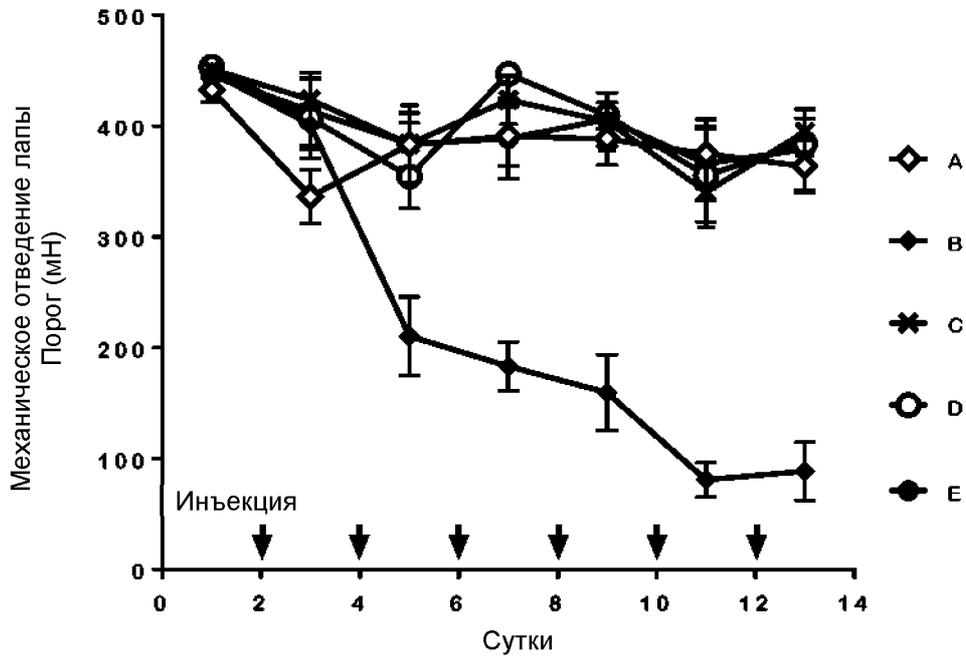
Фиг. 12



Фиг. 13



Фиг. 14



Фиг. 15

