

Данная заявка заявляет приоритет предварительной заявки США № 60/370 409, поданной 5 апреля 2002 г., целиком включенной в настоящий документ в качестве ссылки.

### Область изобретения

Настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям, включающим липосомы, и к способам применения указанных липосом для предотвращения, лечения или ведения ряда заболеваний и/или состояний организма. Липосомы могут включать большие однослойные везикулы (LUV) в отдельности или в комбинации с многослойными везикулами (MLV), маленькими однослойными везикулами (SUV) или другими лекарственными средствами. Настоящее изобретение относится к липосомам, имеющим определенные диаметры, которые вводят пациентам с использованием конкретных доз и/или схем введения.

### Предпосылки к созданию изобретения

Атеросклероз представляет собой главную причину смерти в Соединенных Штатах. Атеросклероз представляет собой образование бляшек на стенках артерий, которые могут закупоривать просвет сосуда и препятствовать кровотоку через сосуд. Бляшки также могут разрываться и приводить к образованию тромбов даже в кровеносном сосуде, не имеющем критического стеноза, и могут приводить к закупорке кровеносных сосудов и обструкции кровотока. Заболеваемость и смертность обычно наблюдаются вследствие повреждения концевого органа и нарушения функции органа, происходящие вследствие ишемии. Наиболее распространенными формами повреждения концевого органа являются инфаркт миокарда и инсульт. Часто результатом данных сосудистых явлений является инвалидность или смерть. Даже связанная с атеросклерозом ишемия, которая не повреждает постоянно миокард или которая приводит к незначительному повреждению миокарда, является ответственной за значительную заболеваемость в форме стенокардии и застойной сердечной недостаточности. Другие органы, такие как почки, кишечник и спинной мозг, также могут повреждаться атеросклеротическими закупорками. Кроме того, при некоторых заболеваниях, таких как аневризмы аорты, пораженные атеросклерозом артерии могут вызывать клинические симптомы, не зависящие от дисфункции концевого органа. Артериосклеротические повреждения представляют собой бляшки, которые образуются посредством накопления холестерина, сложных эфиров холестерина и фосфолипидов, пролиферации гладкомышечных клеток, диапедеза моноцитов, включая их трансформацию в макрофаги и ксантомные клетки в интиме магистральных артерий. Липиды вносят большой вклад в объем бляшки (обычно 30-65% сухой массы). Small, ARTERIOSCLEROSIS, 8:103-129 (1988). Действительно, риск развития артериосклероза непосредственно связан с концентрацией определенных форм холестерина плазмы.

Другие заболевания и состояния, связанные с патологически высокими уровнями липидов, включают острые коронарные синдромы, стабильную стенокардию, нестабильную стенокардию, воспаление, воспаление сосудов, воспаление кожи, ишемическую болезнь сердца (ИБС), желудочковые аритмии, заболевание периферических сосудов, перемежающуюся хромоту, преходящие нарушения мозгового кровообращения, рестеноз, пониженную потребность в реваскуляризации, нарушения свертываемости крови, ишемию, сердечно-сосудистую ишемию, ишемию, не связанную с сердечно-сосудистым заболеванием, такую как ишемически-реперфузионное повреждение, тромбоцитопению, панкреатит, неалкогольный стеатогепатит (NASH), диабетическую нейропатию, ретинопатию, болезненную диабетическую нейропатию, динамическое нарушение кровообращения в головном мозге, псориаз, критическую ишемию конечностей, импотенцию, гиперлипидемию, гиперлипопротеинемию, гипоальфалипопротеинемию, гипертриглицеридемию, любое стенотическое состояние, ведущее к ишемической патологии, диабет, ихтиоз, удар, чувствительные тромбоциты, язвы нижних конечностей, тяжелую коронарную ишемию, лимфомы, катараракты, эндотелиальную дисфункцию, ксантомы, сосудистое заболевание, сосудистое заболевание, являющееся результатом курения и диабета, заболевание сонных и коронарных артерий, застойную сердечную недостаточность, регресс и сморщивание уже существующих бляшек, болезнь Альцгеймера, комбинации хирургических процедур, которые приводят к повреждению эндотелия, эндотелиальное повреждение в результате хирургических процедур, заболеваемость, связанную с сосудистым заболеванием, изъязвление в просвете артерий, рестеноз в результате баллонной ангиопластики и симптомы-предвестники вышеупомянутых состояний.

Липиды, включая холестерин, обычно не растворяются в водной плазме. Липиды плазмы переносятся растворимыми липопротеиновыми комплексами. Указанные липопротеиновые комплексы состоят из внутреннего ядра неполярных липидов (сложных эфиров холестерина и триглицеридов) и поверхностного слоя амфипатических белков и полярных липидов (фосфолипидов и неэстерифицированного холестерина). Различные белки (аполипопротеины) присутствуют на поверхностной оболочке различных липопротеиновых комплексов (липопротеинов). Различные липопротеины выполняют различные функции в метаболизме липидов.

Известно пять классов липопротеинов. Некоторые липопротеины переносят триглицериды и холестерин из печени к периферическим тканям, в то время как другие транспортируют липиды в печень. Холестерин может метаболизироваться в печени до желчных солей, которые экскретируются, понижая, таким образом, содержание общего холестерина в организме. Два липопротеина, липопротеины низкой плотности (LDL) и липопротеины высокой плотности (HDL), тесно связаны с развитием атеросклероза.

LDL имеют высокую концентрацию холестерина, доставляют липиды к клеткам периферических тканей и связаны с высоким риском атеросклероза. HDL также имеют относительно высокую концентрацию холестерина, но доставляют липиды в печень для метаболизма в желчные соли и связаны со снижением риска развития атеросклероза.

Метаболизм и гомеостаз холестерина являются результатом сложного равновесия между свободным стеролом в клетке и в плазме. Phillips et al., BIOCHIM. BIOPHYS. ACTA, 906:223-276 (1987). Доставка холестерина в клетки осуществляется через опосредованный рецепторами путь LDL, селективный захват через рецептор-скевенджер B-I и пассивный обмен стерола между плазматическими мембранами и липопротеинами. Только те ткани, которые вырабатывают стероидные гормоны и желчные кислоты, могут метаболизировать холестерин. Для того, чтобы предотвратить накопление избыточного свободного стерола в остальных периферических тканях, существует обратный транспорт холестерина из плазматических мембран в HDL и подобные липопротеинам частицы. HDL транспортируют избыточный холестерин в печень, где он может переходить в желчь в виде неэстерифицированного холестерина, преобразовываться в желчные соли для экскреции, эстерифицироваться и храниться в печени или включаться в состав липопротеинов очень низкой плотности (VLDL) для возвращения в пул липопротеинов.

Пассивный обмен холестерина между клетками и липопротеинами осуществляется посредством диффузии молекул стерола через водное пространство. Phillips et al., выше, и Schroeder et al., EXP. BIOL. MED., 196:235-252 (1991). Сетевой клеточный отток наблюдается, если химический потенциал свободного холестерина ниже в плазме, чем в клетках, таким образом, что стерол покидает мембрану по градиенту своей активности. В данных условиях было показано, что клетки, нагруженные эстерифицированным холестерином, которые являются морфологической характеристикой ранних атеросклеротических повреждений, не только теряют холестерин, но и ускоряют гидролиз сложного эфира, что приводит к сокращению внутриклеточных отложений данного липида. Small, ARTERIOSCLEROSIS, 8:103-129 (1988). Более того, как было упомянуто выше, существуют эпидемиологические данные, свидетельствующие о том, что состояния, которые, как можно ожидать, будут усиливать обратный транспорт холестерина (низкие концентрации холестерина в плазме или повышенные концентрации HDL), коррелируют с пониженным риском преждевременного атеросклероза и могут вызывать регрессию бляшек.

Типичным является тот факт, что бляшки связаны с изъязвлением интимы сосудов. Содержащие липиды бляшки растут в изъязвлениях, выставляя рыхлые массы в просвет артерии. Бляшки также могут повреждать и ослаблять гладкомышечную оболочку сосуда. По мере прогрессирования бляшкообразования более центральные участки бляшек экранируются от кровотока. Экстенсивное образование бляшек также вызывает концентрическое или эксцентрическое сужение сосуда на участке бляшек.

В настоящее время наиболее эффективным лечением атеросклероза является предотвращение. Существуют данные, свидетельствующие о том, что прогрессирование и накопление липидов в повреждениях может быть остановлено, когда концентрации LDL в плазме поддерживаются близко к нормальным уровням. Reynolds, Circulation, 79:1146-1148 (1989).

Современные профилактические меры в отношении атеросклеротического заболевания сфокусированы на применении лекарственных средств в сочетании с ограничениями питания для регулирования уровней холестерина в плазме. Кроме того, антиоксидантные лекарственные средства, которые подавляют образование и захват модифицированных частиц LDL клетками артериальной стенки, также оказывают благоприятное действие. Chisolm, CLIN. CARDIOL., 14:25-30 (1991). Однако в то время как гипохолестеринемические лекарственные средства индуцируют благоприятные изменения холестерина плазмы, которые, как представляется, замедляют прогрессирование атеросклероза, они обычно не индуцируют состояния, которые способствуют оттоку и удалению атероматозного холестерина. Ясно, что для того, чтобы добиться значительной регрессии атеромы и уменьшить обструкцию просвета сосуда, данные занимающие пространство липиды должны быть мобилизованы. Имеющиеся в настоящее время данные предполагают, что процессы, которые стимулируют отток холестерина, находящегося вне клеток печени, и его транспортирование в печень для экскреции, обратный транспорт холестерина (RCT), являются важными событиями для профилактики атеросклероза. Gwynn, Clin. CARDIOL., 14:17-24 (1991).

Имеющиеся в настоящее время средства лечения атеросклероза обычно разделяют на хирургические и медикаментозные средства. Хирургическое лечение влечет за собой процедуры сосудистой трансплантации для обходного шунтирования участков окклюзии (например, обходное шунтирование коронарной артерии), удаление закупоривающих бляшек из артериальной стенки (например, эндартерэктомия сонной артерии) или чрескожное разрушение бляшек (например, баллонная ангиопластика). Хирургическое лечение представляет собой значительный риск и лечит только отдельные поражения. Атеросклеротические бляшки, располагающиеся ниже по направлению тока крови от вылеченного повреждения, могут продолжать препятствовать кровотоку. Хирургическое лечение также не ограничивает прогрессирование атеросклероза и связано с таким поздним осложнением как рестеноз.

Медикаментозное лечение направлено на уменьшение других факторов риска, связанных с сосудистым заболеванием (например, курения, диабета и гипертензии), и уменьшение содержания форм сывороточного холестерина, которые связаны с развитием атеросклероза, как описано выше. В то время как медикаментозные средства могут замедлять прогрессирование бляшкообразования, регрессия бляшек

является относительно редким явлением. Таким образом, клинически проявляющийся атеросклероз часто требует как хирургического, так и медикаментозного лечения.

Парадоксально, внутривенная инфузия фосфолипидов и липосом, как было показано, вызывает регрессию атеросклеротических бляшек, хотя уровни сывороточных липидов временно повышаются. Williams et al., PERSPECT. BIOL. MED., 27:417-431 (1984). В некоторых случаях, однако, холестерин, связанный с развитием и прогрессированием атеросклероза, может повышаться после введения липосом.

В предыдущих исследованиях, в ходе которых изучалась индуцированная фосфолипидами мобилизация холестерина *in vivo*, использовались многослойные или обработанные ультразвуком липосомные везикулы. Размер липосом является ключевой характеристикой в кинетике клиренса и представляет собой одну из нескольких причин, по которым обработанные ультразвуком везикулы, как ожидается, будут представлять собой двухслойную структуру, наиболее подходящую для усиления обратного транспорта холестерина. Ультразвуковая обработка уменьшает многослойные везикулы (MLV) до везикул «пределного размера». Указанные системы демонстрируют минимальный радиус изгиба, который может принять двухслойная конфигурация без разрыва. Например, липосома минимального размера из яичного фосфатидилхолина, которую можно получить, обычно имеет в диаметре приблизительно 30 нм, что часто классифицируют как маленькую однослойную везикулу (SUV). Для данного состава липосом обычно полагают, что чем меньший диаметр частиц, тем больше полупериод их существования в циркуляции (Gregoriadis и Senior, LIFE SCI., 113:183-192 (1986)). Таким образом, ожидалось, что SUV, состоящие из фосфатидилхолина, будут циркулировать дольше, чем более крупные липосомы, и, следовательно, будут мобилизовывать больше холестерина. Кроме того, стеснение упаковки молекул, которому подвергаются фосфолипиды в SUV (в силу острого радиуса изгиба), дает нестабильность, которая может приводить к слиянию, Hope et al., CHEM. PHYS. LIPIDS, 40:89-107 (1986), а также к усилинию тенденции асимилироваться с липопротеинами. См., например, Scherphof et al., BIOCHIM. BIOPHYS. ACTA, 542:296-307 (1978) и Krupp et al., BIOCHIM. BIOPHYS. ACTA, 72:1251-1258 (1976). Таким образом, ожидалось, что SUV будут давать больше HDL-подобных частиц, способствуя, тем самым, оттоку стерола из периферических тканей. В подтверждение этого ожидания липосомы, имеющие диаметры 50-80 нм, как сообщалось, оптимизировали мобилизацию стерола и регрессию бляшек. Европейская патентная публикация № 0461559 A2.

В патенте США № 5746223 (патент '223), озаглавленном "Method of Forcing The Reverse Transport of Cholesterol From A Body Part While Avoiding Harmful Disruptions Of Hepatic Cholesterol Homeostasis", в патенте США № 6080422 (патент M22), озаглавленном "Methods of Angioplasty and Cardiac Catheterization", и в патенте США № 6139871 (патент '871), озаглавленном "Liposome Compositions And Methods For The Treatment of Artherosclerosis", каждый из которых целиком включен в настоящий документ в качестве ссылки, описано (среди прочего) применение LUV для индуцирования обратного транспорта холестерина из периферических тканей, для лечения атеросклероза, и для применения в процедурах ангиопластики.

Более конкретно, патенты '223 и '422 описывают применение LUV с диаметром до 1000 нм (липосомы большего размера могут быть «менее эффективными»); в формуле изобретения перечисляются диаметры более приблизительно 50, 80 или 100 нм, а в описании в одном варианте осуществления приводится предпочтительный диаметр 120 нм. Вводимые дозы в патентах '223 и '422 варьируют от 10 до 1600 мг/кг на дозу. В более специфических вариантах осуществления доза составляет менее 600 мг/кг в день, а в других особых вариантах осуществления доза представляет собой болюс 300 мг/кг, вводимый кроликам 1, 3 и 5 дней.

Патент '871 описывает применение LUV, имеющих диаметр 100-150 нм, с предпочтительным диаметром 125 нм. Патент '871 также описывает введение LUV в пределах приблизительно 100-150 мг/кг, «обычно» приблизительно от 200 до 750 мг/кг, и «наиболее обычно» приблизительно от 280 до 420 мг/кг, при многих видах лечения, «обычно еженедельно» в течение приблизительно 4-16 недель, «обычно» приблизительно 10 недель. Патент '871 утверждает, что концентрация LUV в носителе может варьироваться, но обычно концентрация будет составлять приблизительно 20-200 мг/мл, обычно приблизительно 50-150 мг/мл, и, наиболее обычно, приблизительно 100 мг/мл.

Недавно были проведены два исследования с использованием ETC-588 (липосом, изготовленных из 1-пальмитоила, 2-олеилфосфатидилхолина, патентованного продукта Esperion Therapeutics, Inc.). ETC-588 секвестрирует холестерин и другие обменивающиеся липиды из сосудистой и периферической ткани (процесс, известный как мобилизация), что приводит к преходящим повышениям сывороточного холестерина, который возвращается к уровням, имевшимся до воздействия, после того, как ETC-588 доставляет свой груз холестерина в печень для преобразования или экскреции. Мобилизация и регрессия экспериментально индуцированного атеросклероза была показана на доклинических моделях, в которых использовали размер и состав липосом, очень сходные с ETC-588. ETC-588 резко повышает отток холестерина в организме и усиливает пути обратного транспорта липидов.

В первом исследовании оценивали безопасность и переносимость ETC-588 у здоровых добровольцев предпочтительно, использовании однократных доз 20, 60, 150, 300 и 600 мг/кг липосом ETC-588. Липосомы ETC-588 (200 мг/мл) вводили внутривенной инфузией со скоростью 10 мл в минуту с исполь-

зованием инфузионного насоса. ETC-588 в плазме анализировали как фосфолипид (PL). Общий и неэстерифицированный холестерин (UC) и PL определяли стандартными автоматизированными способами. Субъектов разделяли на экспериментальные группы в соответствии со схемой рандомизации. Безопасность и переносимость, лабораторные данные, показатели жизненно важных функций и неблагоприятные явления суммировали в каждый момент времени и для изменений между состоянием до введения и после введения с использованием описательной статистики. Фармакокинетические и фармакодинамические данные суммировали с использованием описательной статистики. Результаты показали, что, несмотря на то, что мобилизация холестерина наблюдалась в обширных пределах доз, эффективность варьировала. Кроме того, у трех из трех субъектов функциональные печеночные пробы были повышенны при дозе 600 мг/кг, а у одного индивидуума было серьезное неблагоприятное событие, на которое указывало повышение печеночных ферментов. Другие неблагоприятные явления включали головную боль, головокружение, тошноту и усталость.

Во втором исследовании оценивали безопасность и переносимость ETC-588 у здоровых добровольцев, которые получали всего 4 дозы с 3-дневными интервалами. Вводили дозы 100, 150, 200, 250 и 300 мг/кг. Липосомы ETC-588 (200 мг/мл) вводили внутривенной инфузией со скоростью 10 мл в минуту с использованием инфузионного насоса. ETC-588 в плазме анализировали как фосфолипид (PL). Общий и неэстерифицированный холестерин (UC) и PL определяли стандартными автоматизированными способами. Субъектов разделяли на экспериментальные группы в соответствии со схемой рандомизации.

Безопасность и переносимость, лабораторные данные, показатели жизненно важных функций и неблагоприятные явления суммировали в каждый момент времени и для изменений между состоянием до введения и после введения с использованием описательной статистики. Фармакокинетические и фармакодинамические данные суммировали с использованием описательной статистики. Результаты показали, что мобилизация холестерина увеличивалась дозозависимым образом, хотя эффективность варьировала. Кроме того, введение с 3-дневными интервалами всего 4 доз, как оказалось, вызывало нежелательное накапливание ETC-588. Как и в первом исследовании неблагоприятные явления включали головную боль, головокружение, тошноту и усталость. Кроме этого, данные исследования проводили только на здоровых пациентах, а не на пациентах, имеющих заболевание или другие нежелательные состояния организма.

Таким образом, существует потребность определения безопасных, эффективных и нетоксичных доз и схем введения для больных пациентов, которые предотвращают или уменьшают любые нежелательные побочные эффекты. Помимо этого, существует потребность определения более оптимальных схем введения липосом оптимального размера для лечения пациентов, страдающих заболеваниями и/или состояниями организма, описанными в настоящем документе, или другими заболеваниями или состояниями.

#### **Краткое описание существа изобретения**

Настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям и способам введения липосом, которые могут включать LUV в отдельности или в комбинации с MLV, SUV и/или другими лекарственными средствами, используемыми для профилактики, лечения или ведения ряда заболеваний и состояний организма, включая, без ограничения: артериосклероз, включая атеросклероз, флебосклероз или любое венозное состояние, при котором в интиме или внутренней оболочке вен образуются бляшки, содержащие холестерин или другой материал, острые коронарные синдромы, стенокардию, включая стабильную стенокардию и нестабильную стенокардию, воспаление или воспалительные заболевания, включая, без ограничения, воспаление сосудов и воспаление кожи, застойную сердечную недостаточность, ишемическую болезнь сердца (ИБС), гипертензию, коронарные желудочковые аритмии, наджелудочковые аритмии, заболевание периферических сосудов, смертельный инфаркт миокарда, несмертельный инфаркт миокарда, ишемию, включая сердечно-сосудистую ишемию, гибернацию миокарда, преходящие нарушения мозгового кровообращения, ишемию, не связанную с сердечно-сосудистым заболеванием, включая ишемически-реперфузионное повреждение, такое как повреждение в результате операции на бедре, операции на колене, трансплантация органов или РТСА, коронарную реперфузию, рестеноз, периоперативные (PCI) ишемические явления, пониженную потребность в реваскуляризации, редуцированную область инфаркта, нарушения свертываемости крови, тромбоцитопению, тромбоз глубоких вен, панкреатит, неалкогольный стеатогепатит (NASH), диабетическуюнейропатию, ретинопатию, диабетическуюнейропатию, псориаз, критическую ишемию конечностей, хромоту, импотенцию, рак предстательной железы, гиперлипидемию, гиперлипопротеинемию, гипоальфалипопротеинемию, гипертриглицеридемию, любое стенотическое состояние, ведущее к ишемической патологии, диабет, включая диабет типа I и типа II, ихтиоз, инсульт, чувствительные тромбоциты, разрыв чувствительных тромбоцитов, болезнь Альцгеймера, язвы нижних конечностей, тяжелую коронарную ишемию, лимфомы, катаркты, эндотелиальную дисфункцию, ксантомы, дисфункцию концевого органа, сосудистое заболевание, сосудистое заболевание, являющееся результатом курения и диабета, заболевание сонных и коронарных артерий, регресс и сморщивание уже существующих бляшек, комбинации хирургических процедур, которые приводят к повреждению эндотелия, эндотелиальное повреждение в результате хирургических процедур, заболеваемость, связанную с сосудистым заболеванием, изъязвление в просвете артерий, рестеноз в результате баллонной ангиопластики и симптомы-предвестники вышеупомянутых состояний.

Композиции и способы по настоящему изобретению можно использовать для повышения уровней HDL, повышения низких уровней HDL, понижения уровней LDL, понижения высоких уровней LDL, временного повышения уровней LDL, понижения уровней триглицеридов, повышения или понижения уровня других липидов, повышения стабильности бляшек или понижения вероятности разрыва бляшек, повышения или понижения вазодилатации, лечения или профилактики воспаления, лечения или профилактики воспалительных заболеваний или воспалительного ответа, укрепления или стабилизации гладкой мускулатуры и сосудистой интимы, стимуляции оттока внеклеточного холестерина для транспортировки в печень, модулирования иммунных ответов, мобилизации холестерина из атеросклеротических бляшек и модификации любой мембранные, клетки, ткани, органа и внеклеточной области и/или структуры, в которых модификации состава и/или функции были бы благоприятными. Композиции и способы по настоящему изобретению также заключают в себе местное применение и заживление ран.

Изобретение включает схемы дозирования, при которых конкретные дозы липосом, особенно липосом в пределах особых размеров, вводят с конкретными интервалами времени и в конкретных дозах для достижения понижения холестерина и/или лечения заболевания, в то же время уменьшая или избегая неблагоприятных эффектов или нежелательных эффектов. Таким образом, способы введения липосом, способы понижения общего и LDL холестерина путем введения липосом, способы повышения уровня или повышения эффективности HDL холестерина путем введения липосом и способы дозирования липосом для пациентов, которые в этом нуждаются, подробно описаны в настоящем документе.

Везикулы (или липосомы) оптимизируют отток холестерина из атеросклеротических бляшек. Везикулы могут быть связаны с аполипопротеином, обычно аполипопротеином AI или AII, и часто содержат по меньшей мере один фосфолипид, такой как фосфатидилхолин или фосфатидилглицерин. Композиции обычно включают липосомы и фармацевтически приемлемый носитель. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения липосомы до введения не содержат холестерина. Липосомы, используемые в новых схемах введения, могут иметь диаметр любого размера. Помимо этого, липосомы могут иметь средний диаметр любого размера с любым стандартным отклонением или распределением по размерам.

В отдельных и предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения липосомы имеют средний диаметр от 50 до 250 нанометров (нм) с любым стандартным отклонением или распределением по размерам. В отдельных предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения липосомы имеют средний диаметр от 50 до 250 нм с распределением  $\pm 50\%$ , предпочтительно  $\pm 40\%$ . В отдельных предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения липосомы имеют средний диаметр от 100 до 140 нм с любым стандартным отклонением или распределением по размерам. В отдельных предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения липосомы имеют средний диаметр от 100 до 140 нм с распределением  $\pm 50\%$ , предпочтительно  $\pm 40\%$ . В отдельных предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения липосомы имеют средний диаметр от 110 до 120 нм с любым стандартным отклонением или распределением по размерам. В отдельных предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения липосомы имеют средний диаметр от 110 до 120 нм с распределением  $\pm 50\%$ , предпочтительно  $\pm 40\%$ . В отдельных предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения липосомы имеют средний диаметр от 100 до 200 нм с любым стандартным отклонением или распределением по размерам. В особых вариантах осуществления настоящего изобретения липосомы имеют средний диаметр от 100 до 110 нм, от 110 до 120 нм, от 120 до 130 нм, от 130 до 140 нм, от 140 до 150 нм, от 150 до 160 нм, от 160 до 170 нм, от 170 до 180 нм, от 180 до 190 нм или от 190 до 200 нм, с любым стандартным отклонением или распределением по размерам предпочтительно с распределением по размерам от  $\pm 40$  до  $\pm 50\%$ . В конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения используемые липосомы представляют собой ETC-588 (патентованный продукт Esperion Therapeutics, Inc.).

Представлены также способы лечения указанных выше заболеваний и состояний организма, которые можно применять в терапевтических или профилактических целях. Способы обычно включают введение композиции по настоящему изобретению млекопитающим, предпочтительно, людям, имеющим любое из указанных выше заболеваний или состояний организма. Часто композиции будут вводиться сериями в течение определенного периода времени. Композиции можно вводить перорально или парентерально. Обычно композиции будут вводиться парентерально, предпочтительно, внутривенно, или введение может быть внутримышечным, подкожным, интраперитонеальным, интратекальным, интраартериальным, через лимфатические сосуды, через инфузию, внутрисосудистым и введением через постоянный катетер или катетер, установленный непосредственно перед введением, через шприц или нагнетающее введение. В других вариантах осуществления настоящего изобретения введение может быть сублингвальным, трансбуккальным, чресслизистым, местным, ректальным, вагинальным, интраартериальным, чрескожным, посредством инфузии, посредством шприца или посредством нагнетающего введения. В особом варианте осуществления настоящего изобретения композиции по настоящему изобретению вводят местно для профилактики или лечения воспаления или в качестве вспомогательного средства для заживления ран.

Способы по настоящему изобретению охватывают введение липосом однократной или разделенными дозами от 20 до 600 мг/кг, предпочтительно от 50 до 600 мг/кг, и более предпочтительно от 50 до 300 мг/кг, пациенту, который в этом нуждается. В отдельном предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения липосомы вводят однократной или разделенными дозами от 100 до 200 мг/кг, предпочтительно от 150 до 200 мг/кг, пациенту, который в этом нуждается. В особых вариантах осуществления настоящего изобретения везикулы вводят однократной или разделенными дозами от 110 до 120 мг/кг, от 120 до 130 мг/кг, от 130 до 140 мг/кг, от 140 до 150 мг/кг, от 150 до 160 мг/кг, от 160 до 170 мг/кг, от 170 до 180 мг/кг, от 180 до 190 мг/кг или от 190 до 200 мг/кг, пациенту, который в этом нуждается.

В конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения везикулы вводят однократной или разделенными дозами с одним или более интервалами, составляющими 1 раз в день, через день, 1 раз в 3 дня, 1 раз в 4 дня, 1 раз в 5 дней, 1 раз в 6 дней, 1 раз в неделю, 1 раз в 2 недели, 1 раз в 3 недели, 1 раз в месяц, 1 раз в 2 месяца, 1 раз в 3 месяца, 1 раз в 4 месяца, 1 раз в 5 месяцев и 1 раз в 6 месяцев, 1 раз в 7 месяцев, 1 раз в 8 месяцев, 1 раз в 9 месяцев, 1 раз в 10 месяцев, 1 раз в 11 месяцев и 1 раз в год, или вводят иначе, с заранее определенными интервалами времени в течение заранее определенного периода лечения. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения интервал времени между дозами во время курса лечения составляет 1 раз в неделю. Предпочтительные периоды лечения для курса терапии могут составлять 1 день, 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней, 6 дней, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 7 недель, 8 недель, 9 недель, 10 недель, 11 недель, 12 недель, 13 недель, 14 недель, 4 месяца, 5 месяцев, 6 месяцев, 7 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев, 10 месяцев, 11 месяцев, 1 год, 2 года, 3 года, 4 года или 5 лет. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения период лечения для курса терапии составляет не более 14 недель. В других предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения липосомы вводят с 4-7-дневными интервалами с использованием 1-4, 1-8 или 1-14 доз, которые вводят с каждым курсом терапии. Схемы введения также включают непрерывное инфузионное лечение, которое может включать использование ударной дозы, за которой следует поддерживающая доза. Пациенты, которых лечат указанными композициями и согласно указанным способом, могут быть любого возраста и могут иметь одно или более заболеваний или состояний организма, перечисленных выше, и/или других заболеваний и состояний.

#### Краткое описание фигур

Фиг. 1А показывает распределение по размерам партии больших однослойных липосом, изготовленных экструзией.

Фиг. 1В - распределение по размерам партии больших однослойных липосом диаметром приблизительно 200 нм, изготовленных гомогенизацией.

Фиг. 1С - распределение по размерам партии ЕТС-588, изготовленных экструзией.

Фиг. 2 - уровни липосом и неэстерифицированного холестерина после введения доз липосом каждые 4 дня.

Фиг. 3 - уровни липосом и неэстерифицированного холестерина после введения доз липосом каждые 7 дней.

#### Определения

Используемый в настоящем документе термин «лекарственное средство» означает синтетическое соединение, пригодное для терапевтического применения, без связанных с ним носителей, адьювантов, активаторов или кофакторов. «Лекарственное средство» не включает натуральные или эндогенные апоплопротеины, фосфатидилхолин-стерол-ацилтрансферазу или альбумин. «Липосома», «везикула» и «липосомная везикула» обозначают структуры, имеющие содержащие липиды оболочки, в которые заключено внутреннее содержимое. Структуры могут иметь одну или более липидных оболочек, если не указано иное, хотя обычно липосомы будут иметь только одну оболочку. Указанные липосомы с одним слоем в настоящем документе называются «однослойными». Термин «LUV» относится к большим однослойным везикулам, термин «SUV» относится к маленьким однослойным везикулам, а термин «MLV» относится к многослойным везикулам. Используемый в настоящем документе термин "лечение атеросклероза" охватывает осуществление терапевтического вмешательства, которое приводит к уменьшению содержания холестерина по меньшей мере в одной атеросклеротической бляшке или к профилактическому ингибированию или предотвращению образования или экспансии атеросклеротической бляшки.

#### Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение основано, частично, на открытии того факта, что конкретные дозы и схемы введения, используемые для доставки липосом, особенно липосом конкретного размера, играют главную роль в оптимизации удаления холестерина из периферических тканей и/или в метаболизме холестерина, удаленного из атеросклеротических бляшек указанными липосомами. Новые способы по настоящему изобретению заключают в себе лечение или профилактику заболевания или его симптомов, в то же время уменьшая или избегая неблагоприятных эффектов, например токсических побочных эффектов или нежелательных эффектов. Помимо этого, в противоположность предыдущим описаниям липосомной терапии, заявители установили, что липосомы можно использовать для профилактики, лечения или ведения ряда заболеваний и состояний организма, помимо атеросклероза и других показаний, ранее описанных для

липосомной терапии.

В одном варианте осуществления настоящего изобретение заключает в себе способ дозирования липосом пациенту, который в этом нуждается; указанный способ включает введение липосом со средним диаметром 100 нм, и предпочтительно менее 250 нм, пациенту, имеющему заболевание, которое можно лечить понижением холестерина однократной или разделенными дозами, вводимыми каждые 4-7 дней в количестве приблизительно от 100 до 250 мг/кг, предпочтительно приблизительно от 100 до 200 мг/кг. Пациенты, подвергаемые лечению, липосомы, которые должны использоваться по настоящему изобретению, а также конкретные дозы и схемы введения подробно обсуждаются ниже.

### 1. Липосомы.

Заявители установили, что липосомы со средним диаметром более 100 нм и, предпочтительно, от 100 до 140 нм, более предпочтительно от 110 до 120 нм, являются оптимальными для удаления холестерина из системы. В общем, превосходное действие липосом диаметром более 100 нанометров можно объяснить гистологическим строением печени. При циркуляции в печени большие липосомы (здесь - «липосомы диаметром более 100 нм») могут устраиваться Купферовскими клетками, которые выстилают синусоидальные отверстия. Купферовские клетки переносят холестерин к гепатоцитам для экскреции с желчью или для повторной утилизации. Маленькие липосомы (здесь - «липосомы диаметром менее 100 нм») могут непосредственно достигать гепатоцитов без (или с ограниченными) предварительных преобразований Купферовскими клетками. Поскольку для фиксированной дозы можно ввести инфузий больше маленьких липосом, чем частиц большего размера, на гепатоциты можно остро воздействовать относительно высокой концентрацией маленьких липосом и аккумулированного ими холестерина. Заявители установили, что липосомы с диаметром от 100 до 140 нм, предпочтительно от 110 до 120 нм, являются оптимальными, поскольку они предварительно устраняются Купферовскими клетками и являются более эффективными в мобилизации холестерина, чем липосомы меньшего или большего размера.

Помимо и отдельно от распределения липосом по размерам, заявители установили, что для больных пациентов определенные дозы и схемы введения являются более безопасными и более эффективными для лечения заболеваний. В данных способах и композициях, используемых в указанных способах, можно использовать липосомы любого размера или липосомы, имеющие любой средний диаметр с любым стандартным отклонением или распределением по размерам. Действительно, предпочтительно, чтобы липосомы оптимального размера использовались согласно новым схемам введения или в пределах предпочтительных доз.

В конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения липосомы имеют средний диаметр более 100 нм, независимо от стандартного отклонения или распределения по размерам. В отдельных предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения липосомы имеют средний диаметр 50-250 нанометров (нм) с любым стандартным отклонением или распределением по размерам. В отдельных предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения липосомы имеют средний диаметр 50-250 нм  $\pm$  40-50%. В отдельных предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения липосомы имеют средний диаметр 100-140 нм с любым стандартным отклонением или распределением по размерам. В отдельных предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения липосомы имеют средний диаметр 110-120 нм с любым стандартным отклонением или распределением по размерам. В отдельных предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения липосомы имеют средний диаметр 110-120  $\pm$  40-50%. В отдельных предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения липосомы имеют средний диаметр 100-200 нм с любым стандартным отклонением или распределением по размерам. В особых вариантах осуществления настоящего изобретения липосомы имеют средний диаметр от 100 до 110 нм, от 110 до 120 нм, от 120 до 130 нм, от 130 до 140 нм, от 140 до 150 нм, от 150 до 160 нм, от 160 до 170 нм, от 170 до 180 нм, от 180 до 190 нм или от 190 до 200 нм, с любым стандартным отклонением или распределением по размерам, предпочтительно, с распределением по размерам от  $\pm$  40 до  $\pm$  50%. В предпочтительных отдельных вариантах осуществления настоящего изобретения используемые липосомы представляют собой ETC-588 (патентованный продукт Esperion Therapeutics, Inc.), имеющие средний диаметр от 100 до 140 нм  $\pm$  40-50% после изготовления.

Изобретение рассматривает также применение липосом со средним диаметром более 50 нм и, предпочтительно, более 100 нм и менее 250 нм, которые после введения повышают или не повышают сывороточные концентрации LDL. Изобретение рассматривает также применение липосом со средним диаметром более 50 нм и, предпочтительно, более 100 нм и менее 250 нм, которые после введения понижают или не понижают сывороточные концентрации LDL. В некоторых случаях липосомы не будут связанны с другой молекулой, такой как лекарственное средство или белок. В других случаях липосомы по настоящему изобретению будут связаны, объединены и/или будут вводиться в комбинации с (1) белками и пептидами, связанными с липосомами, такими как белки, связывающиеся с липидами, включая пептиды, параоксоназу, липопротеинлипазу, фосфатидилхолинстеролаптрансферазу, белок переноса фосфолипидов, Аро A-I и миметики или варианты Аро A-I; (2) малыми акцепторами, включая HDL, частицы син-

тетических и/или рекомбинантные HDL, изготовленные с аполипопротеинами АроA-І или миметиками Аро A-І; (3) сердечно-сосудистыми агентами, включая малые молекулы, статины, аспирин, клопидогрел, бета-блокаторы, агенты, контролирующие сахар крови, и/или противодиабетические агенты, антигипертензивные агенты, гепарин, нитраты, ингибиторы ІІb/ІІa, ингибиторы АПФ, бета-блокаторы, фибраторы, блокаторы кальциевых каналов и/или секвестранты желчных кислот; (4) и противодиабетическими (и/или контролирующими сахар крови) лекарственными средствами, включая, без ограничения, инсулин и пероральные агенты. Кроме того, большие липосомы можно вводить в отдельности или в комбинации с многослойными везикулами и/или маленькими однослойными везикулами. Примеры белков и пейтидов (таких как белки, связывающиеся с липидами, включая пептиды, Аро A-І и миметики или варианты A-І) описаны в патентах США №№ 6004925, 6046166, 6037323, 6287590, 6329341 и 6265377, которые целиком включены в настоящий документ в качестве ссылок. Примеры малых молекул, которые модулируют уровни HDL, LDL или холестерина, описаны в патентных заявках США №№ 09/540740, 09/540739 и 09/540738, которые целиком включены в настоящий документ в качестве ссылок.

Специалисты оценят тот факт, что липосомы в композициях по настоящему изобретению можно синтезировать с помощью ряда способов, таких как описано, например, в патентах США №№ 4186183, 4217344, 4261975, 4485054, 4774085, 4946787, 5726157, 5746223, 5843474, 5448435, 5853402, 6080422, 6312719, 6139871, публикации PCT № WO 91/17424, Deamer и Bangham, BIOCHIM. BIOPHYS. ACTA, 443:629-634 (1976); Fraley et al., PROC. NATL. ACAD. SCI. USA, 76:3348-3352 (1979); Hope et al., BIOCHIM. BIOPHYS. ACTA, 812:55-65 (1985); Mayer et al., BIOCHIM. BIOPHYS. ACTA, 856:161-168 (1986) и Williams et al., PROC. NATL. ACAD. SCI., 85:242-246 (1988), которые целиком включены в настоящий документ в качестве ссылок. Подходящие способы включают, например, ультразвуковую обработку, экструзию, гомогенизацию под высоким давлением, микрофлюидизацию, детергентный диализ, индуцированное кальцием слияние маленьких липосомных везикул и эфирно-инфузионные способы, хорошо известные специалистам.

Обычно наиболее удобно изготавливать липосомы путем ультразвуковой обработки и путем экструзии. Коротко, липид смешивают с физиологическим раствором и буфером. В одном варианте осуществления раствор липида в хлороформе смешивают путем вращения и растворитель удаляют под постоянным потоком N<sub>2</sub>. Образец сушат в условиях высокого вакуума. Полученную сухую липидную пленку регидратируют в 150 mM NaCl и 20 mM [4-(2-гидроксиэтил)]пиперазинэтаносульфоновой кислоте (Нерес, pH 7,4). Обычно это дает многослойные липосомные везикулы. Однослойные везикулы получают с использованием ультразвуковой обработки или экструзии.

Ультразвуковую обработку обычно осуществляют ультразвуковым дезинтегратором с наконечником, таким как ультразвуковой дезинтегратор с наконечником Branson, на бане со льдом. Обычно супензию подвергают нескольким циклам ультразвуковой обработки. Экструзию можно осуществлять с использованием мембранных экструдеров, таких как Lipex Biomembrane Extruder. Определенный размер пор в фильтрах экструдера может давать однослойные липосомные везикулы конкретных размеров. Липосомы также можно формировать экструзией через асимметричный керамический фильтр, такой как Ceraflow Microfilter, продаваемый Norton Company, Worcester Mass. Липосомы ETC-588 (патентованный продукт Esperion Therapeutics, в настоящее время проходящий клинические испытания) производят путем экструзии. Современный способ включает гидратирование 1-пальмитоил-2-олеоилфосфатидилхолина (POPC) физиологическим раствором с фосфатным буфером и пропускм его через мембранные фильтры до достижения среднего диаметра приблизительно от 100 до 140 нм, и более предпочтительно до достижения среднего диаметра приблизительно от 110 до 120 нм. Можно осуществлять однократное или многочисленные прохождения через мембранные фильтры. В одном конкретном варианте осуществления настоящего изобретения осуществляют 2-10 прохождений, предпочтительно 2-5 прохождений. Кроме того, фильтрующие мембранные могут быть одного и того же размера или различных размеров (т.е., может иметь место градиент мембран). Полученный продукт называется ETC-588. Примеры изготовления липосом конкретных размеров путем экструзии описаны во временной патентной заявке США № 60/326032, зарегистрированной 28 сентября 2001 г., которая целиком включена в настоящий документ в качестве ссылки.

Другие способы получения липосом с таким же средним диаметром включают гомогенизацию или микрофлюидизацию, однако, распределение частиц при этом больше. См. фиг. 1A в сравнении с фиг. 1B. При использовании современной технологии биологический эффект частиц, изготовленных гомогенизацией или микрофлюидизацией, отличается от эффекта частиц, изготовленных экструзией. Кинетика клиренса является слегка более быстрой, а площадь под кривой измерений мобилизации холестерина незначительно меньше, что указывает на то, что данные частицы являются менее эффективными по сравнению с экструдированными липосомами, даже когда животным вводят эквивалентную дозу на основе мг фосфолипида/кг.

Размер липосомных везикул можно определить методом рассеивания псевдоэлектрического света (QELS), как описано в Bloomfield, ANN. REV. BIOPHYS. BIOENG., 10:421-450 (1981), целиком включенной в настоящий документ в качестве ссылки. Средний диаметр липосом можно уменьшить ультразвуковой обработкой сформированных липосом. Прерывистые циклы ультразвуковой обработки можно

чредовать с оценкой QELS для руководства эффективным синтезом липосом. Липосомы могут состоять из различных липидов. Обычно липосомы будут изготавливаться из по меньшей мере одного фосфолипида, обычно яичного фосфатидилхолина, яичного фосфатидилглицерина, дистеароилфосфатидилхолина или дистеароилфосфатидилглицерина. Многие варианты осуществления настоящего изобретения будут включать более одного фосфолипида.

Другие фосфолипиды, подходящие для формирования липосом, которые можно использовать в композициях и способах, описанных в настоящем документе, включают, без ограничения, фосфатидилхолин, фосфатидилглицерин, лецитин, бета,гамма-дипальмитоил-альфа-лецитин, сфингомиelin, фосфатидилсерин, фосфатидную кислоту, хлорид N-(2,3-ди(9-(Z)-октадеценилокси))-проп-1-ил-N,N- trimетиламмония, фосфатидилэтаноламин, лизоцеитин, лизофосфатидилэтаноламин, фосфатидилинозит, цефалин, кардиолипин, цереброзиды, дицетилфосфат, диолеоилфосфатидилхолин, дипальмитоилфосфатидилхолин, дипальмитоилфосфатидилглицерин, диолеоилфосфатидилглицерин, пальмитоилолеоилфосфатидилхолин, дистеароилфосфатидилхолин, стеароилпальмитоилфосфатидилхолин, дипальмитоилфосфатидилэтаноламин, дистеароилфосфатидилэтаноламин, димиристоилфосфатидилсерин, диолеоилфосфатидилхолин, олеоилпальмитоилфосфатидилхолин, пальмитоилолеоилфосфатидилхолин, липид, который находится в жидкокристаллической фазе при 37°C, их смеси и т.п. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения липосомы состоят из пальмитоилолеоилфосфатидилхолина. В липосомах композиций по настоящему изобретению можно также использовать не содержащие фосфор липиды. Последние включают, например, стеариламин, доцециламин, ацетилпальмитат, амиды жирных кислот и т.п. Дополнительные липиды, подходящие для использования в липосомах по настоящему изобретению, хорошо известны специалистам и упоминаются в ряде хорошо известных источников, например, McCUTCHEON'S DETERGENTS AND EMULSIFIERS and McCUTCHEON'S FUNCTIONAL MATERIALS, Allured Publishing Co., Ridgewood, N.J., которые целиком включены в настоящий документ в качестве ссылок.

В целом, желательно, чтобы липосомы были составлены из липидов, которые являются жидкокристаллическими при 37°C, часто при 35°C и даже при 32°C. Липосомы в жидкокристаллическом состоянии обычно принимают холестерин более эффективно, чем липосомы в гелеобразном состоянии. Поскольку пациенты обычно имеют внутреннюю температуру приблизительно 37°C, липосомы. Составленные из липидов, которые являются жидкокристаллическими при 37°C, обычно находятся в жидкокристаллическом состоянии во время лечения и, таким образом, оптимизируют выведение холестерина из бляшек.

Предпочтительно, липосомы, используемые в способах и композициях, не содержат холестерина.

## 2. Фармацевтические композиции.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению могут включать фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель. В композиции по настоящему изобретению можно использовать многие фармацевтически приемлемые носители. Обычно в качестве фармацевтически приемлемого носителя можно использовать физиологический раствор. Другие подходящие носители включают, например, воду, воду с буфером, 0,4% солевой раствор, 0,3% глицерин и т.п., включая гликопротеины для повышения стабильности, такие как альбумин, липопротеин, глобулин и т.п., данные композиции можно стерилизовать обычными, хорошо известными способами стерилизации. Полученные водные растворы могут быть упакованы для применения или профильтрованы в асептических условиях и лиофилизированы; лиофилизированный препарат объединяют со стерильным водным раствором перед введением. Композиции могут содержать фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, требующиеся для приближения к физиологическим условиям, такие как агенты, корrigирующие pH, и буферные агенты, агенты, корrigирующие тоничность, и т.п., например ацетат натрия, лактат натрия, хлорид натрия, фосфат натрия, хлорид калия, хлорид кальция и т.п.

Концентрация липосом может варьировать. В конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения концентрация липосом может варьировать приблизительно от 20 до 1000 мг/мл, предпочтительно от 50 до 300 мг/мл, более предпочтительно от 50 до 200 мг/мл и более предпочтительно от 100 до 200 мг/мл. В отдельных предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения концентрация липосом может варьировать приблизительно от 1 до 20 мг/мл, от 20 до 30 мг/мл, от 30 до 40 мг/мл, от 40 до 50 мг/мл, от 50 до 60 мг/мл, от 60 до 70 мг/мл, от 70 до 80 мг/мл, от 80 до 90 мг/мл, от 90 до 100 мг/мл, от 100 до 110 мг/мл, от 110 до 120 мг/мл, от 120 до 130 мг/мл, от 130 до 140 мг/мл, от 140 до 150 мг/мл, от 150 до 160 мг/мл, от 160 до 170 мг/мл, от 170 до 180 мг/мл, от 180 до 190 мг/мл или от 190 до 200 мг/мл. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения концентрации будут составлять приблизительно 50, 100, 150, 200, 250 или 300 мг/мл. Специалисты могут изменять указанные концентрации для оптимизации лечения различными липосомными компонентами или конкретных пациентов. Например, концентрацию можно повышать, чтобы снизить нагрузку жидкостью, связанную с лечением. Это может быть особенно желательным для пациентов, имеющих связанную с атеросклерозом застойную сердечную недостаточность или тяжелую гипертензию.

Альтернативно, липосомы, составленные из раздражающих липидов, можно разбавлять для уменьшения концентраций, чтобы уменьшить воспаление в месте введения.

Липосомы могут быть, необязательно, связаны с рядом белков и полипептидов для повышения скорости переноса холестерина или способности липосом нагружаться холестерином. Особенно полезным является связывание аполипопротеинов с липосомами. Используемый в настоящем документе термин «связанный с липосомами» или «связывание с липосомами» указывает, что рассматриваемое соединение ковалентно или нековалентно связано с поверхностью липосомы или содержитя, полностью или частично, во внутренней части липосомы. Аполипопротеин A<sub>I</sub>, аполипопротеин A<sub>II</sub> и аполипопротеин Е в обычных случаях будут наиболее полезными аполипопротеинами для связывания с липосомами. Указанные аполипопротеины способствуют переносу холестерина и сложных эфиров холестерина в печень для метаболизма. Фосфатидилхолинстеролацилтрансфераза также является пригодной для метаболизирования свободного холестерина в сложные эфиры холестерина. Липосомы в фармацевтических композициях по настоящему изобретению могут быть связаны с молекулами аполипопротеина A<sub>I</sub>, аполипопротеина A<sub>II</sub>, аполипопротеина Е и фосфатидилхолинстеролацилтрансферазы, по отдельности или в любой комбинации и молярном соотношении. Дополнительные белки или другие небелковые молекулы также могут быть пригодными для связывания с липосомами для повышения стабильности или полупериода существования липосом и т.п. Последние включают, например, холестерин, связанные с полиэтиленгликолем фосфолипиды и ганглиозиды, стеролы, алкилсульфаты, бромид аммония, альбумин и т.п.

В конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения фармацевтические композиции для применения по настоящему изобретению можно изготавливать обычным способом, с использованием одного или более физиологически приемлемых носителей, включая наполнители и вспомогательные вещества, которые облегчают обработку активных соединений с получением препаратов, которые можно использовать фармацевтически. В конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения указанные композиции включают стабилизаторы и/или антиоксиданты. Должным образом изготовленная композиция зависит от выбранного пути введения. Липосомы по настоящему изобретению могут быть в лиофилизированных формах, жидких формах или порошкообразных формах. В особых вариантах осуществления липосомы по настоящему изобретению находятся в порошкообразной форме, предпочтительно лиофилизированной форме, более предпочтительно в замороженной форме, и наиболее предпочтительно в жидкой форме.

Для особых вариантов осуществления липосомы по настоящему изобретению можно изготавливать в виде водных растворов для инъекций, предпочтительно, в физиологически совместимых буферах, таких как раствор Хенкса, раствор Рингера или физиологический раствор. Для чресслизистого введения в композиции используют агенты, способствующие проникновению, которые подходят для проникновения через выбранный барьер. Указанные агенты, способствующие проникновению, известны специалистам. В конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения местные или чрескожные композиции включают стабилизаторы и/или антиоксиданты.

В других вариантах осуществления настоящего изобретения соединения можно помещать в композиции, которые легко вводить перорально, путем комбинирования липосом с фармацевтически приемлемыми носителями, хорошо известными специалистам. Указанные носители делают возможным изготовление соединений по настоящему изобретению в виде таблеток, пилюль, драже, капсул, выталкивающих капсул, изготовленных из желатина, мягких или герметичных капсул, изготовленных из желатина и пластификатора, жидкостей, гелей, сиропов, взвесей, супспензий и т.п., для перорального введения пациенту, подвергаемому лечению. Помимо этого, можно добавлять стабилизаторы. Все композиции для перорального введения должны быть в дозировках, подходящих для указанного пути введения.

В особых вариантах осуществления настоящего изобретения, связанных с трансбукиральным введением, композиции могут иметь форму капель, таблеток или пастилок, изготовленных обычными способами. Липосомы можно изготавливать в форме композиций для парентерального введения путем инъекций, например, путем болюсных инъекций или непрерывной инфузии, как описано выше. В нескольких вариантах осуществления настоящего изобретения композиции можно вводить путем непрерывной инфузии внутривенно, внутримышечно или подкожно. Композиции для инъекций могут быть представлены в дозированных лекарственных формах, например в ампулах или в упаковках для многократного использования, с добавлением консерванта. Композиции могут быть в таких формах как супспензии, растворы или эмульсии в масляных или водных носителях и могут содержать вспомогательные агенты, такие как суспендирующие, стабилизирующие и/или диспергирующие агенты.

Кроме того, супспензии липосом можно изготавливать в виде подходящих масляных супспензий для инъекций. Водные супспензии для инъекций могут содержать вещества, которые повышают вязкость супспензии, такие как натрий-карбоксиметилцеллюлоза, глицерин, сорбит или декстран. Необязательно, супспензия может также содержать подходящие стабилизаторы или агенты, которые повышают растворимость липосом, что позволяет изготавливать высококонцентрированные растворы.

Альтернативно, активный ингредиент может быть в порошкообразной или лиофилизированной форме для объединения или повторного объединения с подходящим носителем, например стерильной апирогенной водой, перед использованием. Соединения также можно изготавливать в виде ректальных композиций, таких как суппозитории или удерживающие клизмы, например, содержащие обычные основы для суппозиториев, такие как масло какао или другие глицериды.

Помимо композиций, описанные выше липосомы также можно изготавливать в виде препарата депо. Указанные композиции длительного действия можно вводить путем имплантации (например, подкожно или внутримышечно) или путем внутримышечной инъекции. Так, например, соединения можно помещать в композиции с подходящими полимерами или гидрофобными материалами или ионообменными смолами или умеренно растворимыми производными.

Фармацевтические композиции также могут содержать подходящие твердые или гелеобразные носители или наполнители. Примеры указанных носителей или наполнителей включают, без ограничения, карбонат кальция, фосфат кальция, различные сахара, крахмалы, производные целлюлозы, желатин и полимеры, такие как полиэтиленгликоли.

3. Способы профилактики, лечения или ведения определенных заболеваний и других состояний организма с использованием липосом.

Описаны также способы профилактики, лечения или ведения ряда заболеваний и состояний организма, включая, без ограничения: артериосклероз, включая атеросклероз, флебосклероз или любое венозное состояние, при котором в интиме или внутренней оболочке вен образуются бляшки, содержащие холестерин или другой материал, острые коронарные синдромы, стенокардию, включая стабильную стенокардию и нестабильную стенокардию, воспаление или воспалительные заболевания, включая, без ограничения, воспаление сосудов и воспаление кожи, застойную сердечную недостаточность, ишемическую болезнь сердца (ИБС), гипертензию, коронарные желудочковые аритмии, наджелудочковые аритмии, заболевание периферических сосудов, смертельный инфаркт миокарда, несмертельный инфаркт миокарда, ишемию, включая сердечно-сосудистую ишемию, гибернацию миокарда, преходящие нарушения мозгового кровообращения, ишемию, не связанную с сердечно-сосудистым заболеванием, включая ишемически-реперфузионное повреждение, такое как повреждение в результате операции на бедре, операции на колене, трансплантация органов или чрескожная внутрипросветная ангиопластика (РТСА), коронарную реперфузию, рестеноз, periоперативные (PCI) ишемические явления, пониженную потребность в реваскуляризации, редуцированную область инфаркта, нарушения свертываемости крови, тромбоцитопению, тромбоз глубоких вен, панкреатит, неалкогольный стеатогепатит (NASH), диабетическую нейропатию, ретинопатию, болезненную диабетическую нейропатию, псориаз, критическую ишемию конечностей, хромоту, импотенцию, рак предстательной железы, гиперлипидемию, гиперлипопротеинемию, гипоальфалипопротеинемию, гипертриглицеридемию, любое стенотическое состояние, ведущее к ишемической патологии, диабет, включая диабет типа I и типа II, ихтиоз, инсульт, чувствительные тромбоциты, разрыв чувствительных тромбоцитов, болезнь Альцгеймера, язвы нижних конечностей, тяжелую коронарную ишемию, лимфомы, катаркты, эндотелиальную дисфункцию, ксантомы, дисфункцию концевого органа, сосудистое заболевание, сосудистое заболевание, являющееся результатом курения и диабета, заболевание сонных и коронарных артерий, регресс и сморщивание уже существующих бляшек, комбинации хирургических процедур, которые приводят к повреждению эндотелия, эндотелиальное повреждение в результате хирургических процедур, заболеваемость, связанную с сосудистым заболеванием, изъязвление в просвете артерий, рестеноз в результате баллонной ангиопластики и симптомы-предвестники вышеупомянутых состояний.

Композиции и способы по настоящему изобретению можно использовать для повышения уровней HDL, повышения низких уровней HDL, понижения уровней LDL, понижения высоких уровней LDL, временного повышения уровней LDL, понижения уровней триглицеридов, повышения или понижения уровня других липидов, повышения стабильности бляшек или понижения вероятности разрыва бляшек, повышения или понижения вазодилатации, лечения или профилактики воспаления, лечения или профилактики воспалительных заболеваний или воспалительного ответа, укрепления или стабилизации гладкой мускулатуры и сосудистой интимы, стимуляции оттока внеклеточного холестерина для транспортировки в печень, модулирования иммунных ответов, мобилизации холестерина из атеросклеротических бляшек и модификации любой мембранны, клетки, ткани, органа и внеклеточной области и/или структуры, в которых модификации состава и/или функции были бы благоприятными. Композиции и способы по настоящему изобретению также заключают в себе местное применение и заживление ран.

Способы обычно включают введение липосомной композиции млекопитающему, предпочтительно человеку, имеющему заболевание или состояние; липосомная композиция включает липосомы, имеющие средний диаметр более 100 нм, предпочтительно от 100 до 250 нм, предпочтительно от 100 до 140 нм и более предпочтительно от 110 до 120 нм. В особых вариантах осуществления настоящего изобретения липосомы, которые вводят субъектам, имеют средний диаметр от 100 до 110 нм, от 110 до 120 нм, от 120 до 130 нм, от 130 до 140 нм, от 140 до 150 нм, от 150 до 160 нм, от 160 до 170 нм, от 170 до 180 нм, от 180 до 190 нм или от 190 до 200 нм. В более предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения используемые липосомы представляют собой ETC-588 (патентованный продукт Esperion Therapeutics, Inc.), имеющие средний диаметр от 100 до 140 нм, предпочтительно от 110 до 120 нм, после изготовления.

Настоящие способы являются особенно подходящими для лечения атеросклеротических повреждений, а также перечисленных выше заболеваний и состояний организма, связанных с липидными нарушениями. В одном особом варианте осуществления способы по настоящему изобретению могут профилак-

тически ингибировать или предотвращать образование или экспансию атеросклеротических бляшек, уменьшать содержание холестерина в атеросклеротических бляшках и/или уменьшать объем атеросклеротических бляшек и, следовательно, степень любой обструкции просвета сосуда. Уменьшение объема бляшек будет обычно составлять по меньшей мере 5-30%, часто 50%, и, в некоторых случаях, 75% или более. Содержание холестерина обычно будет уменьшаться по меньшей мере на 10-30%, часто на 30-50%, и, в некоторых случаях, на 75-85% или более. Холестерин может быть мобилизован из бляшек как прямым оттоком в липосомы, так и в липопротеины, которые впоследствии переносят холестерин в липосомы. По мере переноса холестерина в липосомы из липопротеинов, липопротеины могут опять получать холестерин из бляшек. Обычно, когда холестерин получен из липопротеинов, он переносится из HDL.

Способы можно использовать для лечения атеросклероза, а также другого заболевания и состояний организма у ряда животных и в ряде кровеносных сосудов. Обычно животным будет человек, хотя приматы, не являющиеся человеком, собаки, кошки, грызуны, лошади, коровы и т.п. также могут лечиться способами по настоящему изобретению. Атеросклероз любого кровеносного сосуда, такого как аорта, сонные артерии (общая, внутренняя и наружная), коронарные артерии, брыжеечные артерии, почечные артерии, подвздошные артерии, подколенные артерии и т.п. можно лечить способами по настоящему изобретению. Подобно этому, флебосклероз или любое венозное состояние, при котором в интиме или внутренней оболочке вен образуются бляшки, содержащие холестерин или другой материал, можно лечить способами по настоящему изобретению. Люди, которых можно лечить, включают детей младшего дошкольного и школьного возраста, подростков, взрослых и пожилых людей, которых ранее не лечили или которых ранее лечили по поводу заболеваний, связанных с холестерином. Способы по настоящему изобретению также включают лечение пациентов до, во время и после оперативных вмешательств, а также пациентов, имеющих конкретные заболевания или состояния организма, описанные в настоящем документе, и/или другие заболевания и состояния, не описанные в настоящем документе. В особых вариантах осуществления настоящего изобретения способы включают введение липосомных композиций, описанных в настоящем документе, пациентам, страдающим артериосклерозом, включая атеросклероз, флебосклероз или любое венозное состояние, при котором в интиме или внутренней оболочке вен образуются бляшки, содержащие холестерин или другой материал, острые коронарные синдромы, стенокардию, включая стабильную стенокардию и нестабильную стенокардию, воспаление или воспалительные заболевания, включая, без ограничения, воспаление сосудов и воспаление кожи, застойную сердечную недостаточность, ишемическую болезнь сердца (ИБС), гипертензию, коронарные желудочковые аритмии, наджелудочковые аритмии, заболевание периферических сосудов, смертельный инфаркт миокарда, несмертельный инфаркт миокарда, ишемию, включая сердечно-сосудистую ишемию, гибернацию миокарда, преходящие нарушения мозгового кровообращения, ишемию, не связанную с сердечно-сосудистым заболеванием, включая ишемически-реперфузионное повреждение, такое как повреждение в результате операции на бедре, операции на колене, трансплантация органов или РТСА, коронарную реперфузию, рестеноз, периоперативные (PCI) ишемические явления, пониженную потребность в реваскуляризации, редуцированную область инфаркта, нарушения свертываемости крови, тромбоцитопению, тромбоз глубоких вен, панкреатит, неалкогольный стеатогепатит (NASH), диабетическую нейропатию, ретинопатию, болезненную диабетическую нейропатию, псориаз, критическую ишемию конечностей, хромоту, импотенцию, рак предстательной железы, гиперлипидемию, гиперлипопротеинемию, гипоальфалипопротеинемию, гипертриглицеридемию, любое стенотическое состояние, ведущее к ишемической патологии, диабет, включая диабет типа I и типа II, ихтиоз, инсульт, чувствительные тромбоциты, разрыв чувствительных тромбоцитов, болезнь Альцгеймера, язвы нижних конечностей, тяжелую коронарную ишемию, лимфомы, катаракты, эндотелиальную дисфункцию, ксантомы, дисфункцию концевого органа, сосудистое заболевание, сосудистое заболевание, являющееся результатом курения и диабета, заболевание сонных и коронарных артерий, регресс и сморщивание уже существующих бляшек, комбинации хирургических процедур, которые приводят к повреждению эндотелия, эндотелиальное повреждение в результате хирургических процедур, заболеваемость, связанную с сосудистым заболеванием, изъязвление в просвете артерий, рестеноз в результате баллонной ангиопластики и симптомы-предвестники вышеперечисленных состояний.

Липосомные композиции по настоящему изобретению также можно вводить пациентам для повышения уровней HDL, повышения низких уровней HDL, понижения уровней LDL, понижения высоких уровней LDL, временного повышения уровней LDL, понижения уровней триглицеридов, повышения или понижения уровня других липидов, повышения стабильности бляшек или понижения вероятности разрыва бляшек, повышения или понижения вазодилатации, лечения или профилактики воспаления, лечения или профилактики воспалительных заболеваний или воспалительного ответа, укрепления или стабилизации гладкой мускулатуры и сосудистой интимы, стимуляции оттока внеклеточного холестерина для транспортировки в печень, модулирования иммунных ответов, мобилизации холестерина из атеросклеротических бляшек и модификации любой мембранны, клетки, ткани, органа и внеклеточной области и/или структуры, в которых модификации состава и/или функции были бы благоприятными. Композиции и способы по настоящему изобретению также заключают в себе местное применение и заживление ран.

Способы по настоящему изобретению также являются пригодными для профилактического лече-

ния, особенно для предупреждения рецидива или осложнений у пациентов, выздоравливающих после инвазивных процедур на сосудах. Участки сосудов с поврежденным эндотелием подвергаются повышенному риску образования атеросклеротических бляшек. Таким образом, инвазивные процедуры на сосудах, такие как коронарная ангиопластика, обходное шунтирование сосудов и другие процедуры, повреждающие эндотелиальный слой сосудов, можно выполнять в сочетании со способами по настоящему изобретению. Поскольку инвазивные процедуры повреждают эндотелий, липосомы действуют путем удаления холестерина из поврежденного участка и ингибируют или предотвращают образование или экспансию бляшек во время заживления эндотелия.

Гиперлипидемии также можно лечить способами по настоящему изобретению. Введение липосом, по отдельности или связанными с аполипопротеином A<sub>I</sub> и аполипопротеином A<sub>II</sub>, аполипопротеином E, индивидуумам, имеющим гипоальфолипопротеинемию врожденного или приобретенного происхождения, наследственную комбинированную гиперлипидемию и наследственную гиперхолестеринемию, представляет собой полезное лечение.

Липосомы, которые вводят в способах по настоящему изобретению, будут составлены из липидов, как описано выше. Липиды будут обычно в жидкокристаллическом состоянии при 37°C. Липиды также будут обычно включать один или более фосфолипидов, в некоторых случаях, фосфатидилхолин или фосфатидилглицерин, хотя липосомы могут быть составлены из многих других липидов, примеры которых описаны выше.

Липосомы можно вводить многими путями. Например, композиции можно вводить перорально или парентерально. Обычно композиции будут вводить парентерально, предпочтительно, внутривенно, или введение может быть внутримышечным, подкожным, интраперитонеальным, интраартериальным, интракраниальным, через лимфатические сосуды, интраваскулярным. Введение может осуществляться через постоянный катетер или катетер, установленный непосредственно перед введением, через инфузию в вену помпой, через инфузию в вену шприцом или через инфузию в вену нагнетающим шприцом. В других вариантах осуществления настоящего изобретения введение может быть сублингвальным, трансбуккальным, чресслизистым, местным, ректальным, вагинальным или чрескожным. В особом варианте осуществления настоящего изобретения композиции по настоящему изобретению вводят местно для профилактики или лечения воспаления или в качестве вспомогательного средства для заживления ран. В предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения липосомы буду вводить внутривенно. Часто липосомы будут вводить в крупную центральную вену, такую как верхняя полая вена или нижняя полая вена, что позволяет вводить высококонцентрированные растворы в сосуды большого объема и кровотока. Липосомы можно вводить интраартериально до, во время или после процедур на сосудах, для доставки высокой концентрации непосредственно в пораженный сосуд. Липосомы может также вводить хирург местно, непосредственно в сосуды, во время открытого оперативного вмешательства. В некоторых случаях липосомы можно вводить перорально или чрескожным путем. Липосомы может также инкорпорировать в сосудистые стенты для продолжительного высвобождения после их установки. Это особенно эффективно для ангиопластического лечения рестеноза повреждений в коронарных артериях.

В особых вариантах осуществления липосомные композиции по настоящему изобретению можно вводить внутривенно, предпочтительно через инфузионный насос, со скоростью приблизительно 1-2 мл/мин, 2-3 мл/мин, 3-4 мл/мин, 4-5 мл/мин, 5-6 мл/мин, 6-7 мл/мин, 7-8 мл/мин, 8-9 мл/мин, 9-10 мл/мин, 10-11 мл/мин, 11-12 мл/мин, 12-13 мл/мин, 13-14 мл/мин, 14-15 мл/мин, 15-16 мл/мин, 16-17 мл/мин, 17-18 мл/мин, 18-19 мл/мин, 19-20 мл/мин, 20-30 мл/мин, 30-40 мл/мин, 40-50 мл/мин, 50-60 мл/мин, 60-70 мл/мин, 70-80 мл/мин, 80-90 мл/мин или 90-100 мл/мин; или с другой, заранее определенной скоростью введения. В особенно предпочтительном варианте осуществления липосомные композиции по настоящему изобретению вводят внутривенно через инфузионный насос, через шприцевой насос, IV капельное внутривенное вливание и/или быстрое капельное внутривенное вливание со скоростью приблизительно 10 мл/мин. В другом варианте осуществления липосомные композиции по настоящему изобретению можно вводить посредством аппарата для диализа или афереза.

В других конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения концентрация липосом для внутривенной инфузии или другой формы введения может составлять приблизительно 1-10 мг/мл, 10-20 мг/мл, 20-30 мг/мл, 30-40 мг/мл, 40-50 мг/мл, 50-60 мг/мл, 60-70 мг/мл, 70-80 мг/мл, 80-90 мг/мл, 90-100 мг/мл, 100-110 мг/мл, 110-120 мг/мл, 120-130 мг/мл, 130-140 мг/мл, 140-150 мг/мл, 150-160 мг/мл, 160-170 мг/мл, 170-180 мг/мл, 180-190 мг/мл, 190-200 мг/мл, 200-210 мг/мл, 210-220 мг/мл, 220-230 мг/мл, 230-240 мг/мл, 240-250 мг/мл, 250-260 мг/мл, 260-270 мг/мл, 270-280 мг/мл, 280-290 мг/мл, 290-300 мг/мл, 300-310 мг/мл, 310-320 мг/мл, 320-330 мг/мл, 330-340 мг/мл, 340-350 мг/мл, 350-360 мг/мл, 360-370 мг/мл, 370-380 мг/мл, 380-390 мг/мл или 390-400 мг/мл; или другая, заранее определенная концентрация. В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения концентрация липосом для внутривенной инфузии составляет приблизительно 200 мг/мл.

Способы по настоящему изобретению включают введение липосомных композиций по настоящему изобретению в терапевтических или профилактических целях животным, имеющим любое из упомянутых выше заболеваний или состояний организма или любое другое заболевание или состояние организма. Доза липосом может варьировать в зависимости от клинического состояния и размера субъекта или

пациента, получающего лечение. В конкретных вариантах осуществления настоящего изобретение охватывает дозы приблизительно от 20 до приблизительно 300 мг/кг, от 50 до приблизительно 200 мг/кг, и/или дозы, которые переносятся больными пациентами, являются эффективными для лечения и не имеют или уменьшают неблагоприятные эффекты.

В особых вариантах осуществления липосомы по настоящему изобретению вводят пациентам однократной или разделенными дозами от 50 до 300 мг/кг. В отдельных предпочтительных вариантах осуществления липосомы по настоящему изобретению пациентам однократной или разделенными дозами от 100 до 200 мг/кг и более предпочтительно от 150 до 200 мг/кг. В других более частных вариантах осуществления настоящего изобретения везикуловые частицы вводят пациентам однократной или разделенными дозами от 110 до 120 мг/кг, от 120 до 130 мг/кг, от 130 до 140 мг/кг, от 140 до 150 мг/кг, от 150 до 160 мг/кг, от 160 до 170 мг/кг, от 170 до 180 мг/кг, от 180 до 190 мг/кг или от 190 до 200 мг/кг. В других вариантах осуществления настоящего изобретения липосомы вводят пациентам в фиксированных дозовых количествах или 0-1 г, 1-2 г, 2-3 г, 3-4 г, 4-5 г, 5-6 г, 6-7 г, 7-8 г, 8-9 г, 9-10 г, 10-11 г, 11-12 г, 12-13 г, 13-14 г, 14-15 г, 15-16 г, 16-17 г, 17-18 г, 18-19 г или 19-20 г.

В конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения указанные дозовые количества (или другие дозовые количества липосом) вводят однократной или разделенными дозами с одним или более интервалов, составляющих 1 раз в день, через день, 1 раз в 3 дня, 1 раз в 4 дня, 1 раз в 5 дней, 1 раз в 6 дней, 1 раз в 7 дней, 1 раз в 8 дней, 1 раз в 9 дней, 1 раз в 10 дней, 1 раз в 11 дней, 1 раз в 12 дней, 1 раз в 13 дней, 1 раз в 14 дней, 1 раз в 2-3 недели, 1 раз в 3-4 недели, 1 раз в 4-5 недель, 1 раз в 5-6 недель, 1 раз в 6-7 недель, 1 раз в 7-8 недель, 1 раз в 2-3 месяца, 1 раз в 3-4 месяца, 1 раз в 4-5 месяцев, 1 раз в 5-6 месяцев, 1 раз в 6-7 месяцев, 1 раз в 7-8 месяцев, 1 раз в 8-9 месяцев, 1 раз в 9-10 месяцев, 1 раз в 10-11 месяцев, 1 раз в 11-12 месяцев, 1 раз в 1-2 года, 1 раз в 2-3 года, 1 раз в 3-4 года, 1 раз в 4-5 лет; или вводят иначе, с заранее определенными интервалами времени в течение заранее определенного периода лечения. В особенно предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения интервал времени между дозовыми количествами во время курса лечения составляет 1 раз в неделю.

Предпочтительные периоды лечения для курса терапии могут отстоять от времени, когда была введена первая доза, приблизительно на 1 день, 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней, 6 дней, 7 дней, 1-2 недели, 3-4 недели, 4-5 недель, 5-6 недель, 6-7 недель, 7-8 недель, 2-3 месяца, 3-4 месяца, 4-5 месяцев, 5-6 месяцев, 6-7 месяцев, 7-8 месяцев, 8-9 месяцев, 9-10 месяцев, 10-11 месяцев, 11-12 месяцев, 1-2 года, 2-3 года, 3-4 года и 4-5 лет.

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения курс терапии может представлять собой цикл или быть прерывистым, когда соединения и композиции по настоящему изобретению вводят субъектам в течение ограниченного периода времени или до тех пор, пока неблагоприятные события или побочные эффекты не послужат основанием для уменьшения дозы или прекращения лечения на определенный период времени (период отдыха). Уменьшение дозы, прекращение лечения или продолжительность периода отдыха можно определить по усмотрению лечащего врача. После указанного периода отдыха или после исчезновения указанных неблагоприятных событий или других побочных эффектов или по решению лечащего врача лечение можно возобновить, если это требуется.

Переносимость, безопасность и эффективность (включая, без ограничения, уровни холестерина, печеночные ферменты, уровни в крови специфических детерминант или маркеров и физиологические факторы) можно оценивать до, во время или после курса терапии и/или во время различных периодов в течение прерывистого или циклического курса терапии. В предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения физиологические факторы, сосудистые изменения, стабильность бляшек, стенки сосудов и другие маркеры мониторируют с использованием визуализирующих методик, включая, без ограничений, например, ядерно-магнитный резонанс (ЯМР), внутрисосудистый ультразвук и методики оценки кровотока. Кровяные маркеры можно мониторировать с использованием анализов крови, известных специалистам. Во время или после завершения указанного мониторинга схему лечения можно соответственно модифицировать [включая изменения дозовых количеств, размера или распределения липосом, скоростей введения, концентрации липосом, количества доз, времени между интервалами или продолжительности периода(периодов) лечения].

Помимо этого липосомы по настоящему изобретению вводят пациентам в комбинации с другими лекарственными средствами, препаратами или агентами, регулирующими липидный обмен. Например, липосомы по настоящему изобретению можно вводить одновременно с ингибиторами HMG-CoA редуктазы, фибратами, секвестрантами желчных кислот, никотиновой кислотой и другими антигиперлипидемическими агентами, противодиабетическими агентами и/или агентами, контролирующими сахар крови, противовоспалительными агентами, антигипертензивными агентами, антикоагулянтами, миметиками Аро-АИ и агентами, повышающими HDL, от Esperion Therapeutics Inc., другими сердечно-сосудистыми агентами, известными специалистам, и их комбинациями.

В одном особом варианте осуществления липосомы по настоящему изобретению вводят пациентам, страдающим диабетом, одновременно с другими противодиабетическими агентами и/или агентами, контролирующими сахар крови. В других особых вариантах осуществления липосомы вводят для профилактики, лечения или ведения пациента, страдающего воспалением, воспалительным заболеванием, или для

профилактики или уменьшения воспалительного ответа. В других конкретных вариантах осуществления липосомы по настоящему изобретению наносят местно на кожу для лечения кожного, подкожного или локализованного воспаления, или в качестве вспомогательного средства для заживления раны. В другом конкретном варианте осуществления липосомы по настоящему изобретению вводят для профилактики, ведения или лечения пациента, страдающего болезнью Альцгеймера. В другом конкретном варианте осуществления липосомы по настоящему изобретению вводят для профилактики, ведения или лечения пациента, страдающего атеросклерозом, флебосклерозом или флебосклероз или любым состоянием, при котором в интиме или внутренней оболочке кровеносных сосудов образуются бляшки, содержащие холестерин или другой материал. В другом конкретном варианте осуществления липосомы по настоящему изобретению вводят для профилактики, ведения или лечения пациента, страдающего ишемией, включая ишемию, не имеющую сердечно-сосудистого происхождения. В другом конкретном варианте осуществления липосомы по настоящему изобретению применяют для предварительного лечения пациентов до рекомендуемого оперативного вмешательства, которое может индуцировать ишемически-реперфузионное повреждение, такое как операции на бедре, операции на колене, трансплантация органов, РТСА.

В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения период лечения для курса терапии составляет не более 14 недель. В других особенно предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения липосомы вводят в дозах от 5 до 200 мг/кг с 4-7-дневными интервалами, всего 1-4, 1-8 или 1-14 доз на каждый курс терапии. В другом особом варианте осуществления настоящего изобретения липосомы вводят в дозах от 5 до 200 мг/кг 1 раз в неделю в течение приблизительно 4-16 недель, предпочтительно в течение приблизительно 10 недель (всего 10 курсов).

В одном конкретном варианте осуществления настоящего изобретения липосомы в концентрации 50-200 мг/мл, имеющие средний диаметр 50-250 нм ± 50%, предпочтительно 100-140 нм ± 50%, более предпочтительно 110-120 нм ± 50%, вводят пациенту, страдающему атеросклерозом, в отдельности или в комбинации с другими антисклеротическими агентами, в дозе 100 мг/кг и со скоростью 10 мл/мин или выше, каждые 7 дней, всего 10 доз.

В другом конкретном варианте осуществления настоящего изобретения липосомы в концентрации 50-200 мг/мл, имеющие средний диаметр 50-250 нм ± 50%, предпочтительно 100-140 нм ± 50%, более предпочтительно 110-120 нм ± 50%, вводят пациенту, страдающему атеросклерозом, в отдельности или в комбинации с другими антисклеротическими агентами, в дозе 150 мг/кг и со скоростью 10 мл/мин или выше, каждые 7 дней, всего 12 доз.

В другом конкретном варианте осуществления настоящего изобретения липосомы в концентрации 50-200 мг/мл, имеющие средний диаметр 50-250 нм ± 50%, предпочтительно 100-140 нм ± 50%, более предпочтительно 110-120 нм ± 50%, вводят пациенту, страдающему атеросклерозом, в отдельности или в комбинации с другими антисклеротическими агентами, в дозе 200 мг/кг и со скоростью 10 мл/мин или выше, каждые 7 дней, всего 14 доз.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения липосомы в концентрации 50-200 мг/мл, имеющие средний диаметр 50-250 нм ± 50%, предпочтительно 100-140 нм ± 50%, более предпочтительно 110-120 нм ± 50%, вводят пациенту, страдающему стенокардитической застойной сердечной недостаточностью, ишемической болезнью сердца, гипертензией или аритмиями, в отдельности или в комбинации с другими сердечно-сосудистыми агентами, в дозе 100 мг/кг и со скоростью 10 мл/мин или выше, каждые 7 дней, всего 10 доз.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения липосомы в концентрации 50-200 мг/мл, имеющие средний диаметр 50-250 нм ± 50%, предпочтительно 100-140 нм ± 50%, более предпочтительно 110-120 нм ± 50%, вводят пациенту, страдающему стенокардитической застойной сердечной недостаточностью, ишемической болезнью сердца, гипертензией или аритмиями, в отдельности или в комбинации с другими сердечно-сосудистыми агентами, в дозе 150 мг/кг и со скоростью 10 мл/мин или выше, каждые 7 дней, всего 12 доз.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения липосомы в концентрации 50-200 мг/мл, имеющие средний диаметр 50-250 нм ± 50%, предпочтительно 100-140 нм ± 50%, более предпочтительно 110-120 нм ± 50%, вводят пациенту, страдающему стенокардитической застойной сердечной недостаточностью, ишемической болезнью сердца, гипертензией или аритмиями, в отдельности или в комбинации с другими сердечно-сосудистыми агентами, в дозе 200 мг/кг и со скоростью 10 мл/мин или выше, каждые 7 дней, всего 14 доз.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения липосомы в концентрации 50-200 мг/мл, имеющие средний диаметр 50-250 нм ± 50%, предпочтительно 100-140 нм ± 50%, более предпочтительно 110-120 нм ± 50%, вводят пациенту, страдающему воспалением, в отдельности или в комбинации с другими противовоспалительными агентами, в дозе 100 мг/кг и со скоростью 10 мл/мин или выше, каждые 7 дней, всего 10 доз.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения липосомы в концентрации 50-200 мг/мл, имеющие средний диаметр 50-250 нм ± 50%, предпочтительно 100-140 нм ± 50%, более предпочт-



тролирующими сахар крови, и/или сердечно-сосудистыми агентами, в дозе 200 мг/кг и со скоростью 10 мл/мин или выше, каждые 7 дней, всего 14 доз.

Схемы введения также включают болюсные введения или непрерывное инфузционное лечение, которое может включать использование ударной дозы, за которой следует поддерживающая доза. В предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения дозы будут постоянными в течение всего курса лечения. В других предпочтительных вариантах осуществления настоящего изобретения дозы будут варьировать. В особых вариантах осуществления настоящего изобретения липосомные композиции будут вводить только один раз, а в другом варианте осуществления настоящего изобретения - серийно, множественными дозами, и в другом варианте осуществления настоящего изобретения - множественными дозами, не последовательно. Продолжительность, схема лечения и режимы введения могут изменяться способами, хорошо известными специалистам. Измерения в сыворотке крови общего свободного холестерина, общего эстерифицированного холестерина, холестерина HDL, холестерина LDL и холестерина VLDL можно использовать для оценки и модификации дозовых количеств и схем введения во время проведения лечения. По мере мобилизации холестерина из бляшек, общий сывороточный холестерин возрастает. Желательно, чтобы во время терапии общий сывороточный холестерин и холестерин HDL повышались, а эстерифицированный холестерин снижался (или изменялся минимально). Доза липосом для различных животных обычно будет приближаться к дозировке для человека, определенной с учетом массы тела. Пациенты, которых лечат указанными композициями и согласно указанным способам, могут быть любого возраста и могут иметь одно или более заболеваний или состояний организма, перечисленных выше, и/или других заболеваний и состояний.

### Примеры

Следующие примеры предлагаются только для иллюстрации, но не для ограничения.

Пример 1. Множественные дозы липосом ETC-588 у пациентов с атеросклерозом.

Проводили исследование с использованием множественных доз, в ходе которого оценивали эффекты множественных доз липосом ETC-588 (исследование ETC-588-003) у пациентов-людей с атеросклерозом. Липосомы ETC-588 (200 мг/мл) вводили внутривенной инфузией с использованием инфузионного насоса. ETC-588 в плазме крови оценивали как фосфолипид (PL). Группы по дозам были следующими: плацебо (7 или 14 доз), 50 мг/кг (14 доз), 100 мг/кг (7 доз) или 200 мг/кг (7 доз). Дозы вводили с 4-дневными интервалами (q4d) или 7-дневными интервалами (q7d). В исследовании принимали участие 42 пациента (мужчины: 36, женщины: 6), в возрасте от 44 до 76 лет (средний возраст составлял  $63 \pm 7$  лет). Средняя масса тела пациентов составляла  $87,7 \text{ кг} \pm 17,0 \text{ кг}$ , с размахом от 52,4 кг до 147,7 кг. Средние исходные уровни холестерина HDL у пациентов составляли  $36 \pm 4 \text{ мг/дл}$ , а средние исходные уровни общего холестерина у пациентов составляли  $182 \pm 36 \text{ мг/дл}$ . Кроме того, следующий процент составляли пациенты с сердечно-сосудистым анамнезом сердечно-сосудистого заболевания: ишемическая болезнь сердца: 98%, заболевание периферических артерий: 2%, обходное шунтирование коронарных артерий: 57%, стабильная стенокардия: 29% и нестабильная стенокардия: 19%.

Общий и неэстерифицированный холестерин (UC) и PL определяли стандартными автоматизированными способами.

Субъектов разделяли на экспериментальные группы в соответствии со схемой рандомизации. Безопасность и переносимость, лабораторные данные, показатели жизненно важных функций и неблагоприятные явления суммировали в каждый момент времени и для изменений между состоянием до введения и после введения с использованием описательной статистики. Фармакокинетические и фармакодинамические данные суммировали с использованием описательной статистики. Из 46 пациентов, которые принимали участие в исследовании, 36 действительно получали лекарственное средство, хотя 2 пациента были исключены из исследования до получения всех доз по причинам, не связанным с неблагоприятными событиями или побочными эффектами. Количество пациентов, которые сообщали о каких-либо неблагоприятных событиях (НС), составляло в сумме 26 (72%), а количество пациентов, которые сообщали о тяжелых неблагоприятных событиях (ТНС), составляло в сумме 5 (14%). Количество пациентов, включенных в анализ безопасности, составляло 36, в то время как 33 пациента были включены в фармакокинетический и фармакодинамический анализы (с неполными фармакокинетическими данными по 3 пациентам). Также изучали влияние ETC-588 на эндотелиальную функцию (сосудистую структуру), маркеры воспаления и ядерно-магнитный резонанс (ЯМР).

Результаты представлены на фиг. 2 и 3. Результаты показывают, что мобилизация холестерина наблюдалась при всех дозах ETC-588, с разной эффективностью. Следующие неблагоприятные события и тяжелые неблагоприятные события зафиксированы в каждой группе.

## Группа дозы

Категория неблагоприятного события (НС)	Плацебо (n=6)	50 мг/кг q7d (n=4)	50 мг/кг q4d (n=4)	100 мг/кг q7d (n=5)	100 мг/кг q4d (n=5)	200 мг/кг q7d (n=5)	200 мг/кг q4d (n=7)
<b>Любое НС</b>	4 (66,7%)	4 (100%)	2 (50,0%)	5 (100%)	3 (60,0%)	2 (40,0%)	6 (85,7%)
<b>Любое ТНС</b>	0	0	1 (25,0%)	0	1 (25,0%)	1 (20,0%)	2 (28,6%)
<b>Любое прекращенное лечение</b>	0	0	0	0	0	0	0

Наиболее часто встречавшиеся неблагоприятные события у пациентов, у которых наблюдалось неблагоприятное событие по меньшей мере 1 раз, суммированы ниже. Тяжелые неблагоприятные события (контрактура шейки мочевого пузыря, боль в груди, гипергликемия или обострение диабета) были расценены лечащим врачом как не связанные с введением ETC-588:

Неблагоприятное событие (общее количество случаев)	Плацебо N=6	50 мг/кг N=8	100 мг/кг N=10	200 мг/кг N=12
<b>Головная боль (23)</b>	2	1	5	4
<b>Головокружение (6)</b>	1	3	0	0
<b>Усталость (6)</b>	0	0	2	3
<b>Тошнота (5)</b>	0	2	0	1
<b>Повышение кровяного давления (4)</b>	0	2	1	0
<b>Боль в груди (3)</b>	0	1	1	0

В целом, результаты исследования ETC-588-003 предполагают, что липосомы ETC-588 мобилизуют холестерин дозозависимым образом, и что дозы 200 мг/кг или менее обычно являются безопасными и хорошо переносятся. Кроме того, как показано выше, семидневные интервалы между введениями доз, как представляется, являются оптимальными по сравнению с 4-дневными интервалами между введениями доз для липосом ETC-588, поскольку 7-дневные интервалы обеспечивают оптимальный клиренс фосфолипида и неэстерифицированного холестерина в сыворотке. Помимо этого, 7-дневные интервалы дозирования могут быть оптимальными по сравнению с 4-дневными интервалами, поскольку неблагоприятные события и тяжелые неблагоприятные события могут быть уменьшены или предотвращены.

Например, как показано в таблицах, выше, когда вводили 200 мг/кг с интервалами 7 дней, процент любых неблагоприятных событий составлял 40%, а любых тяжелых неблагоприятных событий составлял 20%. Напротив, когда вводили 200 мг/кг с интервалами 4 дня, процент любых неблагоприятных событий составлял 85,7%, а любых тяжелых неблагоприятных событий составлял 28,6%. Подобно этому, когда вводили 100 мг/кг с интервалами 7 дней, процент «любых тяжелых неблагоприятных событий» составлял 0%. Напротив, когда вводили 100 мг/кг с интервалами 4 дня, процент «любых тяжелых неблагоприятных событий» составлял 25%. Подобно этому, когда вводили 50 мг/кг с интервалами 7 дней, процент «любых тяжелых неблагоприятных событий» составлял 0%. Однако, когда вводили 50 мг/кг с интервалами 4 дня, процент «любых тяжелых неблагоприятных событий» составлял 25%.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение липосом, включающих фосфолипиды и водный слой; указанные липосомы имеют

средний диаметр приблизительно от 50 до 250 нм и помещаются в композиции для использования однократной или разделенными дозами от 50 до 300 мг/кг для производства лекарственного средства для предотвращения, лечения или ведения ряда заболеваний или состояний организма.

2. Применение по п.1, в котором липосомы вводят в дозе от 50 до 300 мг/кг с интервалом от 4 до 10 дней.

3. Применение по п.1 или 2, в котором липосомы имеют средний диаметр приблизительно от 50 до 150 нм, или в котором липосомы имеют средний диаметр приблизительно от 50 до 200 нм, или в котором липосомы имеют средний диаметр приблизительно от 100 до 200 нм, или в котором липосомы имеют средний диаметр приблизительно от 100 до 250 нм, или в котором липосомы имеют средний диаметр приблизительно от 150 до 200 нм, или в котором липосомы имеют средний диаметр приблизительно от 150 до 250 нм.

4. Применение по любому из пп.1-3, в котором липосомы вводят в комбинации с другими фосфолипидными везикулами, выбранными из группы, состоящей из многослойных везикул, больших однослоиных везикул, маленьких однослойных везикул и их смесей.

5. Применение по любому из пп.1-4, которое не вызывает значительного повышения или понижения уровней LDL у субъекта.

6. Применение по любому из пп.1-4, которое вызывает значительное повышение или понижение уровней LDL у субъекта.

7. Применение по любому из пп.1-6, в котором фосфолипид выбирают из группы, состоящей из яичного фосфатидилхолина, яичного фосфатидилглицерина, дистеароилфосфатидилхолина или дистеароилфосфатидилглицерина, фосфатидилхолина, фосфатидилглицерина, лецитина, бета, гликолипидов, гамма-дипальмитоил-альфа-лецитина, сингомиелина, фосфатидилсерина, фосфатидной кислоты, хлорида N-(2,3-ди(9-(Z)-октадеценилокси))-проп-1-ил-N,N,N- trimetilammonия, фосфатидилэтаноламина, лизолецитина, лизофосфатидилэтаноламина, фосфатидилинозита, цефалина, кардиолипина, цереброзидов, дицетилфосфата, диолеоилфосфатидилхолина, дипальмитоилфосфатидилхолина, дипальмитоилфосфатидилглицерина, диолеоилфосфатидилглицерина, пальмитоилолеоилфосфатидилхолина, дистеароилфосфатидилхолина, стеароилпальмитоилфосфатидилхолина, дипальмитоилфосфатидилэтаноламина, дистеароилфосфатидилэтаноламина, димиристоилфосфатидилсерина, диолеоилфосфатидилхолина, олеоилпальмитоилфосфатидилхолина, липида, который находится в жидкокристаллической фазе при 37°C, и их смесей.

8. Применение по любому из пп.1-6, в котором фосфолипид представляет собой пальмитоилолеоилфосфатидилхолин.

9. Применение по любому из пп.1-8, в котором заболевание или состояние организма выбрано из группы, состоящей из атеросклероза, флебосклероза или любого венозного состояния, при котором в интиме или внутренней оболочке вен образуются бляшки, содержащие холестерин или другой материал, острых коронарных синдромов, стенокардии, включая стабильную стенокардию, нестабильную стенокардию, воспаления, воспаления сосудов, воспаления кожи, застойной сердечной недостаточности, ишемической болезни сердца (ИБС), желудочных аритмий, заболевания периферических сосудов, инфаркта миокарда, начала смертельного инфаркта миокарда, несмертельного инфаркта миокарда, ишемии, сердечно-сосудистой ишемии, преходящих нарушений мозгового кровообращения, ишемии, не связанной с сердечно-сосудистым заболеванием, ишемически-реперфузионного повреждения, пониженной потребности в реваскуляризации, нарушений свертываемости крови, тромбоцитопении, тромбоза глубоких вен, панкреатита, неалкогольного стеатогепатита, диабетической нейропатии, ретинопатии, болезненной диабетической нейропатии, хромоты, псориаза, критической ишемии конечностей, импотенции, гиперлипидемии, гиперлипопротеинемии, гипоальфаипротеинемии, гипертриглицеридемии, любого стенотического состояния, ведущего к ишемической патологии, диабета, включая диабет типа I и типа II, ихтиоза, удара, чувствительных тромбоцитов, болезни Альцгеймера, язв нижних конечностей, тяжелой коронарной ишемии, лимфом, катаркт, эндотелиальной дисфункции, ксантом, дисфункции концевого органа, сосудистого заболевания, сосудистого заболевания, являющегося результатом курения и диабета, заболевания сонных и коронарных артерий, регресса и сморщивания уже существующих бляшек, нестабильных бляшек, слабой интимы сосудов, нестабильной интимы сосудов, повреждения эндотелия, эндотелиального повреждения в результате хирургических процедур, заболеваемости, связанной с сосудистым заболеванием, изъязвления в просвете артерий, рестеноза в результате баллонной ангиопластики и симптомов-предвестников вышеуперечисленных состояний.

10. Применение по любому из пп.1-9, в котором лечение укрепляет интиму сосудов, стимулирует отток внеклеточного холестерина для транспорта в печень, модулирует иммунные ответы, мобилизует холестерин из атеросклеротических бляшек, способствует заживлению ран, модифицирует любую мембрану, клетку, ткань, орган, внеклеточную область или структуру организма.

11. Применение по любому из пп.1-10, в котором липосомы вводят в комбинации или дополнительно связанными с соединениями, выбранными из группы, состоящей из пептидов, параоксоназы, липопротеинлипазы, Аро А-І и миметиков, вариантов А-І и их комбинаций.

12. Применение по любому из пп.1-11, в котором липосомы вводят в комбинации с малыми моле-

кулами или лекарственными средствами, которые влияют на уровни холестерина.

13. Применение по п.12, в котором малая молекула представляет собой статин, воссозданный HDL, малый HDL или синтетическую миметическую липопротеиновую частицу HDL.

14. Применение по любому из пп.1-13, в котором липосомы вводят в комбинации с одним или более сердечно-сосудистых агентов, противодиабетических агентов или других терапевтических веществ.

15. Применение по п.14, в котором сердечно-сосудистый агент выбран из группы, состоящей из малых молекул, статинов, аспирина, бета-блокаторов, включая клопидодрел, блокаторов кальциевых каналов, гепарина, включая низкомолекулярный гепарин, агентов, понижающих уровень глюкозы в крови, нитратов, ингибиторов Пб/Ша, ингибиторов АПФ, фибраторов и секвестрантов желчных кислот.

16. Применение по любому из пп.1-15, в котором липосомы вводят в дозе приблизительно 50 мг/кг приблизительно каждые 7 дней, или в котором липосомы вводят в дозе приблизительно 100 мг/кг приблизительно каждые 7 дней, или в котором липосомы вводят в дозе приблизительно 150 мг/кг приблизительно каждые 7 дней, или в котором липосомы вводят в дозе приблизительно 200 мг/кг приблизительно каждые 7 дней, или в котором липосомы вводят в дозе приблизительно 250 мг/кг приблизительно каждые 7 дней, или в котором липосомы вводят в дозе приблизительно 300 мг/кг приблизительно каждые 7 дней.

17. Применение по любому из пп.1-16, в котором липосомы вводят однократно.

18. Применение по любому из пп.1-16, в котором липосомы вводят дважды с 4-7-дневными интервалами, или в котором липосомы вводят 3 раза с 4-7-дневными интервалами, или в котором липосомы вводят 4 раза с 4-7-дневными интервалами, или в котором липосомы вводят 5 раз с 4-7-дневными интервалами, или в котором липосомы вводят 6 раз с 4-7-дневными интервалами, или в котором липосомы вводят 7 раз с 4-7-дневными интервалами, или в котором липосомы вводят 8 раз с 4-7-дневными интервалами, или в котором липосомы вводят 9 раз с 4-7-дневными интервалами, или в котором липосомы вводят 10 раз с 4-7-дневными интервалами, или в котором липосомы вводят 11 раз с 4-7-дневными интервалами, или в котором липосомы вводят 12 раз с 4-7-дневными интервалами, или в котором липосомы вводят 13 раз с 4-7-дневными интервалами, или в котором липосомы вводят 14 раз с 4-7-дневными интервалами.

19. Применение по любому из пп.1-16, в котором липосомы вводят 2-14 раз с недельными интервалами, или в котором липосомы вводят 2-14 раз с двухнедельными интервалами, или в котором липосомы вводят 2-14 раз с месячными интервалами, или в котором липосомы вводят 2-14 раз с 2-месячными интервалами, или в котором липосомы вводят 2-14 раз с 3-месячными интервалами, или в котором липосомы вводят 2-14 раз с 4-месячными интервалами, или в котором липосомы вводят 2-14 раз с 5-месячными интервалами, или в котором липосомы вводят 2-14 раз с 6-месячными интервалами, или в котором липосомы вводят 2-14 раз с 7-месячными интервалами, или в котором липосомы вводят 2-14 раз с 8-месячными интервалами, или в котором липосомы вводят 2-14 раз с 9-месячными интервалами, или в котором липосомы вводят 2-14 раз с 10-месячными интервалами, или в котором липосомы вводят 2-14 раз с 11-месячными интервалами, или в котором липосомы вводят 2-14 раз с 3-годичными интервалами, или в котором липосомы вводят 2-14 раз с 4-годичными интервалами.

20. Применение липосом, имеющих средний размер частиц от 50 до 250 нм, в дозе от 100 до 200 мг/кг, для производства лекарственного средства для снижения содержания холестерина в периферической ткани с одновременным снижением или исключением неблагоприятных эффектов, связанных с липосомной терапией.

21. Применение липосом в дозах от 100 до 200 мг/кг для производства лекарственного средства для введения однократной или множественными дозами каждые 7 или более дней для предупреждения или лечения заболевания или расстройства, связанного с патологическими уровнями холестерина.

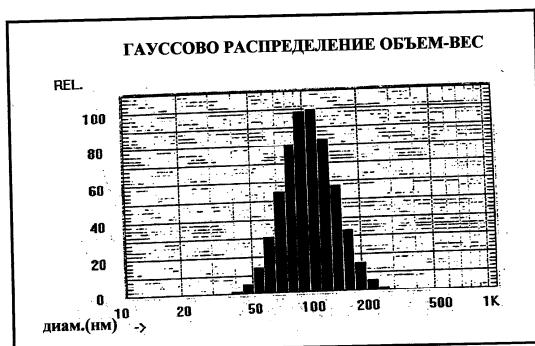
22. Применение по п.20, в котором введение осуществляют 1 раз каждые 7 дней.

23. Применение по п.20, в котором введение осуществляют от 6 до 14 раз.

24. Применение липосом, имеющих средний размер частиц от 50 до 250 нм, в дозе от 100 до 200 мг/кг, для производства лекарственного средства для введения каждые 4 или более дней для понижения уровней холестерина у больного человека.

25. Применение по п.23, дополнительно включающее введение указанных липосом в комбинации с одним или более сердечно-сосудистых агентов, противодиабетических агентов и/или агентов, контролирующий уровень сахара в крови, и/или других терапевтических агентов.

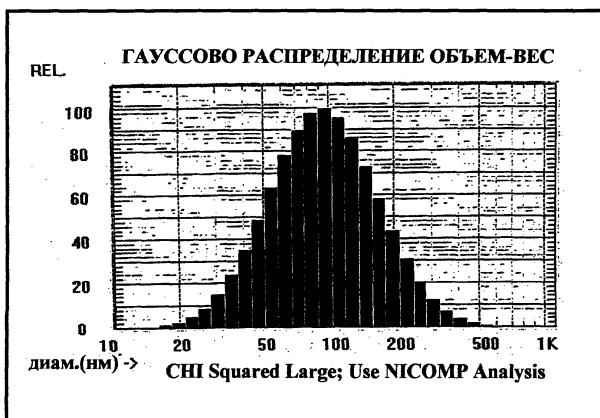
A



TECT.006  
Средний диам.(нм) x коэф.варианты = станд.откл. (нм)  
110,1 0,332 36,542

Фиг. 1A

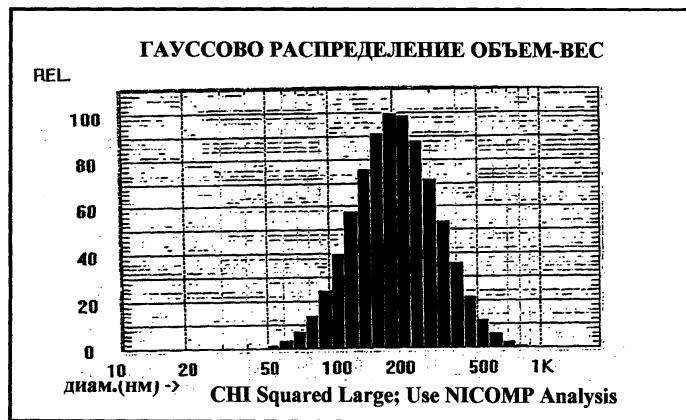
B



TECT.007

Средний диам.(нм) x коэф.варианты = станд.откл. (нм)  
110,8 0,580 64,254

Фиг. 1B



ТЕСТ.11

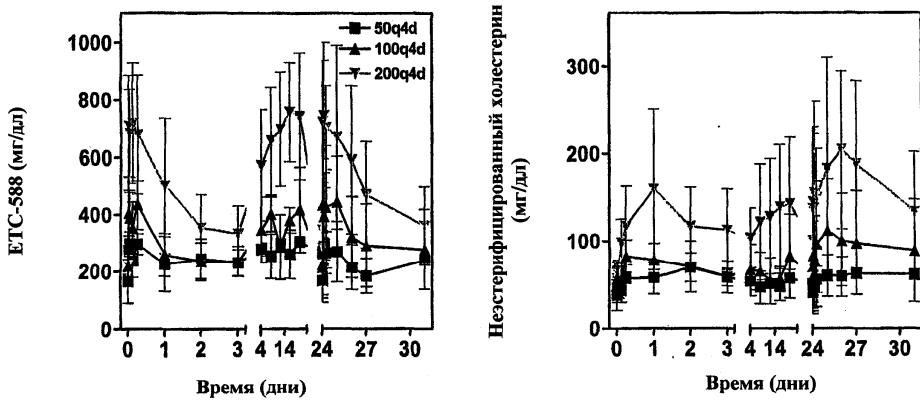
Средний диам.(нм) x коэф.варианты = станд.откл. (нм)

229,7

0,464

106,587

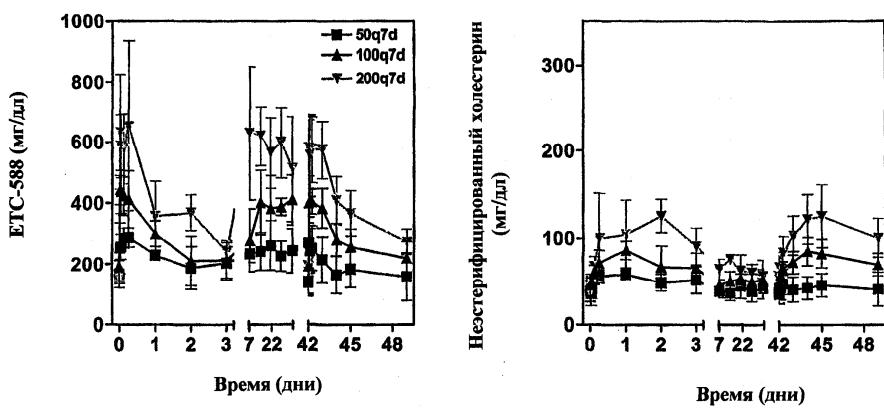
Фиг. 1С



Исходные величины фосфолипидов не вычитались из уровней ЕТС-588. Величины, показанные от 4-20 дня, представляют данные, собранные через 1 ч. после введения дозы.

ETC-588-003: Дозы вводили каждые 4 дня

Фиг. 2



Величины, показанные от 7-35 дня, представляют данные, собранные через 1 ч. после введения дозы. Частота введения доз раз в семь дней является оптимальной для клиренса между дозами.

ETC-588-003: Дозы вводили каждые 7 дней  
Фиг. 3

