



(19) REPUBLIKA HRVATSKA
DRŽAVNI ZAVOD ZA
INTELEKTUALNO VLASNIŠTVO



(10) Identifikator
dokumenta:

HR P20040915 A2

HR P20040915 A2

(12) PRIJAVA PATENTA

(51) Int. Cl.⁷: A 61 K 9/127
A 61 K 9/133

(21) Broj prijave u HR: P20040915A
(22) Datum podnošenja prijave patenta u HR: 05.10.2004.
(43) Datum objave prijave patenta u HR: 28.02.2005.
(86) Broj međunarodne prijave: PCT/US03/10339
Datum podnošenja međunarodne prijave 04.04.2003.
(87) Broj međunarodne objave: WO 03/086351
Datum međunarodne objave 23.10.2003.

(31) Broj prve prijave: 60/370,409 (32) Datum podnošenja prve prijave: 05.04.2002. (33) Država ili organizacija podnošenja prve prijave: US

(71) Podnositelj prijave: Esperion Luv Development, Inc., 3621 S. State Street, 695 KMS Place, Ann Arbor, 48108 MI, US
(72) Izumitelji: Wendi V. Rodriguez, 2148 Vail Court, Ann Arbor, 48108 MI, US
Charles L. Bisgaier, 3605 Tanglewood Drive, Ann Arbor, 48105 MI, US
(74) Punomoćnik: Hraste & Partneri odvjetničko društvo, Zagreb, HR

(54) Naziv izuma: **PRIPRAVCI I POSTUPCI ZA DOZIRANJE LIPOSOMA ODREĐENIH VELIČINA ZA LIJEČENJE I PREVENCIJU BOLESTI**

(57) Sažetak: Ovaj izum se odnosi na farmaceutske pripravke koji sadrže liposome i postupke uporabe takvih liposoma za sprječavanje, tretiranje ili kontroliranje brojnih bolesti i/ili tjelesnih stanja. Liposomi mogu sadržavati velike unilamelarne vezikule (LUV), same ili u kombinaciji sa multilamelarnim vezikulama (MLV), malim unilamelarnim vezikulama (SUV) ili drugim terapeutima. Izum se odnosi na liposome koji imaju određene promjere i koji se daju pacijentima u specifičnim dozama i/ili režimima doziranja.

HR P20040915 A2

OPIS IZUMA

Ova prijava zahtijeva prioritet od U.S. privremene prijave br. 60/370,409, podnesene 5. travnja 2002. i uključene u tekst referencom u cijelosti.

Područje izuma

Ovaj izum se odnosi na farmaceutske pripravke koji sadrže liposome i na postupke uporabe takvih liposoma za sprečavanje, tretiranje ili kontroliranje mnogih bolesti i/ili tjelesnih stanja. Liposomi mogu sadržavati velike unilamelarne vezikule (LUV), same ili u kombinaciji s multilamelarnim vezikulama (MLV), malim unilamelarnim vezikulama (SUV) ili drugim terapeutima. Izum se odnosi na liposome koji imaju određen promjer i daju se pacijentima uporabom određenih doza i/ili režima doziranja.

Pozadina izuma

Ateroskleroza je vodeći uzrok smrti u Sjedinjenim američkim državama. Ateroskleroza je stvaranje plakova u arterijskim stjenkama koje mogu začepiti lumen žile i spriječiti protok krvi kroz žilu. Plakovi mogu također prsnuti i dovesti do stvaranja trombova, čak i u krvnoj žili bez kritične stenoze te mogu dovesti do začepjenja krvnih žila te do sprečavanja krvnog toka. Postotak oboljenja i smrtnost se općenito javljaju kroz trajno oštećenje organa i disfunkciju organa koja je posljedica ishemijske. Najčešći oblici ishemijskog trajnog oštećenja organa su infarkt miokarda i cerebrovaskularne ozljede. Slabost ili smrt često su posljedica ovakvih vaskularnih pojava. Čak je i ishemijska povezana s aterosklerozom, koja ne šteti trajno miokardu ili koja vodi do manjeg oštećenja miokarda, odgovorna za znatan postotak oboljenja u obliku angine pektoris i kongestivnog zatajenja srca. Ostali organi, kao što su bubrezi, crijeva i ledna moždina, mogu biti oštećeni od aterosklerotskih začepjenja. Nadalje, kod bolesti kao što je aneurizma aorte, aterosklerotske arterije mogu uzrokovati kliničke simptome neovisne od trajne disfunkcije organa. Arteriosklerotične lezije su plakovi koji nastaju akumuliranjem kolesterola, kolesterolnih estera i fosfolipida, proliferacijom stanica glatkih mišića i diapedezom monocita, uključujući njihovu pretvorbu u makrofage i rahle stanice, u intimi glavnih arterija. Lipid doprinosi glavnim dijelom u volumenu plaka (općenito 30 do 65% suhe tvari). Small, ARTERIOSCLEROSIS, 8: 103-129 (1988). U stvari, rizik od razvijanja arterioskleroze je izravno povezan sa koncentracijom određenih oblika kolesterola u plazmi.

Ostale bolesti i stanja povezana s abnormalno visokim razinama lipida, uključuju akutne koronarne sindrome, stabilnu i nestabilnu anginu, upalu, vaskularnu upalu, dermalnu upalu, koronarnu bolest srca (CHD), ventrikularne aritmije, perifernu vaskularnu bolest, perifernu okluzivnu bolest, intermitentnu klaudikaciju, prolazne ishemijske napadaje, restenozu, smanjenu potrebu za revaskularizacijom, poremećaje koagulacije, ishemijsku, kardiovaskularnu ishemijsku, ishemijsku koja nije povezana s kardiovaskularnom bolešću kao što je ishemijsko-reperfuzijska ozljeda, trombocitopeniju, pankreatitis, nealkoholni steatohepatitis (NASH), dijabetičku neuropatiju, retinopatiju, bolnu dijabetičku neuropatiju, klaudikaciju, psorijazu, kritičnu ishemijsku udova, impotenciju, hiperlipidemiju, hiperlipoproteinemiju, hipoalfalipoproteinemiju, hipertrigliceridemiju, bilo koje stenotičko stanje koje vodi do ishemijske patologije, dijabetes, ihtiozu, moždani udar, osjetljive plakove, ulceraciju donjih udova, ozbiljnu koronarnu ishemijsku, limfom, katarakte, disfunkciju endotela, ksantom, vaskularnu bolest koja je posljedica pušenja i dijabetesa, bolest karotidne i koronarne arterije, kongestivno zatajenje srca, regresivne plakove, Alzheimerovu bolest, kombinacije operativnih postupaka koje rezultiraju ozljedama endotela, oštećenja endotela koje je posljedica operativnih postupaka, postotak oboljenja vezanih sa vaskularnim bolestima, ulceracije lumenu arterija, restenozu kao posljedicu balonske angioplastike i ostali simptomi prethodno opisanoga.

Lipidi, uključujući kolesterol, su općenito netopljivi u vodenoj plazmi. Lipide iz plazme prenose topljivi lipoproteinski kompleksi. Ti lipoproteinski kompleksi se sastoje od unutarnje jezgre nepolarnih lipida (kolesterolni esteri i trigliceridi) i površinskog sloja amfipatskih proteina i polarnih lipida (fosfolipidi i neesterificirani kolesterol). Razni proteini (apolipoproteini) su prisutni u površinskom omotaču raznih lipoproteinskih kompleksa (lipoproteini). Razni lipoproteini vrše razne funkcije u metabolizmu lipida.

Poznato je pet klasa lipoproteina. Neki lipoproteini prenose trigliceride i kolesterol od jetre do perifernih tkiva, dok drugi transportiraju lipide do jetre. Kolesterol se može metabolizirati u jetri do žučnih soli, koje se izlučuju, tako smanjujući ukupni tjelesni kolesterol. Dva lipoproteina, lipoprotein niske gustoće (LDL) i lipoprotein visoke gustoće (HDL) usko su vezana s razvojem ateroskleroze. LDL ima visoku koncentraciju kolesterola, dovodi lipide do stanica perifernih tkiva te je povezan s visokim rizikom od ateroskleroze. HDL također ima relativno visoku koncentraciju kolesterola, ali prenosi lipide do jetre zbog metaboliziranja do žučnih soli te je povezan s padom rizika od razvoja ateroskleroze.

Metabolizam kolesterola i homeostaza su posljedica složene ravnoteže između slobodnog sterola u stanici i u plazmi. Phillips i sur., BIOCHIM. BIOPHYS. ACTA, 906: 223-276 (1987). Dostava kolesterola do stanica se vrši LDL putem koji je

posredovan receptorom, selektivnim pohranjivanjem preko receptora za čišćenje B-I i pasivnom izmjenom sterola između plazmatskih membrana i lipoproteina. Samo tkiva koja proizvode steroidne hormone i žučne kiseline mogu metabolizirati kolesterol. S ciljem sprječavanja akumuliranja prekomjernog slobodnog sterola u ostalom perifernom tkivu, postoji reverzni transport kolesterola iz plazmatskih membrana u HDL i čestice nalik lipoproteinima. HDL transportira višak kolesterola u jetru, gdje može ponovo biti eksportiran u žuč, u obliku neesterificiranih kolesterola, procesiran u žučne soli za ekskreciju, esterificiran i pohranjen u jetri ili uključen u lipoproteine vrlo niske gustoće (VLDL), da ponovo uđe u zalihi lipoproteina.

Pasivna izmjena kolesterola između stanica i lipoproteina odvija se preko difuzije molekula sterola kroz vodeni prostor. Phillips i sur., gore citiran i Schroeder i sur., EXP. BIOL. MED., 196: 235-252 (1991). Neto stanični efluks se događa ako je kemijski potencijal slobodnog kolesterola niži u plazmi nego u stanicama, tako da sterol napušta membranu sljedeći svoj gradijent aktivnosti. Pod ovim uvjetima, pokazano je da stanice napunjene kolesterol-esterom, koje su morfološki karakteristične za rane aterosklerotske lezije, ne samo da otpuštaju kolesterol, nego i potiču hidrolizu estera, rezultirajući smanjenjem intracelularnih zaliha ovog lipida. Small, ARTERIOSCLEROSIS, 8: 103-129 (1988). Nadalje, kako je gore spomenuto, postoji epidemiološki dokaz da uvjeti za koje se očekuje da poboljšaju reverzibilni transport kolesterola (niske koncentracije kolesterola u plazmi ili povećane HDL koncentracije) su povezane sa smanjenim rizikom od preuranjene ateroskleroze i mogu dovesti do smanjenja plaka.

Karakteristično, plakovi su povezani sa ulceracijom intime krvne žile. Plakovi koji sadrže lipide se povećavaju unutar ulceracija, otpuštajući smrvljenu masu u lumen žile. Plakovi također mogu oštetiti i oslabiti glatke mišiće žile. Kako stvaranje plaka napreduje, tako je sve više centralnih područja plaka zaštićeno od cirkulacije. Jako stvaranje plaka također uzrokuje koncentrično ili ekscentrično sužavanje žila na mjestu plaka.

Danas, najučinkovitije liječenje ateroskleroze je prevencija. Dokazano je da nastajanje i akumuliranje lipida u lezijama može biti zaustavljeno, kada se koncentracije LDL u plazmi održavaju na normalnim razinama. Reynolds, Circulation, 79: 1146-1148 (1989). Suvremeno preventivno kontroliranje aterosklerotske bolesti je fokusirano na uporabu lijekova u vezi sa dijetnim ograničenjima, kako bi se regulirale razine kolesterola u plazmi. Nadalje, terapije sa antioksidansima, koje potiskuju stvaranje i pohranjivanje modificiranih LDL čestica u stanicama stijenke arterije, također su se pokazali korisnima. Chisolm, CLIN. CARDIOL., 14: 25-30 (1991). Ipak, dok hipokolesterolemijski lijekovi potiču poželjne promjene kolesterola u plazmi, koje očigledno usporavaju napredovanje ateroskleroze, općenito ne potiču stanja koja potiču efluks ili uklanjanje ateroma kolesterola. Jasno, s ciljem postizanja znatne regresije ateroma i smanjivanja začepjenja lumena, ovi lipidi, koji zauzimaju prostor, se moraju mobilizirati. Današnja saznanja upućuju na to da su procesi, koji stimuliraju efluks dodatnog kolesterola iz hepatičkih stanica i transportiraju ga u jetru zbog daljnje ekskrecije i reverznog transporta kolesterola (RCT), važni u prevenciji ateroskleroze. Gwynne, Clin. CARDIOL., 14: 17-24 (1991).

Suvremeni terapijski modaliteti ateroskleroze se općenito dijele na one koje se mogu kontrolirati kirurški i medicinski. Kirurška terapija može uključivati postupke vaskularne transplantacije, da se premoste područja začepjenja (npr. premosnica koronarne arterije), uklanjanje plakova koji začepljuju arterijske stijenke (npr. karotidna endarterektomija) ili perkutano razaranje plakova (npr. balonska angioplastika). Kirurške terapije imaju znatni rizik, a tretiraju samo izolirane lezije. Aterosklerotski plakovi, smješteni ispod tretirane lezije, mogu nastaviti ometati protok krvi. Kirurške terapije također ne ograničavaju daljnji razvoj ateroskleroze, a povezane su s kasnijim komplikacijama restenoze.

Medicinska terapija je usmjerena na smanjivanje ostalih faktora rizika povezanih uz vaskularnu bolest (npr. pušenje, dijabetes, hipertenzija), usmjerena je i na smanjivanje oblika serumskog kolesterola koji je povezan s razvojem ateroskleroze, kao što je i gore opisano. Dok medicinske terapije mogu usporiti daljnje napredovanje nastanka plaka, s druge strane, regresija tog istog plaka je vrlo rijetka. Stoga, simptomatična ateroskleroza često zahtijeva i kirurško i medicinsko liječenje.

Paradoksalno, intravenozna infuzija fosfolipida i liposoma je pokazala regresiju aterosklerotskog plaka, iako su razine lipida u serumu privremeno povećane. Williams i sur., PERSPECT. BIOL. MED., 27: 417-431 (1984). U nekim slučajevima, ipak, kolesterol, koji je povezan sa razvojem i napredovanjem ateroskleroze, može se povećati nakon davanja liposoma.

Prethodna istraživanja koja su istraživala mobilizaciju kolesterola *in vivo*, potaknutu fosfolipidom, su koristila multilamelarne ili sonizirane vezikule. Veličina liposoma je ključna karakteristika u kinetici klirensa te je jedan od nekoliko razloga zbog kojih se, od soniziranih vezikula, očekuje da predstavljaju dvoslojnu strukturu koja je najbolje prilagođena poticanju reverznog transporta kolesterola. Sonifikacija smanjuje multilamelarne vezikule (MLV) na mjehuriće "ograničene veličine". Ovi sustavi pokazuju minimalni radijus zakrivljenosti koji se može prilagoditi dvoslojnoj konfiguraciji bez problema. Na primjer, fosfatidilkolin iz jaja, minimalna veličina tog liposoma koja se može stvoriti, je obično promjera od 30 nm te je često klasificiran kao mala unilamelarna vezikula (SUV). Za određeni sastav liposoma, općenito se smatra da što je manji promjer čestice to je veći cirkulacijski polужivot. (Gregoriadis i Senior,

LIFE SCI., 113: 183-192 (1986)). Kao posljedica toga očekivalo se da će SUV, sastavljen od fosfatidilkolina, cirkulirati dulje od većih liposoma i stoga mobilizirati više kolesterola. Nadalje, ograničenja kod pakiranja, koja su zabilježena kod fosfolipida u SUV (s obzirom na njihov akutni radijus zakrivljenosti), povećavaju nestabilnost koja može rezultirati fuzijom, Hope i sur., CHEM. PHYS. LIPIDS, 40: 89-107 (1986), kao i povećanu tendenciju asimilacije sa lipoproteinima. Vidjeti npr. Scherphof i sur., BIOCHIM. BIOPHYS. ACTA, 542: 296-307 (1978) te Krupp i sur., BIOCHIM. BIOPHYS. ACTA, 72: 1251-1258 (1976). Stoga se očekivalo da SUV proizvede veći broj čestica nalik HDL tako potičući efluks sterola iz perifernog tkiva. Kao potpora ovoga očekivanja, liposomi s promjerima od 50- 80 nanometara su zabilježeni kao oni koji optimiziraju mobilizaciju sterola i smanjivanje plakova. Europska publikacija izuma br. 0461559 A2.

US izum br. 5,746,223 ("izum 223"), pod naslovom "Method of Forcing The Reverse Transport of Cholesterol From A Body Part While Avoiding Harmful Disruptions Of Hepatic Cholesterol Homeostasis", US izum br. 6,080,422 ("izum 422"), pod naslovom "Methods of Angioplasty and Cardiac Catheterization", i US izum br. 6,139,871 ("izum 871"), pod naslovom "Liposome Compositions And Methods For The Treatment of Artherosclerosis", od kojih je svaki uključen u tekst cjelovitom referencom, opisuju (između ostalog) uporabu LUV za poticanje reverznog transporta kolesterola iz perifernih tkiva, za tretiranje ateroskleroze te za uporabu u postupcima angioplastike.

Posebice, izumi "223" i "422" opisuju uporabu LUV-a sa promjerom do 1000 nanometara (veći liposomi mogu biti "manje učinkoviti") i zahtijevajući veće od oko 50, 80 ili 100 nm u promjeru, i opisujući u specifikacijama poželjan promjer od 120 nm u jednoj izvedbi. Doze davane u izumima "223" i "422" variraju od 10-1600 mg/kg u jednoj dozi. U određenim izvedbama doza je manja od 600 mg/kg dnevno, a u drugim određenim izvedbama doza je bolus od 300 mg/kg, davana zečevima kroz jedan, tri i pet dana.

Izum "871" opisuje uporabu LUV s promjerom od 100-150 nm s poželjnim promjerom od 125 nm. Izum "871" također opisuje primjenu LUV u rasponu od 100-150 mg/kg, "obično" od oko 200 do 750 mg/kg i "najuobičajenije" od oko 280 do 420 mg/kg u višestrukim tretmanima, "obično tjedno" oko 4-16 tjedana, "obično" oko 10 tjedana. U izumu "871" se navodi da koncentracija LUV u nosaču može varirati, ali će općenito koncentracija biti oko 20-200 mg/ml, obično oko 50-150 mg/ml, a najčešće oko 100 mg/ml.

Nedavno su provedena dva istraživanja uz uporabu ETC-588 (liposoma sačinjenog od 1-palmitoil, 2-oleoil fosfatidilkolina, produkta koji je vlasništvo Esperion Therapeutics, Inc.). ETC-588 odjeljuje kolesterol i ostale izmjenjive lipide iz vaskularnog i perifernog tkiva (proces poznat kao mobilizacija) što rezultira privremenim povećanjem kolesterola u serumu, koji se vraća na razine prije doziranja nakon što ETC-588 dostavi teret kolesterola do jetre za daljnje procesiranje ili ekskreciju. Mobilizacija i smanjivanje eksperimentalno izazvane ateroskleroze je pokazana u predkliničkim modelima uporabom liposoma veličine i sastava vrlo sličnog ETC-588. ETC-588 akutno povećava protok kolesterola u tijelu i potiče reverzne putove transporta lipida.

Prvim istraživanjem se procjenjivala sigurnost i tolerancija za ETC-588, kod zdravih dobrovoljaca, s pojedinačnim dozama od 20, 60, 150, 300 i 600 mg/kg ETC-588 liposoma. ETC-588 liposomi (200 mg/ml) su ubrizgani intravenozno brzinom od 10 ml u minuti, uporabom infuzijske pumpe. ETC-588 u plazmi je ispitivan kao fosfolipid (PL). Ukupni i neesterificirani kolesterol (UC) i PCL su ispitivani standardnim, automatiziranim postupcima. Subjekti su bili nasumično podijeljeni u skupine za tretiranje. Sigurnost i tolerancija, laboratorijski podaci, vitalni znakovi i nepovoljni događaji su sumirani za svaku vremensku točku te za promjene prije i poslije doziranja, uporabom deskriptivne statistike. Farmakokinetičke i farmakodinamičke mjere su sumirane uporabom deskriptivne statistike. Rezultati upućuju na to da, iako se mobilizacija kolesterola odvija u širokom rasponu doza, učinkovitost varira. Osim toga, sva tri od tri subjekta su imali povišene funkcije jetrenih proba kod 600 mg/kg, a jedna osoba je imala ozbiljan nepoželjni događaj, koji je uočen zbog povećane funkcije jetrenih enzima. Ostali nepoželjni događaji uključuju glavobolju, vrtoglavicu, mučninu i umor.

Drugo istraživanje se odnosilo na sigurnost i toleranciju za ETC-588, kod zdravih dobrovoljaca koji su primili ukupno četiri doze u intervalima od tri dana. Dane doze su bile 100, 150, 200, 250 i 300 mg/kg. ETC-588 liposomi (200 mg/ml) su ubrizgani intravenozno brzinom od 10 ml u minuti uporabom infuzijske pumpe. ETC-588 u plazmi je ispitivan kao fosfolipid (PL). Ukupni i neesterificirani kolesterol (UC) i PL su ispitivani standardnim, automatiziranim postupcima. Subjekti su bili nasumično podijeljeni u skupine za tretiranje. Sigurnost i tolerancija, laboratorijski podaci, vitalni znakovi i nepovoljni događaji su sumirani za svaku vremensku točku te za promjene prije doze i poslije doze, uporabom deskriptivne statistike. Farmakokinetičke i farmakodinamičke mjere su sumirane uporabom deskriptivne statistike. Rezultati upućuju na to da, iako se mobilizacija kolesterola odvija u širokom rasponu doza, učinkovitost varira. Osim toga, doziranje u intervalima od 3 dana, s ukupnim brojem od 4 doze, je izazvalo neželjeno akumuliranje ETC-588. Kao i u prvom istraživanju, drugi nepoželjni događaji uključivali su glavobolje, vrtoglavice, mučnine i umor. Nadalje, ova istraživanja doziranja su provedena samo na zdravim pacijentima, a ne na pacijentima sa bolešću ili ostalim nepoželjnim tjelesnim stanjima.

Stoga, postoji potreba za određivanjem sigurne, učinkovite i netoksične doze i režima doziranja kod bolesnih pacijenata, koji će spriječiti ili smanjiti nepoželjne nuspojave. Osim toga, postoji potreba za određivanjem optimalnijih režima doziranja uporabom liposoma optimalne veličine, da bi se liječili pacijenti koji pate od bolesti i/ili tjelesnih stanja opisanih u tekstu ili drugih bolesti ili stanja.

Bit izuma

Ovaj izum odnosi se na farmaceutske pripravke i postupke koji daju liposome koji sadrže LUV, same ili u kombinaciji sa MLV, SUV i/ili ostalim terapeutima, kako bi spriječili, tretirali ili kontrolirali razne bolesti i tjelesna stanja, uključujući, ali ne ograničavajući se na arteriosklerozu, koja uključuje aterosklerozu, flebosklerozu ili bilo koje drugo stanje vena u kojem plakovi, koje sadrže kolesterol ili drugi materijal, nastaju u intimi ili mediji vena, akutni koronarni sindrom, anginu, uključujući stabilnu i nestabilnu anginu, upalu ili upalne bolesti, uključujući, ali ne ograničavajući se na, vaskularnu upalu i dermalnu upalu, kongestivno zatajenje srca, koronarnu bolest srca (CHD), hipertenziju, koronarnu ventrikularnu aritmiju, suraventrikularnu aritmiju, perifernu vaskularnu bolest, fatalni infarkt miokarda, nefatalni infarkt miokarda, ishemiju, uključujući kardiovaskularnu ishemiju, hibernaciju miokarda, privremene ishemijske napadaje, ishemiju, koja nije povezana s kardiovaskularnom bolešću, uključujući ishemijsku reperfuzijsku ozljedu, kao što je ozljeda zbog operacije kuka, operacije koljena, transplantacije organa ili PTCA, koronarnu reperfuziju, restenozu, perioperativne (PCI) ishemične događaje, smanjenu potrebu za revaskularizacijom, smanjeno područje infarkta, poremećaje koagulacije, trombotičnost, trombozu dubokih vena, pankreatitis, nealkoholni steatohepatitis (NASH), dijabetičku neuropatiju, retinopatiju, dijabetičku neuropatiju, psorijazu, kritičnu ishemiju udova, klaudikaciju, impotenciju, rak prostate, hiperlipidemiju, hiperlipoproteinemiju, hipoalfolipoproteinemiju, hipertrigliceridemiju, bilo koje stenotičko stanje koje vodi do ishemične patologije, dijabetes uključujući i tip I i tip II, ihtiozu, moždani udar, bolne plakove, bolne rupture plaka, Alzheimerovu bolest, ulceraciju donjih udova, ozbiljnu koronarnu ishemiju, limfome, katarakte, disfunkcije endotela, ksantome, trajne disfunkcije organa, vaskularnu bolest, vaskularnu bolest koja je posljedica pušenja i dijabetesa, bolest karotidne i koronarne arterije, regresivni plak, kombinacije operativnih postupaka koje rezultiraju ozljedama endotela, oštećenja endotela kao posljedica operativnih postupaka, postotak oboljenja povezan s vaskularnom bolešću, ulceracije u lumenu arterije, restenoze, kao posljedica balonske angioplastike te ostali simptomi prethodno opisanoga.

Pripravci i postupci ovog izuma mogu se rabiti za povećanje razina HDL, povećanje niskih razina HDL, smanjivanje razina LDL, smanjivanje visokih razina LDL, privremeno povećanje razina LDL, smanjivanje razina triglicerida, povećanje ili smanjivanje razine drugih lipida, povećanje stabilnosti plaka ili smanjivanje vjerojatnosti rupture plaka, povećanje ili smanjivanje vazodilatacije, tretiranje ili sprečavanje upala, liječenje ili sprečavanje upalne bolesti ili upalnog odgovora, ojačavanje ili stabiliziranje glatkog mišića i intime krvnih žila, stimuliranje efluksa ekstracelularnog kolesterola za prijenos do jetre, moduliranje imunološkog odgovora, mobiliziranje kolesterola iz aterosklerotskih plakova i modifikiranje bilo koje membrane, stanice, tkiva, organa i ekstracelularnog područja i/ili strukture u kojoj bi modifikacije sastava i/ili funkcije bile poželjne. Pripravci i postupci ovog izuma također obuhvaćaju lokalnu primjenu i zacjeljivanje rana.

Izum obuhvaća režime doziranja, u kojima se određene doze liposoma, posebice liposoma sa određenim rasponom veličine čestica, daju u određenim vremenskim intervalima i u određenim dozama da se postigne smanjenje kolesterola i/ili tretiranje bolesti, uz istodobno smanjivanje ili sprečavanje nepovoljnih ili neželjenih učinaka. Stoga su postupci davanja liposoma, postupci smanjivanja ukupnog i LDL kolesterola davanjem liposoma, postupci podizanja razine ili smanjivanja učinkovitosti HDL kolesterola davanjem liposoma te postupci doziranja liposoma kod pacijenata kojima je to potrebno, detaljno opisani u tekstu.

Čestice vezikula (ili liposoma) optimiziraju efluks kolesterola iz aterosklerotskih plakova. Čestice vezikula mogu biti vezane na apolipoprotein, obično apolipoprotein AI ili AII i često sadrže barem jedan fosfolipid, kao što je fosfatidilkolin ili fosfatidilglicerol. Pripravci obično sadrže liposome i farmaceutske prihvatljivi nosač. U poželjnoj izvedbi liposomi su, prije davanja, bez kolesterola. Liposomi rabljeni u novim režimima doziranja mogu imati promjer bilo koje veličine. Osim toga, liposomi mogu imati prosječan promjer bilo koje veličine uz bilo koju standardnu devijaciju i distribuciju veličine.

U zasebnim i poželjnim izvedbama, liposomi imaju prosječan promjer od 50 do 250 nanometara (nm) uz bilo koju standardnu devijaciju ili distribuciju veličine. U zasebnim poželjnim izvedbama liposomi imaju prosječan promjer između 50 do 250 nm sa distribucijom od $\pm 50\%$, poželjno $\pm 40\%$. U zasebnim poželjnim izvedbama liposomi imaju prosječan promjer između 100 do 140 nm sa distribucijom od $\pm 50\%$, poželjno $\pm 40\%$. U zasebnim poželjnim izvedbama liposomi imaju prosječan promjer između 110 do 120 nm uz bilo koju standardnu devijaciju ili distribuciju veličine. U zasebnim poželjnim izvedbama liposomi imaju prosječan promjer između 100 do 120 nm sa distribucijom od $\pm 50\%$, poželjno $\pm 40\%$. U zasebnim i poželjnim izvedbama, liposomi imaju prosječan promjer od 100 i 200 nanometara (nm) uz bilo koju standardnu devijaciju ili distribuciju veličine. U određenim izvedbama liposomi imaju

prosječnu veličinu promjera između: 100 i 110 nm, 110 i 120 nm, 120 i 130 nm, 130 i 140 nm, 140 i 150 nm, 150 i 160 nm, 160 i 170 nm, 170 i 180 nm, 180 i 190 nm ili između 190 i 200 nm uz bilo koju standardnu devijaciju ili distribuciju veličine, poželjno je distribucija veličine između $\pm 40\%$ i $\pm 50\%$. U određenim izvedbama liposomi koji se rabe su ETC-588 (proizvod koji je vlasništvo Esperion Therapeutics, Inc.).

Također se u izumu navode i postupci tretiranja gore navedenih bolesti i tjelesnih stanja koji mogu biti rabljeni terapijski ili profilaktički. Postupci se općenito sastoje od davanja pripravaka ovog izuma sisavcima, poželjno ljudima, koji imaju jednu od gore spomenutih bolesti ili tjelesnih stanja. Često se pripravci daju serijski kroz duži vremenski period. Pripravci se mogu davati oralno ili peroralno. Općenito se pripravci daju parenteralno, poželjno intravenozno ili intramuskularno, supkutano, intraperitonealno, intratekalno, intraarterijski, limfnim sustavom, infuzijom, intravaskularno te trajnim kateterom ili privremenim kateterom pomoću šprice ili tiskanjem. U određenoj izvedbi, pripravci ovog izuma se daju lokalno za sprječavanje ili tretiranje upala ili kao pomoć pri zacjeljivanju rana.

Postupci ovog izuma obuhvaćaju davanje pacijentu, kojemu je to potrebno, liposoma u pojedinačnoj ili u višestrukim dozama između 20 mg/kg i 600 mg/kg, poželjno između 50 mg/kg i 600 mg/kg i više poželjno između 50 mg/kg i 300 mg/kg. U zasebnoj poželjnoj izvedbi liposomi se daju pacijentu, kojemu je to potrebno, u pojedinačnoj ili u višestrukim dozama između 100 mg/kg i 200 mg/kg, poželjno između 150 mg/kg i 200 mg/kg. U određenim izvedbama, čestice vezikula su davane u pojedinačnoj ili više doza između 110 mg/kg i 120 mg/kg, 120 mg/kg i 130 mg/kg, 130 mg/kg i 140 mg/kg, 140 mg/kg i 150 mg/kg, 150 mg/kg i 160 mg/kg, 160 mg/kg i 170 mg/kg, 170 mg/kg i 180 mg/kg, 180 mg/kg i 190 mg/kg ili između 190 mg/kg i 200 mg/kg pacijentu kojemu je to potrebno.

U posebnim izvedbama, čestice vezikula se daju u jednoj ili više doza, u jednom ili više intervala, koji variraju od jednom dnevno, jednom svaka 2 dana, jednom svaka 3 dana, jednom svaka 4 dana, jednom svakih 5 dana, jednom svakih 6 dana, jednom tjedno, jednom svaka 2 tjedna, jednom svaka 3 tjedna, jednom mjesečno, jednom svaka dva mjeseca, jednom svaka tri mjeseca, jednom svaka četiri mjeseca, jednom svakih pet mjeseci, jednom svakih 6 mjeseci, jednom svakih 7 mjeseci, jednom svakih 8 mjeseci, jednom svakih devet mjeseci, jednom svakih deset mjeseci, jednom svakih jedanaest mjeseci i jednom godišnje ili se daju na drugi način u određenim vremenskim intervalima tijekom određenog vremena trajanja liječenja. U poželjnoj izvedbi je vremenski interval između doza za vrijeme trajanja terapije jednom tjedno. Poželjna vremena trajanja liječenja tijekom terapije mogu biti u rasponu od 1 dana, 2 dana, 3 dana, 4 dana, 5 dana, 6 dana, jednog tjedna, dva tjedna, tri tjedna, četiri tjedna, pet tjedana, šest tjedana, sedam tjedana, osam tjedana, devet tjedana, deset tjedana, jedanaest tjedana, dvanaest tjedana, trinaest tjedana, četrnaest tjedana, četiri mjeseca, pet mjeseci, šest mjeseci, sedam mjeseci, osam mjeseci, devet mjeseci, deset mjeseci, jedanaest mjeseci, jedne godine, dvije godine, tri godine, četiri godine ili pet godina. U poželjnoj izvedbi vrijeme trajanja liječenja tijekom terapije nije dulje od 14 tjedana. U ostalim poželjnim izvedbama liposomi se daju u intervalima od 4-7 dana bilo sa 1-4, 1-8 ili 1-14 doza koje se daju sa svakim trajanjem terapije. Doziranje također uključuje tretiranje infuzijom koje može uključiti uporabu primarne doze nakon čega slijedi doza održavanja. Pacijenti koji su liječeni sa takvim pripravcima i u skladu sa takvim postupcima mogu biti bilo koje dobi i imati bilo jednu ili više bolesti ili tjelesnih stanja koja su gore navedena i/ili druge bolesti ili tjelesna stanja.

Kratak opis slika

- SLIKA 1A prikazuje distribuciju veličine u skupini velikih unilamelarnih liposoma koji nastaju ekstruzijom.
- SLIKA 1B prikazuje distribuciju veličine u skupini velikih unilamelarnih liposoma veličine otprilike 200 nm koji nastaju homogenizacijom.
- SLIKA 1C prikazuje distribuciju veličine u skupini ETC-588 liposoma koji nastaju ekstruzijom.
- SLIKA 2 prikazuje razine liposoma i neesterificiranog kolesterola nakon doziranja liposoma svakih 4 dana.
- SLIKA 3 prikazuje razine liposoma i neesterificiranog kolesterola nakon doziranja liposoma svakih 7 dana.

KORISNE DEFINICIJE

Kako se rabi u tekstu, "lijek" označava sintetički spoj koji je pogodan za terapijsku uporabu bez, s tim povezanih, vezanih nosača, pomoćnih sredstava ili kofaktora. "Lijek" ne uključuje prirodne ili endogene apolipoproteine, lecitin-kolin aciltransferazu ili albumin. Podrazumijeva se da "liposom", "vezikula" i "liposomska vezikula" upućuju na strukture koje imaju lipidne membrane koje obuhvaćaju vodeni središnji dio. Strukture mogu imati jednu ili više lipidnih membrana, osim ako nije drugačije naznačeno, iako se općenito za liposome u tekstu podrazumijeva da su „unilamelarni“. Izraz "LUV" se odnosi na velike unilamelarne vezikule, izraz "SUV" se odnosi na male unilamelarne vezikule, a izraz "MLV" se odnosi na multilamelarne vezikule. Kako se rabi u tekstu, izraz "tretiranje ateroskleroze" obuhvaća izvođenje terapijske intervencije koja rezultira u smanjenju kolesterola najmanje jednog kolesterolnog plaka ili profilaktičkoj inhibiciji ili sprječavanju stvaranja ili ekspanzije aterosklerotskog plaka.

Detaljan opis izuma

Ovaj izum je djelomično zasnovan na otkriću koje specifične doze i režimi doziranja, koji se rabe za dostavljanje liposoma, posebice liposoma specifične veličine, igraju kritičnu ulogu u optimiziranju uklanjanja kolesterola iz perifernih tkiva i/ili metabolizmu kolesterola uklonjenog iz aterosklerotskog plaka djelovanjem takvih liposoma. Novi postupci ovog izuma obuhvaćaju tretiranje ili sprječavanje bolesti ili simptoma bolesti istovremeno smanjujući ili izbjegavajući nepoželjne učinke tj. toksične nuspojave ili neželjene učinke. Osim toga, suprotno od prethodnih opisa liposomske terapije, izumitelji ovog izuma su otkrili da se liposomi mogu rabiti za sprečavanje, tretiranje ili kontroliranje raznih bolesti i tjelesnih stanja, osim ateroskleroze i ostalih simptoma prethodno opisanih za liposomsku terapiju.

U jednoj izvedbi izum obuhvaća postupak doziranja liposoma pacijentu, kojemu je to potrebno i koji se sastoji od davanja liposoma, s prosječnim promjerom od 100 nm, poželjno manjim od 250 nm, pacijentu s bolešću koja se može tretirati smanjivanjem kolesterola u pojedinačnim ili višestrukim dozama koje se daju svakih 4 do 7 dana od oko 100 mg/kg do oko 250 mg/kg, poželjno od oko 100 mg/kg do oko 200 mg/kg. Pacijenti koji će se tretirati, liposomi koji će se rabiti u ovom izumu i specifični načini doziranja su detaljno opisani u daljnjem tekstu.

1. Liposomi

Izumitelji ovog izuma su otkrili da su liposomi s prosječnim promjerom većim od 100 nm, poželjno u opsegu veličine od 100 nm do 140 nm, poželjnije od 110 nm do 120 nm, optimalni za uklanjanje kolesterola iz sustava. Općenito, izuzetno povoljno djelovanje liposoma većih od 100 nm u promjeru, se može objasniti mikroanatomijom jetre. Cirkulirajući u jetri, veliki liposomi (kako se rabi u tekstu, liposomi veći od 100 nm u promjeru) se mogu uglavnom ukloniti Kupfferovim stanicama koje oblažu sinusoidne otvore. Kupfferove stanice prenose kolesterol u hepatocite za daljnju ekskreciju u žuči ili za ponovno iskorištavanje. Mali liposomi (kako se rabi u tekstu, liposomi manji od 100 nm) mogu izravno doći do hepatocita bez (ili sa ograničenim) prethodnog procesiranja u Kupfferovim stanicama. Zbog fiksirane doze, može biti više malih liposoma nego većih čestica pa hepatociti mogu biti akutno izloženi relativno velikoj koncentraciji malih liposoma i njihovog akumuliranog kolesterola. Izumitelji ovog izuma su otkrili da su liposomi s promjerom između 100 nm i 140 nm, poželjno 110 nm i 120 nm, optimalni, stoga što se pročišćavaju u Kupfferovim stanicama te su učinkovitiji u mobiliziranju kolesterola od manjih ili većih liposoma.

Nadalje, zasebno od distribucije veličine liposoma, izumitelji su otkrili da su kod oboljelih pacijenata određene doze i načini doziranja sigurniji i učinkovitiji u tretiranju bolesti. Kod takvih postupaka i pripravaka koji se rabe u tim postupcima, mogu se rabiti liposomi bilo koje veličine ili liposomi prosječnog promjera, uz bilo koju standardnu devijaciju ili distribuciju veličine. Ipak, poželjno je da se u novim načinima doziranja ili poželjnim doziranjima rabe liposomi optimalne veličine.

U specifičnim izvedbama liposomi imaju prosječan promjer veći od 100 nm, neovisno o standardnoj devijaciji ili distribuciji veličine. U zasebnim poželjnim izvedbama, liposomi imaju prosječan promjer između 50-250 nanometara (nm) uz bilo koju standardnu devijaciju ili distribuciju veličine. U drugim poželjnim izvedbama, liposomi imaju prosječan promjer između 50-250 nm $\pm$ 40-50%. U drugim poželjnim izvedbama, liposomi imaju prosječan promjer između 100-140 nm uz bilo koju standardnu devijaciju ili distribuciju veličine. U drugim poželjnim izvedbama, liposomi imaju prosječan promjer između 100-140 nm $\pm$ 40-50%. U drugim poželjnim izvedbama, liposomi imaju prosječan promjer između 110-120 nm uz bilo koju standardnu devijaciju ili distribuciju veličine. U drugim poželjnim izvedbama, liposomi imaju prosječan promjer između 110-120 nm $\pm$ 40-50%. U zasebnim poželjnim izvedbama, liposomi imaju prosječan promjer između 100 i 200 nm uz bilo koju standardnu devijaciju ili distribuciju veličine. U pojedinim izvedbama, liposomi imaju prosječnu veličinu promjera između: 100 i 110 nm, 110 i 120 nm, 120 i 130 nm, 130 i 140 nm, 140 i 150 nm, 150 i 160 nm, 160 i 170 nm, 170 i 180 nm, 180 i 190 nm ili između 190 i 200 nm uz bilo koju standardnu devijaciju ili distribuciju veličine, poželjno je distribucija veličine između $\pm$ 40% i $\pm$ 50%. U poželjnoj zasebnoj izvedbi, liposomi koji se rabe su ETC-588 (proizvod koji je vlasništvo Esperion Therapeutics, Inc.) i koji imaju prosječan promjer između 100 nm i 140 nm $\pm$ 40-50%, nakon proizvodnje.

U izumu se također razmatra uporaba liposoma sa prosječnim promjerom većim od 50 nm, poželjno većim od 100 nm i manjim od 250 nm koji, kad se daju, povećavaju ili ne povećavaju koncentracije LDL u serumu. Izum također razmatra uporabu liposoma s prosječnim promjerom većim od 50 nm, poželjno većim od 100 nm i manjim od 250 nm koji, kad se daju, povećavaju ili ne povećavaju koncentracije LDL u serumu. U nekim slučajevima, liposomi ovog izuma će biti vezani, kombinirani i/ili davani u kombinaciji sa: (1) proteinima i peptidima koji su vezani sa liposomima, kao što su proteini koji vežu lipide, uključujući peptide, paraoksonazu, lipoprotein-lipazu, lecitin kolesterol acil transferazu, protein koji prenosi fosfolipide, ApoA-I i mimetike ili varijante ApoA-I; (2) malim akceptorima uključujući HDL, sintetičke i/ili rekombinantne HDL čestice, sintetičke i/ili rekombinantne HDL čestice napravljene sa apolipoproteinima ApoA-I ili ApoA-I mimeticima; (3) kardiovaskularnim agensima uključujući male molekule, statine, aspirin, klopidoogrel, beta-blokatore, sredstva za kontrolu glikemije i/ili antidijabetička sredstva, antihipertenzijska sredstva,

- heparin, nitrate, IIb/IIIa inhibitore, ACE inhibitore, beta-blokatore, fibrate, blokatore kalcijevih kanala i/ili sekvestrante; (4) te antidijabetičkom farmakoterapijom (i/ili farmakoterapijom za kontrolu glikemije) uključujući, ali ne ograničavajući se na, inzulin i oralne agense. Osim toga, veliki liposomi se mogu davati sami ili u kombinaciji sa multilamelarnim vezikulama i/ili malim unilamelarnim vezikulama. Primjeri proteina i peptida (kao što su proteini koji vežu lipide, ApoA-I te mimetici i varijante A-I) su opisani u U.S. izumima br. 6,004,925, 6,046,166, 6,037,323, 6,287,590, 6,329,341 i 6,265,377 koji su svi u tekstu navedeni cjelovitom referencom. Primjeri malih molekula koje smanjuju razine HDL, LDL ili kolesterola su opisane u U.S. prijavama izuma br. 09/540,740, 09/540,739 i 09/540,738 koje su sve u tekstu navedene cjelovitom referencom.
- Stručnjaci će cijeniti činjenicu da se liposomi u pripravicima ovog izuma mogu pripremiti raznim postupcima, kao što su oni opisani u U.S. izumima br. 4, 186, 183; 4, 217, 344; 4, 261, 975; 4, 485, 054; 4, 774, 085; 4, 946, 787; 5, 726, 157; 5, 746, 223; 5, 843, 474; 5, 448, 435; 5, 853, 402; 6, 080, 422; 6, 312, 719; 6, 139, 871, PCT publikacija br. WO 91/17424, Deamer i Bangham, *BIOCHIM. BIOPHYS. ACTA*, 443: 629-634 (1976); Fraley i sur., *PROC. NATL. ACAD. SCI. USA*, 76: 3348-3352 (1979); Hope i sur., *BIOCHIM. BIOPHYS. ACTA*, 812: 55-65 (1985); Mayer i sur., *BIOCHIM. BIOPHYS. ACTA*, 858: 161-168 (1986); i Williams i sur., *PROC. NATL. ACAD. SCI.*, 85: 242-246 (1988), od kojih je svaka navedena u tekstu cjelovitom referencom. Odgovarajući postupci uključuju, npr. sonikaciju, ekstruziju, visokotlačnu homogenizaciju, mikrofluidizaciju, dijalizu detergenta, fuzija malih liposomskih vezikula inducirana kalcijem te infuzijske postupke eterom, koji su svi dobro poznati u struci.
- Općenito, liposomi se najbolje izrađuju sonikacijom i ekstruzijskim postupcima. Ukratko, lipid se miješa sa fiziološkom slanom otopinom i puferom. U jednoj izvedbi, otopina lipida u kloroformu se centrifugira te se otapalo uklanja pod stalnom strujom N₂. Uzorak se suši pod velikim vakuumom. Dobiveni suhi lipidni sloj se ponovno vlaži u 150 mM NaCl i 20 mM [4-(2-hidroksietil)]-piperazin-etansulfonska kiselina (Hepes, pH 7,4). Ovako obično nastaju multilamelarne liposomske vezikule. Unilamelarne vezikule se pripremaju sonikacijom ili ekstruzijom.
- Sonikacija se obično provodi *tip* sonifikatorom, kao što je Branson *tip* sonifikator, u ledenoj kupki. Obično se suspenzija podvrgne nekoliko sonikacijskih ciklusa. Ekstruzija se može izvesti membranskim ekstruderima, kao što je Lipex biomembranski ekstruder. Definirana veličina pora u ekstruzijskim filterima može stvoriti unilamelarne liposomske vezikule određene veličine. Liposomi, također, mogu nastati ekstruzijom kroz asimetrični keramički filter, kao što je Ceraflow mikrofilter, koji je komercijalno dostupan od Norton Company, Worcester, Mass. ETC-588 liposomi (proizvod koji je vlasništvo Esperion Therapeutics tvrtke, koji se trenutno procjenjuje u kliničkim pokusima) je proizveden ekstruzijom. Ovaj postupak obuhvaća hidriranje 1-palmitoil-2-oleoil fosfatidilkolina (POPC) slanom otopinom sa fosfatnim puferom te propuštanje smjese kroz membranske filtere, dok se ne postigne prosječni promjer od oko 100 do 140 nm, poželjno dok se ne postigne promjer od 110 do 120 nm. Mogu biti izvedeni pojedinačni ili višestruki prolasci kroz membranske filtere. U jednoj određenoj izvedbi, može biti 2-10 prolaza, a poželjno 2-5 prolaza. Osim toga, membrane filtera mogu biti jednakih ili različitih veličina (tj. može postojati gradijent membrana). Dobiveni produkt se zove ECT-588. Primjeri pripreme liposoma određenih veličina ekstruzijom su opisani u U.S. prijavi izuma br. 60/326,032 koja je podnesena 28. rujna, 2001, koji je u cijelosti uključen u tekst putem reference.
- Ostali načini pripreme liposoma istog prosječnog promjera uključuju homogenizaciju ili mikrofluidizaciju, iako je distribucija čestica veća. Vidi sliku 1A, nasuprot slici 1B. Uporabom suvremene tehnologije, čestice s biološkim učinkom, proizvedene homogenizacijom ili mikrofluidizacijom se razlikuju od onih koje su pripravljene ekstruzijom. Brzina klirensa je nešto brža te je područje ispod krivulje mjerenja mobilizacije kolesterola te malo slabije upućuje na to da su ove čestice manje učinkovite od ekstrudiranih liposoma čak i kad se životinjama davala ekvivalentna doza na osnovi mg fosfolipida/kg.
- Veličina liposomskih vezikula može biti određena kvazielektričnim raspršivanjem svjetla (QELS) kako je opisano u Bloomfield, *ANN. REV. BIOPHYS. BIOENG.* 10: 421-450 (1981), koji je u cijelosti uključen u tekst putem reference. Prosječni promjer liposoma može biti smanjen sonikacijom formiranih liposoma. Isprekidani ciklusi sonikacije se mogu izmjenjivati sa QELS procjenom za provođenje učinkovite sinteze liposoma. Liposomi mogu biti napravljeni od raznih lipida. Općenito, liposomi će biti napravljeni od najmanje jednog fosfolipida, obično fosfatidilkolin jaja, fosfatidilglicerol jaja, diastearoilfosfatidilkolin ili diastearoilfosfatidilglicerol. Mnoge izvedbe ovog izuma će uključivati više od jednog fosfolipida.
- Drugi fosfolipidi pogodni za pripravu liposoma koji se mogu rabiti u pripravicima ili postupcima opisanima u tekstu, uključuju, ali nisu ograničeni na, fosfatidilkolin, fosfatidilglicerol, lecitin, beta, gama-dipalmitoil-alfa-lecitin, sfingomijelin, fosfatidilserin, fosfatidnu kiselinu, N-(2,3-di(9-(Z)-oktadeceniloksi))-prop-1-il-N,N,N-trimetilamonij klorid, fosfatidiletanolamin, lizolecitin, lizofosfatidiletanolamin, fosfatidilinozitol, cefalin, kardiolipin, cerebrozide, dicetilfosfat, dioleoilfosfatidilkolin, dipalmitoilfosfatidilkolin, dipalmitoilfosfatidilglicerol, dioleoilfosfatidilglicerol, palmitoil-oleoil-fosfatidilkolin, di-stearoil-fosfatidilkolin, stearoil-palmitoil-fosfatidilkolin, di-palmitoil-fosfatidiletanolamin, di-stearoil-fosfatidiletanolamin, di-mirstoil-fosfatidilserin, di-oleoil-fosfatidilkolin, oleoil-palmitoil fosfatidilkolin, palmitoiloleoil fosfatidilkolin, lipid koji je u fazi tekućeg kristala na 37°C, njihove smjese i slično. U

poželjnoj izvedbi liposomi su sastavljeni od palmitoiloleoil fosfatidilkolina. Lipidi koji ne sadrže fosfor mogu također biti rabljeni u liposomima u pripravcima ovog izuma. Ovi uključuju, npr. stearylamin, dodecilamin, acetil palmitat, amide masnih kiselina i slično. Drugi lipidi koji su pogodni za uporabu u liposomima ovog izuma su dobro poznati iskusnim stručnjacima te su citirani u brojnim, dobro poznatim, izvorima, npr. MCCUTCHEON'S DETERGENTS AND EMULSIFIERS i MCCUTCHEON'S FUNCTIONAL MATERIALS, Allured Publishing Co., Ridgewood, N. J. koja su u tekst navedena cjelovitom referencom.

Općenito, poželjno je da liposomi budu sastavljeni od lipida koji su u fazi tekućeg kristala pri 37°C, često pri 35°C, pa čak i pri 32°C. Liposomi koji su u stanju tekućeg kristala obično primaju kolesterol učinkovitije od liposoma u stanju gela. Kako pacijenti obično imaju temperaturu od oko 37°C, liposomi sastavljeni od lipida koji su u stanju tekućeg kristala pri 37°C su obično u stanju tekućeg kristala za vrijeme tretmana te, stoga, optimiziraju uklanjanje kolesterola iz plaka.

Poželjno su liposomi, koji se rabe u postupcima i pripravcima, bez kolesterola.

2. Farmaceutski pripravci

Farmaceutski pripravci ovog izuma mogu sadržavati farmaceutski prihvatljivi nosač ili diluens. Mnogi farmaceutski prihvatljivi nosači mogu biti uključeni u pripravcima ovog izuma. Općenito kao farmaceutski prihvatljivi nosač se koristi normalna slana otopina. Ostali pogodni nosači uključuju npr. vodu, puferiranu vodu, 0,4% slanu otopinu, 0,3% glicin i slično, uključujući glikoproteine za poboljšanu stabilnost, kao što je albumin, lipoprotein, globulin itd. Ovi pripravci mogu biti sterilizirani uobičajenim, dobro poznatim postupcima sterilizacije. Dobivena vodena otopina može biti pakirana za uporabu ili filtrirana u aseptičkim uvjetima te liofilizirana, s tim da se liofilizirani pripravak kombinira sa sterilnom vodenom otopinom prije davanja. Pripravci mogu sadržavati farmaceutski prihvatljive pomoćne tvari, potrebne za aproksimiranje fizioloških uvjeta, kao što su sredstva za prilagođavanje pH i puferiranje, sredstva za prilagođavanje tonusa i slično, na primjer natrij acetat, natrij laktat, natrij klorid, natrij fosfat, kalij klorid, kalcij klorid i sl.

Koncentracija liposoma može varirati. U određenim izvedbama koncentracija liposoma može varirati od oko 20 mg/ml do oko 1000 mg/ml, poželjno između 50-300 mg/ml, više poželjno između 50-200 mg/ml i više poželjno između 100-200 mg/ml. U drugim poželjnim izvedbama koncentracija liposoma može varirati od 1-20 mg/ml, 20-30 mg/ml, 30-40 mg/ml, 40-50 mg/ml, 50-60 mg/ml, 60-70 mg/ml, 70-80 mg/ml, 80-90 mg/ml, 90-100 mg/ml, 100-110 mg/ml, 110-120 mg/ml, 120-130 mg/ml, 130-140 mg/ml, 140-150 mg/ml, 150-160 mg/ml, 160-170 mg/ml, 170-180 mg/ml, 180-190 mg/ml ili 190-200 mg/ml. U određenim poželjnim izvedbama koncentracija će biti oko 50 mg/ml, 100 mg/ml, 150 mg/ml, 200 mg/ml, 250 mg/ml ili 300 mg/ml. Iskusi stručnjaci mogu varirati ove koncentracije radi optimiziranja tretmana s različitim liposomskim komponentama ili za pojedine pacijente. Na primjer, koncentracija može biti povećana da se smanji opterećenje fluida povezano sa tretmanom. Ovo može biti posebno poželjno kod pacijenata koji imaju kongestivno zatajenje srca ili ozbiljnu hipertenziju, povezano sa aterosklerozom. Alternativno, Liposomi sastavljeni od iritirajućih lipida mogu biti razrijeđeni do niskih koncentracija da se smanji upala na mjestu davanja.

Liposomi mogu optimalno biti vezani na brojne proteine i polipeptide da se poveća brzina prijenosa kolesterola ili kapacitet prijenosa kolesterola liposoma. Vezivanje apolipoproteina na liposome je posebno korisno. Kako se rabi u tekstu, "vezan uz liposome" ili "vezivanje na liposome" upućuje na to da je ciljani spoj kovalentno ili nekovalentno vezan na površinu liposoma ili je sadržan, u cijelosti ili djelomično, u unutrašnjosti liposoma. Apolipoprotein A_I, apolipoprotein A_{II} i apolipoprotein E će općenito biti najkorisniji apolipoproteini koji će se vezati na liposome. Ovi apolipoproteini promoviraju prijenos kolesterola ili kolesteril estera do jetre za metaboliziranje. Liposomi u farmaceutskim pripravcima ovog izuma mogu biti vezani na molekule apolipoproteina A_I, apolipoproteina A_{II} i apolipoproteina E i lecitin-kolin aciltransferazu pojedinačno ili u bilo kojoj kombinaciji i molarnom omjeru. Dodatni proteini ili ostale neproteinske molekule mogu, također, biti korisne za vezanje na liposome da se poboljša liposomska stabilnost ili poluživot i slično. Ovi uključuju npr. kolesterol, fosfolipide i gangliozide koji su vezani na polietilen glikol, sterole, alkilsulfate, amonij bromid, albumin i slično.

U posebnim izvedbama, farmaceutski pripravci za uporabu u skladu sa ovim izumom mogu biti formulirani na uobičajeni način uporabom jednog ili više fiziološki prihvatljivih nosača koji sadrže ekscipijense i pomoćna sredstva koji olakšavaju procesiranje aktivnih tvari u pripravke koji se mogu rabiti farmaceutski. U posebnim izvedbama takvi pripravci uključuju stabilizatore i/ili antioksidante. Odgovarajuća formulacija ovisi o izabranom načinu davanja. Liposomi ovog izuma mogu biti u liofiliziranim oblicima, tekućim oblicima, smrznutim oblicima ili praškastim oblicima. U određenim izvedbama liposomi ovog izuma su u praškastom obliku, poželjno liofiliziranim obliku, više poželjno u smrznutom obliku i najpoželjnije u tekućem obliku.

Za pojedine izvedbe, liposomi ovog izuma mogu biti formulirani u vodenim otopinama za injiciranje, poželjno u fiziološki kompatibilnim puferima kao što su Hankova otopina, Ringerova otopina ili fiziološki slani pufer. Za transmukozno davanje, u pripravku se rabe penetranti koji odgovaraju membrani koja će se penetrirati. Takvi penetranti

su općenito poznati u struci. U posebnim izvedbama lokalni ili transdermalni pripravci uključuju stabilizatore i/ili antioksidante.

U ostalim izvedbama spojevi mogu biti pripremljeni za oralno davanje kombiniranjem liposoma sa farmaceutski prihvatljivim nosačima dobro poznatima u struci. Takvi nosači omogućavaju spojevima izuma da budu pripremljeni u obliku tableta, pilula, dražeja, kapsula, *push-fit* kapsula napravljenih od želatine, mekih ili zatvorenih kapsula napravljenih od želatine i plastifikatora, tekućina, gelova, sirupa, gustih smjesa, suspenzija i sličnoga za oralno davanje pacijentu koji se tretira. Osim toga, mogu biti dodani stabilizatori. Svi pripravci za oralno davanje bi trebali biti u dozama koje odgovaraju takvom davanju.

U određenim izvedbama, koje se odnose na bukalno davanje, pripravci mogu biti u obliku kapljica, tableta ili pastila, pripremljenih na uobičajen način. Liposomi mogu biti pripremljeni za parenteralno davanje injekcijom tj. bolusnom injekcijom ili kontinuiranom infuzijom, kako je gore opisano. U nekoliko izvedbi spojevi mogu biti davani kontinuiranom infuzijom intravenozno, intramuskularno ili supkutano. Pripravci za injiciranje mogu biti predstavljeni u jedinstvenom obliku za doziranje tj. u ampulama ili spremnicima s višestrukim dozama uz dodani konzervansi. Pripravci mogu biti u oblicima suspenzija, otopina ili emulzija u uljnim ili vodenim nosačima te mogu sadržavati ostale sastojke kao što su sredstva za suspendiranje, stabiliziranje i/ili dispergiranje.

Osim toga, suspenzije liposoma mogu biti pripremljene kao odgovarajuće uljne suspenzije za injiciranje. Vodene suspenzije za injiciranje mogu sadržavati tvari koje povećavaju viskoznost suspenzije, kao što su natrij karboksimetil celuloza, glicerol, sorbitol ili dekstran. Prema izboru, suspenzija može također sadržavati odgovarajuće stabilizatore ili sredstva koja povećavaju topljivost liposoma da se omogući priprema jako koncentriranih otopina.

Alternativno, aktivni sastojak može biti u obliku praha ili u liofiliziranom obliku za nastajanje ili obnavljanje sa odgovarajućim nosačem tj. sterilnom vodom bez pirogena, prije uporabe. Spojevi mogu također biti pripremljeni u rektalnim pripravcima kao što su supozitoriji ili klistiri tj. koji sadrže uobičajenu supozitornu osnovu kao što je kakao maslac ili ostali gliceridi.

Uz prethodno opisane pripreme, liposomi mogu također biti pripremljeni kao otpuštajući pripravak. Takvi dugo aktivni pripravci mogu biti davani implantacijom (na primjer supkutano ili intramuskularno) ili intramuskularnom injekcijom. Stoga, na primjer, spojevi mogu biti pripremljeni s odgovarajućim polimernim ili hidrofobnim tvarima ili ion izmjenjivačkim smolama ili kao slabo topljivi derivati.

Farmaceutski pripravci također mogu sadržavati odgovarajuće topljive nosače ili ekscipijense krute ili gel faze. Primjeri takvih nosača ili ekscipijensa uključuju, ali nisu ograničeni na kalcij karbonat, kalcij fosfat, različite šećere, derivate celuloze, želatinu i polimere kao što je polietilen glikol.

3. Postupci sprječavanja, tretiranja ili kontroliranja određenih bolesti i ostalih tjelesnih stanja pomoću liposoma

Također su osigurani postupci sprječavanja, tretiranja ili upravljanja različitim bolestima i tjelesnim stanjima uključujući, ali ne ograničavajući se na: arteriosklerozu uključujući aterosklerozu, flebosklerozu ili bilo koje stanje vena u kojem naslage, koje sadrže kolesterol ili drugi materijal, nastaju u intima ili unutrašnjem dijelovima vena, akutne koronarne sindrome, anginu uključujući stabilnu i nestabilnu anginu, upalu ili upalne bolesti uključujući, ali ne ograničavajući se na vaskularnu upalu i dermalnu upalu, kongestivno zatajenje srca, koronarnu bolest srca (CHD), hipertenziju, koronarne ventrikularne aritmije, suraventrikularne aritmije, perifernu vaskularnu bolest, fatalni infarkt miokarda, nefatalni infarkt miokarda, ishemiju uključujući kardiovaskularnu ishemiju, hibernaciju miokarda, privremene ishemijske napadaje, ishemiju, koja nije povezana s kardiovaskularnom bolešću, uključujući ishemijsku reperfuzijsku ozljedu, kao što je ozljeda zbog operacije kuka, operacije koljena, transplantacije organa ili perkutane transluminalne koronarne angioplastike (PTCA), koronarnu reperfuziju, restenozu, perioperativne (PCI) ishemijske događaje, smanjenu potrebu za revaskularizacijom, smanjeno područje infarkta, poremećaje koagulacije, trombocitopeniju, trombozu dubokih vena, pankreatitis, nealkoholni steatohepatitis (NASH), dijabetičku neuropatiju, retinopatiju, bolnu dijabetičku neuropatiju, psorijazu, kritičnu ishemiju udova, klaudikaciju, impotenciju, rak prostate, hiperlipidemiju, hiperlipoproteinemiju, hipotalipoproteinemiju, hipertrigliceridemiju, bilo koje stenotičko stanje koje vodi do ishemične patologije, dijabetes uključujući i tip I i tip II, hipertenziju, moždani udar, bolni plakovi, bolne ruptуре plaka, Alzheimerovu bolest, ulceracije donjih udova, ozbiljnu koronarnu ishemiju, limfome, katarakte, disfunkcije endotela, ksantome, disfunkcije krajnjih organa, vaskularnu bolest, vaskularnu bolest koja je posljedica pušenja i dijabetesa, bolest karotidne i koronarne arterije, regresijski plakovi, kombinacije operativnih postupaka koje rezultiraju u ozljedama endotela, oštećenja endotela kao posljedica operativnih postupaka, postotak oboljenja povezan s vaskularnom bolešću, ulceracije u lumenu arterije, restenoze kao posljedica balonske angioplastike te simptome prethodno navedenoga.

Pripravci i postupci ovog izuma mogu biti rabljeni za povećanje HDL razina, povećanje niskih razina HDL, smanjivanje visokih razina LDL, privremeno povećanje razina LDL, smanjivanje razina triglicerida, povećanje ili smanjivanje razina

ostalih lipida, povećanje stabilnosti plaka ili smanjenje razina ostalih lipida, povećanje stabilnosti plaka ili smanjenje vjerojatnosti rupture plaka, povećanje ili smanjenje vazodilatacije, tretiranje ili sprječavanje upale, tretiranje ili sprječavanje upalne bolesti ili upalnog odgovora, pojačavanje ili stabiliziranje glatkih mišića i intime žila, stimuliranje efluksa ekstracelularnog kolesterola za prijenos do jetre, moduliranje imunih odgovora, mobiliziranje kolesterola iz aterosklerotskih plakova te modificiranje bilo kojih membrana, stanice, tkiva, organa i ekstracelularnog područja i/ili strukture u kojoj bi modifikacije sastava i/ili funkcije bile poželjne. Pripravci i postupci ovog izuma također obuhvaćaju lokalne primjene i zacjeljivanje rana.

Postupci se općenito sastoje od davanja pripravka liposoma sisavcu, poželjno čovjeku, koji je bolestan ili sa stanjem, u kojima pripravak liposoma sadrži liposome koji imaju prosječan promjer veći od 100 nm, poželjno između 100 i 250 nm, poželjno između 100 i 140 nm i više poželjno između 110 i 120 nm. U određenim izvedbama, liposomi koji se daju pacijentima, imaju prosječnu veličinu promjera između 100 i 110 nm, 110 i 120 nm, 120 i 130 nm, 130 i 140 nm, 140 i 150 nm, 150 i 160 nm, 160 i 170 nm, 170 i 180 nm, 180 i 190 nm te između 190 i 200 nm. U više poželjnoj izvedbi rabljeni liposomi su ETC-588 (proizvod koji je vlasništvo Esperion Therapeutics, Inc.) koji, nakon proizvodnje, imaju prosječan promjer između 100 nm i 140 nm, poželjno između 110 nm i 120 nm.

Ovi postupci su posebno korisni za tretiranje aterosklerotskih lezija kao i ostalih gore navedenih bolesti i tjelesnih stanja povezanih s poremećajima lipida. U jednoj određenoj izvedbi, postupci ovog izuma mogu profilaktički inhibirati ili spriječiti stvaranje ili širenje aterosklerotskih plakova, smanjiti sadržaj kolesterola u aterosklerotskim plakovima i/ili smanjiti volumen aterosklerotskih plakova pa tako i stupanj bilo kojeg začepljenja lumena žila. Smanjenje volumena plaka će općenito biti najmanje 5-30%, često i 50%, a u nekim slučajevima 70% i više. Sadržaj kolesterola će obično biti smanjen najmanje 10-30%, često 30-50%, a u nekim slučajevima 75-85% ili više. Kolesterol se može mobilizirati iz plakova, bilo izravnim efluksom u liposome ili u lipoproteine koji nakon toga prenose kolesterol u liposome. Kako se kolesterol prenosi u liposome iz lipoproteina, lipoproteini mogu primiti više kolesterola iz plaka. Općenito, kad se kolesterol primi iz lipoproteina, kolesterol se prenosi iz HDL.

Postupci mogu biti korisni za tretiranje ateroskleroze, kao i ostalih bolesti i tjelesnih stanja kod brojnih životinja i u brojnim krvnim žilama. Obično, životinja je čovjek, iako drugi primati, psi, mačke, glodavci, konji, krave i slično mogu biti tretirani postupcima ovog izuma. Ateroskleroza bilo koje krvne žile, kao što je aorta, karotidnih arterija (obične, interne i eksterne), koronarnih arterija, mezenteričnih arterija, renalnih arterija, ilijačnih arterija, poplitealnih arterija i slično, može biti tretirana postupcima ovog izuma. Slično, fleboskleroza ili bilo koje stanje vena tijekom kojeg u intimi ili mediji vena nastaju bilo koje naslage koje sadrže kolesterol ili drugi materijal mogu biti tretirane postupcima ovog izuma. Ljudi koji mogu biti tretirani su dojenčad, djeca, maloljetnici, odrasli i starije osobe koji nisu prethodno bili tretirani ili oni koji su prethodno bili tretirani za poremećaje povezane s kolesterolom. Postupci ovog izuma također uključuju tretiranje pacijenata prije, za vrijeme ili nakon operacije te onih sa posebnim bolestima ili tjelesnim stanjima opisanima u tekstu i/ili ostalim bolestima i stanjima koja nisu opisana u tekstu. U određenim izvedbama postupci uključuju davanje pripravaka liposoma opisanih u tekstu pacijentima koji pate od arterioskleroze uključujući ateroskleroza, fleboskleroza ili bilo koje stanje vena u kojima u intimi ili mediji vena nastaju plakovi koje sadrže kolesterol ili drugi materijal, akutne koronarne sindrome, anginu, uključujući stabilnu ili nestabilnu anginu, upalu ili upalne bolesti uključujući ali ne ograničavajući se na vaskularnu upalu i dermalnu upalu, kongestivno zatajenje srca, koronarnu bolest srca (CHD), hipertenziju, koronarne ventrikularne aritmije, suraventrikularne aritmije, perifernu vaskularnu bolest, fatalni infarkt miokarda, nefatalni infarkt miokarda, ishemiju uključujući kardiovaskularnu ishemiju, hibernaciju miokarda, privremene ishemijske napadaje, ishemiju koja nije povezana s kardiovaskularnom bolešću, uključujući ishemijsku reperfuzijsku ozljedu, kao što je ozljeda zbog operacije kuka, operacije koljena, transplantacije organa ili perkutane transluminalne koronarne angioplastike (PTCA), koronarnu reperfuziju, restenoza, perioperativne (PCI) ishemijske događaje, smanjenu potrebu za revaskularizacijom, smanjeno područje infarkta, poremećaje koagulacije, trombocitopeniju, trombozu dubokih vena, pankreatitis, nealkoholni steatohepatitis (NASH), dijabetičku neuropatiju, retinopatiju, bolnu dijabetičku neuropatiju, psorijazu, kritičnu ishemiju udova, klaudikaciju, impotenciju, rak prostate, hiperlipidemiju, hiperlipoproteinemiju, hipoalfalipoproteinemiju, hipertrigliceridemiju, bilo koje stenotičko stanje koje vodi do ishemične patologije, dijabetes uključujući i tip I i tip II, ihtiozu, moždani udar, bolne plakove, bolne rupture plaka, Alzheimerovu bolest, ulceraciju donjih udova, ozbiljna koronarna ishemija, limfome, katarakte, endotelne disfunkcije, ksantome, trajna disfunkcija organa, vaskularnu bolest, vaskularnu bolest koja je posljedica pušenja i dijabetesa, bolest karotidne i koronarne arterije, regresivne plakove, kombinacije operativnih postupaka koje rezultiraju u ozljedama endotela, oštećenja endotela kao posljedica operativnih postupaka, postotak oboljenja povezan sa vaskularnom bolešću, ulceracije u arterijskom lumenu, restenoze kao posljedica balonske angioplastike te simptomi prethodno opisanoga.

Pripravci liposoma ovog izuma mogu također biti davani pacijentima radi povećanja HDL razina, povećanja niskih razina HDL, smanjivanja visokih razina LDL, privremenog povećanja razina LDL, smanjivanja razina triglicerida, povećanja ili smanjivanja razina ostalih lipida, povećanja stabilnosti plaka ili smanjenja razina ostalih lipida, povećanja stabilnosti plaka ili smanjenja vjerojatnosti rupture plaka, povećanja ili smanjenja vazodilatacije, tretiranja ili sprječavanja upale, tretiranja ili sprječavanja upalne bolesti ili upalnog odgovora, pojačavanja ili stabiliziranja glatkih

mišića i intime žila, stimuliranja cfluksa ekstracelularnog kolesterola za prijenos do jetre, moduliranja imunih odgovora, mobiliziranja kolesterola iz aterosklerotskih plakova te modificiranja bilo kojih membrana, stanice, tkiva, organa i ekstracelularnog područja i/ili strukture u kojoj bi modifikacije sastava i/ili funkcije bile poželjne. Pripravci i postupci ovog izuma također obuhvaćaju lokalne primjene i zacjeljivanje rana.

Postupci ovog izuma su također korisni za profilaktičke tretmane, posebno za sprječavanje povratka bolesti ili komplikacija u pacijenata koji se oporavljaju od invazivnih vaskularnih procedura. Vaskularna područja s oštećenim endotelom imaju povećani rizik za razvijanje aterosklerotske naslage. Stoga, invazivni vaskularni postupci, kao što je koronarna angioplastika, transplantacija vaskularne prenosnice i ostali postupci koji oštećuju vaskularni sloj endotela, mogu biti prakticirani zajedno sa postupcima ovog izuma. Kako invazivni postupci oštećuju endotel, liposomi djeluju tako da uklanjaju kolesterol iz oštećenog područja i inhibiraju ili sprečavaju nastajanje ili širenje naslaga tijekom zacjeljivanja endotela.

Hiperlipidemije mogu također biti tretirane postupcima ovog izuma. Davanje liposoma, samih ili vezanih na apolipoprotein AI i apolipoprotein AII te apolipoprotein E pojedincima koji boluju od hipoalfalipoproteinemije zbog genetskih ili drugih razloga, poznate kombinirane hiperlipidemije i poznate hiperkolesterolemije je koristan tretman.

Liposomi dani u postupcima ovog izuma će biti sastavljeni od lipida kako je gore opisano. Lipidi će općenito biti u stanju tekućeg kristala pri 37°C. Lipidi će općenito uključivati jedan ili više fosfolipida, u nekim slučajevima fosfatidilkolin ili fosfatidilglicerol, iako liposomi mogu biti sastavljeni od mnogih drugih lipida, primjeri kojih su gore opisani.

Liposomi mogu biti davani na mnoge načine. Na primjer pripravci mogu biti davani oralno ili parenteralno. Općenito, pripravci će biti davani parenteralno, poželjno intravenozno ili davanje može biti intramuskularno, supkutano, intraperitonealno, intraarterijski, intratekalno, putem limfnog sustava, intravaskularno. Davanje se može obaviti trajnim kateterom ili privremenim kateterom, putem venozne infuzije pomoću pumpe, venoznom infuzijom sa špricom ili venoznom infuzijom sa davanjem putem šprice. U drugim izvedbama davanje može biti sublingvalno, bukalno, mukozno, lokalno, rektalno, vaginalno ili transdermalno. U određenoj izvedbi pripravci ovog izuma se daju lokalno za sprječavanje ili tretiranje upale ili u pomaganju zacjeljivanja rana. U poželjnim izvedbama liposomi će se davati intravenozno. Često će se liposomi davati u veliku središnju venu, kao što je gornja šuplja vena ili donja šuplja vena, da se omogući davanje visoko koncentriranih otopina u žile velikog volumena i protoka. Liposomi se mogu davati intraarterijski prije, za vrijeme ili nakon vaskularnih postupaka da se visoka koncentracija dovede izravno do oštećene žile. Liposomi se također mogu davati izravno u žile na lokalni način, kirurški ili putem otvorenih postupaka. U nekim slučajevima liposomi se mogu dati oralno ili transdermalno. Liposomi mogu također biti uključeni u vaskularne stentove za dugotrajno otpuštanje nakon uspostavljanja. Ovo je posebno učinkovito za tretiranje restenoza lezija u koronarnim arterijama angioplastikom.

U određenim izvedbama, pripravci liposoma ovog izuma mogu biti davani intravenozno, poželjno putem infuzijske pumpe brzinom od oko: 1-2 ml/min, 2-3 ml/min, 3-4 ml/min, 4-5 ml/min, 5-6 ml/min, 6-7 ml/min, 7-8 ml/min, 8-9 ml/min, 9-10 ml/min, 10-11 ml/min, 11-12 ml/min, 12-13 ml/min, 13-14 ml/min, 14-15 ml/min, 15-16 ml/min, 16-17 ml/min, 17-18 ml/min, 18-19 ml/min, 19-20 ml/min, 20-30 ml/min, 30-40 ml/min, 40-50 ml/min, 50-60 ml/min, 60-70 ml/min, 70-80 ml/min, 80-90 ml/min ili 90-100 ml/min; ili nekom drugom određenom brzinom davanja. U posebno poželjnom načinu davanja pripravci liposoma ovog izuma se daju intravenozno putem infuzijske pumpe, pumpom sa štrealjkom, intravenoznim dripom i/ili brzim dripom brzinom od oko 10 ml/min. U drugoj izvedbi pripravci liposoma ovog izuma se mogu davati dijalizom ili aparatom za aferezu.

U drugim određenim izvedbama, koncentracija liposoma za intravenoznu infuziju ili drugi oblik davanja može biti od oko: 1-10 mg/ml, 10-20 mg/ml, 20-30 mg/ml, 30-40 mg/ml, 40-50 mg/ml, 50-60 mg/ml, 60-70 mg/ml, 70-80 mg/ml, 80-90 mg/ml, 90-100 mg/ml, 100-110 mg/ml, 110-120 mg/ml, 120-130 mg/ml, 130-140 mg/ml, 140-150 mg/ml, 150-160 mg/ml, 160-170 mg/ml, 170-180 mg/ml, 180-190 mg/ml, 190-200 mg/ml, 200-210 mg/ml, 210-220 mg/ml, 220-230 mg/ml, 230-240 mg/ml, 240-250 mg/ml, 250-260 mg/ml, 260-270 mg/ml, 270-280 mg/ml, 280-290 mg/ml, 290-300 mg/ml, 300-310 mg/ml, 310-320 mg/ml, 320-330 mg/ml, 330-340 mg/ml, 340-350 mg/ml, 350-360 mg/ml, 360-370 mg/ml, 370-380 mg/ml, 380-390 mg/ml ili 390-400 mg/ml; ili drugim prethodno određenim koncentracijama. U poželjnoj izvedbi koncentracija liposoma za intravenozno davanje je oko 200 mg/ml.

Postupci ovog izuma uključuju davanje pripravaka liposoma ovog izuma terapijski ili profilaktički životinjama koje imaju bilo koje od gore spomenutih bolesti ili tjelesnih stanja ili bilo koju drugu bolest ili tjelesno stanje. Doze liposoma mogu varirati ovisno o kliničkom stanju i veličini subjekta ili pacijenta koji prima tretman. U posebnim izvedbama, izum obuhvaća doze od oko 20 mg/kg do oko 300 mg/kg, 50 mg/kg do oko 200 mg/kg i/ili doze koje toleriraju bolesni pacijenti i koje su učinkovite i koje istodobno sprječavaju ili smanjuju nepoželjne učinke.

U posebnim izvedbama liposomi ovog izuma se daju pacijentima u pojedinačnoj ili u višestrukim dozama između 50 mg/kg i 300 mg/kg. U zasebnim poželjnim izvedbama liposomi ovog izuma se daju pacijentima u pojedinačnoj ili u višestrukim dozama između 100 mg/kg i 200 mg/kg te još poželjnije između 150 mg/kg i 200 mg/kg. U drugim, još više poželjnim izvedbama, vezikule se daju pacijentima u pojedinačnim ili višestrukim dozama od ili između 0-1 g, 1-2 g, 2-3 g, 3-4 g, 4-5 g, 5-6 g, 6-7 g, 7-8 g, 8-9 g, 9-10 g, 10-11 g, 11-12 g, 12-13 g, 13-14 g, 14-15 g, 15-16 g, 16-17 g, 17-18 g, 18-19 g ili 19-20 g.

U posebnim izvedbama ove količine doza (ili druge količine doza liposoma) se daju u pojedinačnim ili višestrukim dozama i jednom ili više intervala koji su u rasponu od: jednom dnevno, jednom svaka 2 dana, jednom svaka 3 dana, jednom svaka 4 dana, jednom svakih 5 dana, jednom svakih 6 dana, jednom svakih 7 dana, jednom svakih 8 dana, jednom svakih 9 dana, jednom svakih 10 dana, jednom svakih 11 dana, jednom svakih 12 dana, jednom svakih 13 dana, jednom svakih 14 dana, jednom svaka 2-3 tjedna, jednom svaka 3-4 tjedna, jednom svaka 4-5 tjedna, jednom svakih 5-6 tjedana, jednom svakih 6-7 tjedana, jednom svakih 7-8 tjedana, jednom svaka 2-3 mjeseca, jednom svaka 3-4 mjeseca, jednom svakih 4-5 mjeseci, jednom svakih 5-6 mjeseci, jednom svakih 6-7 mjeseci, jednom svakih 7-8 mjeseci, jednom svakih 8-9 mjeseci, jednom svakih 9-10 mjeseci, jednom svakih 10-11 mjeseci, jednom svakih 11-12 mjeseci, jednom svaku 1-2 godine, jednom svake 2-3 godine, jednom svake 3-4 godine, jednom svakih 4-5 godina; ili se mogu davati drugačije u prethodno određenim vremenskim intervalima u prethodno određenom trajanju tretmana. U posebno poželjnoj izvedbi vremenski interval između doza za vrijeme trajanja terapije je otprilike jednom tjedno.

Poželjna vremena trajanja tretmana mogu biti u rasponu od vremena kad je prva doza dana do oko: 1 dana, 2 dana, 3 dana, 4 dana, 5 dana, 6 dana, 7 dana, 1-2 tjedana, 2-3 tjedna, 3-4 tjedna, 4-5 tjedana, 5-6 tjedana, 6-7 tjedana, 7-8 tjedana, 2-3 mjeseca, 3-4 mjeseca, 4-5 mjeseci, 5-6 mjeseci, 6-7 mjeseci, 7-8 mjeseci, 8-9 mjeseci, 9-10 mjeseci, 10-11 mjeseci, 11-12 mjeseci, 1-2 godine, 2-3 godine, 3-4 godine i 4-5 godina.

U određenim izvedbama trajanje terapije može biti cikličko ili s prekidima, kada se spojevi i pripravci ovog izuma daju subjektima tijekom konačnog vremena trajanja ili dok nepoželjni događaji ili nuspojave uvjetuju smanjenje doze ili prestanak tretmana određeno vrijeme (period odmora). Smanjenje doze, prestanak tretmana ili dugi period odmora može odrediti liječnik. Nakon takvog perioda odmora, ili nakon što nepoželjni događaji ili nuspojave povuku ili po odluci liječnika, po potrebi, se može ponovno početi s tretmanom.

Tolerancija, sigurnost i učinkovitost (uključujući ali ne ograničavajući se na razine kolesterola, enzime jetre, razine specifičnih pokazatelja ili marker u krvi i fiziološki faktori) se mogu povratiti prije, za vrijeme ili nakon terapije i/ili u različitim periodima za vrijeme isprekidane ili cikličke terapije. U poželjnim izvedbama, tehnikama snimanja, uključujući, ali ne ograničavajući se na npr. snimanje magnetskom rezonancijom (MRI), intravaskularnim ultrazvukom te tehnikama protoka krvi, prate se fiziološki faktori, vaskularne promjene, stabilnost naslaga, stjenke žila i ostali markeri. Krvni markeri se mogu pratiti krvnim testovima poznatima u struci. Za vrijeme ili po završetku takvog praćenja, režim tretmana se može promijeniti u skladu sa saznanjima (uključujući promjenu količine doze, veličinu ili distribuciju liposoma, brzine davanja, koncentraciju liposoma, broj doza, vrijeme između intervala ili duljinu trajanja tretmana).

Osim toga, liposomi ovog izuma se daju pacijentima u kombinaciji sa drugim lijekovima, terapeutima ili terapijama reguliranja lipida. Na primjer, liposomi ovog izuma se mogu davati zajedno sa HMG-CoA inhibitorima reduktaze, fibratima, sekvstrantima žučne kiseline, nikotinskom kiselinom i drugim anti-hiperlipidemijskim sredstvima, antidijabetičkim sredstvima i/ili sredstvima za kontroliranje glikemije, protuupalnim sredstvima, antihipertenzivskim sredstvima, antikoagulativnim sredstvima, Apo-AI mimeticima i elevatorima HDL, proizvođača Esperion Therapeutics Inc., ostalim kardiovaskularnim sredstvima poznatima u struci i njihovim kombinacijama.

U jednoj posebnoj izvedbi, liposomi ovog izuma se daju pacijentima koji pate od dijabetesa zajedno sa ostalim antidijabetičkim sredstvima i/ili sredstvima za kontroliranje glikemije. U drugim posebnim izvedbama, liposomi se daju za sprječavanje, tretiranje ili kontroliranje pacijenta koji pati od upale, upalne bolesti ili za sprječavanje ili smanjivanje upalnog odgovora. U drugim određenim izvedbama, liposomi ovog izuma se daju lokalno na kožu za tretiranje kutanih, supkutanih ili lokaliziranih upala ili kao pomoć pri zacjeljivanju rane. U drugoj određenoj izvedbi liposomi ovog izuma se daju pacijentu za sprječavanje, upravljanje ili tretiranje pacijenta koji je obolio od Alzheimerove bolesti. U drugoj posebnoj izvedbi liposomi ovog izuma se daju pacijentu za sprječavanje, upravljanje ili tretiranje pacijenta koji pati od ateroskleroze, fleboskleroze ili bilo kojeg stanja u kojem dolazi do nastanka kolesterolnih plakova ili drugog materijala u intimi ili mediji krvnih žila. U drugoj posebnoj izvedbi liposomi ovog izuma se daju pacijentu za sprječavanje, kontroliranje ili tretiranje pacijenta koji pati od ishemije uključujući nekardiovaskularnu ishemiju. U drugoj posebnoj izvedbi liposomi ovog izuma se rabe za predtretiranje pacijenata prije izborne operacije koja može izazvati ishemijsku reperfuzijsku ozljedu, kao što je operacija kuka, operacija koljena, transplantacija organa, PTCA.

U poželjnoj izvedbi, vrijeme trajanja tretmana za vrijeme terapije nije dulje od 14 tjedana. U drugim posebno poželjnim izvedbama Liposomi se daju od 5-200 mg/kg u intervalima od 4-7 dana bilo sa 1-4, 1-8 ili 1-14 ukupnih doza danih

tijekom trajanja svake terapije. U drugoj određenoj izvedbi liposomi se daju 5-200 mg/kg, jednom tjedno tijekom otprilike 4 do 16 tjedana, poželjno oko 10 tjedana (ukupno 10 tretmana).

5 U jednoj određenoj izvedbi, liposomi, u koncentraciji od 50-200 mg/ml, sa prosječnim promjerom između 50-250 nm $\pm$ 50%, poželjno između 100-140 nm $\pm$ 50%, više poželjno između 110-120 nm $\pm$ 50%, se daju pacijentu koji pati od ateroskleroze, sami ili u kombinaciji sa ostalim antisklerotičnim sredstvima, u količini doze od 100 mg/kg i brzinom od 10 ml/min ili brže, svakih 7 dana u ukupnoj količini od 10 doza.

10 U drugoj određenoj izvedbi liposomi, u koncentraciji od 50-200 mg/ml, sa prosječnim promjerom između 50-250 nm $\pm$ 50%, poželjno između 100-140 nm $\pm$ 50%, više poželjno između 110-120 nm $\pm$ 50%, se daju pacijentu koji pati od ateroskleroze, sami ili u kombinaciji sa ostalim antisklerotičnim sredstvima, u količini doze od 150 mg/kg, brzinom od 10 ml/min ili brže, svakih 7 dana, u ukupnoj količini od 12 doza.

15 U drugoj određenoj izvedbi, liposomi, u koncentraciji od 50-200 mg/ml, sa prosječnim promjerom između 50-250 nm $\pm$ 50%, poželjno između 100-140 nm $\pm$ 50%, više poželjno između 110-120 nm $\pm$ 50%, se daju pacijentu koji pati od ateroskleroze, sami ili u kombinaciji sa ostalim antisklerotičnim sredstvima, u količini doze od 200 mg/kg i brzinom od 10 ml/min ili brže, svakih 7 dana u ukupnoj količini od 14 doza.

20 U drugoj izvedbi, liposomi, u koncentraciji od 50-200 mg/ml, sa prosječnim promjerom između 50-250 nm $\pm$ 50%, poželjno između 100-140 nm $\pm$ 50%, više poželjno između 110-120 nm $\pm$ 50%, se daju pacijentu koji pati od angine, kongestivnog zatajenja srca, koronarne bolesti srca, hipertenzije ili aritmija, sami ili u kombinaciji sa ostalim kardiovaskularnim sredstvima, u količini doze od 100 mg/kg i brzinom od 10 ml/min ili brže, svakih 7 dana u ukupnoj količini od 10 doza.

25 U drugoj izvedbi, liposomi, u koncentraciji od 50-200 mg/ml, sa prosječnim promjerom između 50-250 nm $\pm$ 50%, poželjno između 100-140 nm $\pm$ 50%, više poželjno između 110-120 nm $\pm$ 50%, se daju pacijentu koji pati od angine, kongestivnog zatajenja srca, koronarne bolesti srca, hipertenzije ili aritmija, sami ili u kombinaciji sa ostalim kardiovaskularnim sredstvima, u količini doze od 150 mg/kg i brzinom od 10 ml/min ili brže, svakih 7 dana u ukupnoj količini od 12 doza.

30 U drugoj izvedbi, liposomi, u koncentraciji od 50-200 mg/ml, sa prosječnim promjerom između 50-250 nm $\pm$ 50%, poželjno između 100-140 nm $\pm$ 50%, više poželjno između 110-120 nm $\pm$ 50%, se daju pacijentu koji pati od angine, kongestivnog zatajenja srca, koronarne bolesti srca, hipertenzije ili aritmija, sami ili u kombinaciji sa ostalim kardiovaskularnim sredstvima, u količini doze od 200 mg/kg i brzinom od 10 ml/min ili brže, svakih 7 dana u ukupnoj količini od 14 doza.

40 U drugoj izvedbi, liposomi, u koncentraciji od 50-200 mg/ml, sa prosječnim promjerom između 50-250 nm $\pm$ 50%, poželjno između 100-140 nm $\pm$ 50%, više poželjno između 110-120 nm $\pm$ 50%, se daju pacijentu koji pati od upale, sami ili u kombinaciji sa ostalim protuupalnim sredstvima, u količini doze od 100 mg/kg i brzinom od 10 ml/min ili brže, svakih 7 dana u ukupnoj količini od 10 doza.

45 U drugoj izvedbi, liposomi, u koncentraciji od 50-200 mg/ml, sa prosječnim promjerom između 50-250 nm $\pm$ 50%, poželjno između 100-140 nm $\pm$ 50%, više poželjno između 110-120 nm $\pm$ 50%, se daju pacijentu koji pati od upale, sami ili u kombinaciji sa ostalim protuupalnim sredstvima, u količini doze od 150 mg/kg i brzinom od 10 ml/min ili brže, svakih 7 dana u ukupnoj količini od 12 doza.

50 U drugoj izvedbi, liposomi, u koncentraciji od 50-200 mg/ml, sa prosječnim promjerom između 50-250 nm $\pm$ 50%, poželjno između 100-140 nm $\pm$ 50%, više poželjno između 110-120 nm $\pm$ 50%, se daju pacijentu koji pati od upale, sami ili u kombinaciji sa ostalim protuupalnim sredstvima, u količini doze od 200 mg/kg i brzinom od 10 ml/min ili brže, svakih 7 dana u ukupnoj količini od 14 doza.

55 U drugoj izvedbi, liposomi, u koncentraciji od 50-200 mg/ml, sa prosječnim promjerom između 50-250 nm $\pm$ 50%, poželjno između 100-140 nm $\pm$ 50%, više poželjno između 110-120 nm $\pm$ 50%, se daju pacijentu koji pati od ishemije, sami ili u kombinaciji sa ostalim antiishemičnim sredstvima, u količini doze od 100 mg/kg i brzinom od 10 ml/min ili brže, svakih 7 dana u ukupnoj količini od 10 doza.

60 U drugoj izvedbi, liposomi, u koncentraciji od 50-200 mg/ml, sa prosječnim promjerom između 50-250 nm $\pm$ 50%, poželjno između 100-140 nm $\pm$ 50%, više poželjno između 110-120 nm $\pm$ 50%, se daju pacijentu koji pati od ishemije, sami ili u kombinaciji sa ostalim antiishemičnim sredstvima, u količini doze od 150 mg/kg i brzinom od 10 ml/min ili brže, svakih 7 dana u ukupnoj količini od 12 doza.

U drugoj izvedbi, liposomi, u koncentraciji od 50-200 mg/ml, sa prosječnim promjerom između 50-250 nm $\pm$ 50%, poželjno između 100-140 nm $\pm$ 50%, više poželjno između 110-120 nm $\pm$ 50%, se daju pacijentu koji pati od ishemije, sami ili u kombinaciji sa ostalim antiishemičnim sredstvima, u količini doze od 200 mg/kg i brzinom od 10 ml/min ili
5 brže, svakih 7 dana u ukupnoj količini od 14 doza.

U drugoj izvedbi, liposomi, u koncentraciji od 50-200 mg/ml, sa prosječnim promjerom između 50-250 nm $\pm$ 50%, poželjno između 100-140 nm $\pm$ 50%, više poželjno između 110-120 nm $\pm$ 50%, se daju pacijentu koji pati od
10 hiperlipidemije, hiperlipoproteinemije, hipoalfalipoproteinemije, hipertrigliceridemije, sami ili u kombinaciji sa antihiperlipidemijskim, antihiperlipoproteinemijskim, antihipoalfalipoproteinemijskim ili antihipertrigliceridemijskim sredstvima, u količini doze od 100 mg/kg i brzinom od 10 ml/min ili brže, svakih 7 dana u ukupnoj količini od 10 doza.

U drugoj izvedbi, liposomi, u koncentraciji od 50-200 mg/ml, sa prosječnim promjerom između 50-250 nm $\pm$ 50%, poželjno između 100-140 nm $\pm$ 50%, više poželjno između 110-120 nm $\pm$ 50%, se daju pacijentu koji pati od
15 hiperlipidemije, hiperlipoproteinemije, hipoalfalipoproteinemije, hipertrigliceridemije, sami ili u kombinaciji sa antihiperlipidemijskim, antihiperlipoproteinemijskim, antihipoalfalipoproteinemijskim ili antihipertrigliceridemijskim sredstvima, u količini doze od 150 mg/kg i brzinom od 10 ml/min ili brže, svakih 7 dana u ukupnoj količini od 12 doza.

U drugoj izvedbi, liposomi, u koncentraciji od 50-200 mg/ml, sa prosječnim promjerom između 50-250 nm $\pm$ 50%, poželjno između 100-140 nm $\pm$ 50%, više poželjno između 110-120 nm $\pm$ 50%, se daju pacijentu koji pati od
20 hiperlipidemije, hiperlipoproteinemije, hipoalfalipoproteinemije, hipertrigliceridemije, sami ili u kombinaciji sa antihiperlipidemijskim, antihiperlipoproteinemijskim, antihipoalfalipoproteinemijskim ili antihipertrigliceridemijskim sredstvima, u količini doze od 200 mg/kg i brzinom od 10 ml/min ili brže, svakih 7 dana u ukupnoj količini od 14 doza.

U drugoj izvedbi, liposomi, u koncentraciji od 50-200 mg/ml, sa prosječnim promjerom između 50-250 nm $\pm$ 50%, poželjno između 100-140 nm $\pm$ 50%, više poželjno između 110-120 nm $\pm$ 50%, se daju pacijentu koji pati od
25 kardiovaskularne bolesti i dijabetesa, sami ili u kombinaciji sa ostalim antidijabetičkim sredstvima i/ili sredstvima za kontroliranje glikemije, u količini doze od 100 mg/kg i brzinom od 10 ml/min ili brže, svakih 7 dana u ukupnoj količini od 10 doza.

U drugoj izvedbi, liposomi, u koncentraciji od 50-200 mg/ml, sa prosječnim promjerom između 50-250 nm $\pm$ 50%, poželjno između 100-140 nm $\pm$ 50%, više poželjno između 110-120 nm $\pm$ 50%, se daju pacijentu koji pati od
30 kardiovaskularne bolesti i dijabetesa, sami ili u kombinaciji sa ostalim antidijabetičkim sredstvima i/ili sredstvima za kontroliranje glikemije, u količini doze od 150 mg/kg i brzinom od 10 ml/min ili brže, svakih 7 dana u ukupnoj količini od 12 doza.
35

U drugoj izvedbi, liposomi, u koncentraciji od 50-200 mg/ml, sa prosječnim promjerom između 50-250 nm $\pm$ 50%, poželjno između 100-140 nm $\pm$ 50%, više poželjno između 110-120 nm $\pm$ 50%, se daju pacijentu koji pati od
40 kardiovaskularne bolesti i dijabetesa, sami ili u kombinaciji sa ostalim antidijabetičkim sredstvima i/ili sredstvima za kontroliranje glikemije, u količini doze od 200 mg/kg i brzinom od 10 ml/min ili brže, svakih 7 dana u ukupnoj količini od 14 doza.

Režimi doziranja također uključuju bolusno davanje ili tretman stalnom infuzijom, koji mogu uključiti uporabu primarne doze, nakon čega slijedi doza održavanja. U poželjnim izvedbama, doza će biti konstantna tijekom trajanja
45 tretmana. U drugim poželjnim izvedbama, doze će varirati. U određenim izvedbama, priprema liposoma će biti davani samo jednom, u drugim izvedbama će biti davani serijski u višestrukim dozama, dok će u određenim izvedbama biti davani u višestrukim dozama koje se ne daju u neprekinutom slijedu. Vrijeme trajanja, raspored tretmana i režimi doziranja mogu varirati u postupcima koji su dobro poznati iskusnim stručnjacima. Za vrijeme režima tretiranja mogu se rabiti serumska mjerenja ukupnog slobodnog kolesterola, ukupnog esterificiranog kolesterola, HDL kolesterola, LDL
50 kolesterola i VLDL kolesterola za procjenu i modificiranje količina doza i rasporeda tretmana. Kako se kolesterol mobilizira iz naslaga povećava se ukupni kolesterol u serumu. Poželjno je da se ukupni kolesterol u serumu i HDL kolesterol povećavaju za vrijeme terapije te da se esterificirani kolesterol smanjuje (ili da se minimalno na njega utječe) za vrijeme terapije. Doza liposoma za različite životinje će općenito biti približna doziranju za ljude, određenom ovisno o težini. Pacijenti tretirani sa takvim pripravcima i u skladu sa takvim postupcima mogu biti bilo koje dobi te imati
55 jednu ili više bolest ili tjelesnih stanja koja su gore navedena i/ili druge bolesti i stanja.

Primjeri

Slijedeći primjeri služe samo za ilustraciju, nikako ograničavajuće.

5 **Primjer 1**

Višestruke doze ETC-588 liposoma kod pacijenata s aterosklerozom

Provedeno je istraživanje s višestrukim dozama kojim su se procijenili učinci višestrukih doza ETC-588 liposoma (ETC-588-003 istraživanje) kod ljudskih pacijenata oboljelih od ateroskleroze. ETC-588 liposomi (200 mg/ml) su dani intravenozno infuzijskom pumpom. ETC-588 u plazmi je ispitan kao fosfolipid (PL). Skupine doza su bile kako slijedi: placebo (7 ili 14 doza), 50 mg/kg (14 doza), 100 mg/kg (7 doza) ili 200 mg/kg (7 doza) su ispitane. Doze su davane u intervalima od 4 dana (q4d) ili 7 dana (q7d). Ukupno 42 pacijenta su sudjelovala u istraživanju (muškaraca: 36, žena: 6) između 44 i 76 godina starosti (prosječna starost je bila 63 ± 7 godina). Srednja težina pacijenta je bila $87,7 \text{ kg} \pm 17,0 \text{ kg}$ u opsegu od 52,4 kg do 147,7 kg. Srednje osnovne razine HDL-kolesterola kod pacijenata su bile $36 \pm 4 \text{ mg/dL}$, a srednje osnovne razine ukupnog kolesterola kod pacijenata su bile $182 \pm 36 \text{ mg/dL}$. Osim toga, slijedeći postotak pacijenata je imao povijest kardiovaskularnih bolesti: bolest koronarnih arterija: 98%, bolest periferne arterije: 2%, premsnica koronarne arterije: 57%, stabilna angina: 29% i nestabilna angina: 19%.

Ukupni i neesterificirani kolesterol (UC) i PCL su ispitivani standardnim, automatiziranim postupcima. Subjekti su bili nasumično podijeljeni u skupine za tretiranje. Sigurnost i tolerancija, laboratorijski podaci, vitalni znakovi i nepoželjni događaji su sumirani za svaku vremensku točku te za promjene prije doze i poslije doze uporabom deskriptivne statistike. Farmakokinetičke i farmakodinamičke mjere su sumirane uporabom deskriptivne statistike. Od 42 pacijenta koja su sudjelovala u istraživanju, 36 je zapravo primilo lijek, iako su se 2 pacijenta povukla iz istraživanja prije dovršetka uzimanja svih doza, iz razloga koji nisu bili ni nepoželjni događaji, kao niti nuspojave. Broj pacijenata koji je prijavio bilo koje nepoželjne događaje (AE) je bio ukupno 26 (72%), a broj pacijenata koji su prijavili ozbiljne nepoželjne događaje (SAE) je bio ukupno 5 (14%). Broj pacijenata uključenih u ispitivanje sigurnosti je bio 36, dok su 33 pacijenta bila uključena u farmakokinetičke i farmakodinamičke analize (s nekompletnim farmakokinetičkim podacima za 3 pacijenta). Učinci ETC-588 na funkciju endotela (vaskularna struktura), upalne markere i snimanje magnetnom rezonancijom (MRI) je također ispitan.

Rezultati su prikazani slikama 2 i 3. Rezultati upućuju na to da se mobilizacija kolesterola pojavljuje u svim dozama ETC-588 s različitim učinkovitošću. Slijedeći nepoželjni događaji i ozbiljni nepoželjni događaji su prijavljeni u svakoj skupini:

35 **Skupina za doziranje**

Kategorija nepoželjnog događaja (AE)	Placebo (n=6)	50 mg/kg q7d (n=4)	50 mg/kg q4d (n=4)	100 mg/kg q7d (n=5)	100 mg/kg q4d (n=5)	200 mg/kg q7d (n=5)	200 mg/kg q4d (n=7)
Bilo koji AE	4 (66,7%)	4 (100%)	2 (50%)	5 (100%)	3 (60%)	2 (40%)	6 (85,7%)
Bilo koji SAE	0	0	1 (25%)	0	1 (25%)	1 (25%)	2 (28,6%)
Bilo koji tretman završen	0	0	0	0	0	0	0

Najuobičajeniji nepoželjni događaji kod pacijenata s najmanje jednim pojavljivanjem nepoželjnih događaja su sumirani i niže prikazani. Ozbiljne nepoželjne događaje (skvrčavanje vrata mokraćnog mjehura, bolove u prsima, hiperglikemiju ili pogoršanje dijabetesa) liječnici su smatrali nevezanima sa davanjem ETC-588:

Nepoželjan događaj (ukupan broj pojavljivanja)	Placebo N=6	50 mg/kg N=8	100 mg/kg N=10	200 mg/kg N=12
Glavobolja (23)	2	1	5	4
Vrtoglavica (6)	1	3	0	0
Umor (6)	0	0	2	3
Mučnina (5)	0	2	0	1
Povišenje krvnog tlaka (4)	0	2	1	0
Bolovi u prsima (3)	0	1	1	0

Općenito, rezultati ETC-588-003 istraživanja upućuju na to da ETC-588 liposomi mobiliziraju kolesterol na način koji ovisi o dozi te da su doze od 200 mg/kg ili manje općenito sigurne te se dobro podnose. Nadalje, kako je gore prikazano, doziranje u intervalima od 7 dana je optimalno u odnosu na doziranje u intervalima od 4 dana za ETC-588 liposome, zato što doziranje u intervalima od 7 dana, omogućuje optimalno uklanjanje fosfolipida i neesterificiranog kolesterola u serumu. Osim toga doziranje u intervalima od 7 dana može biti optimalno u odnosu na doziranje u intervalima od 4 dana, jer se nepoželjni događaji i ozbiljni nepoželjni događaji mogu smanjiti ili spriječiti.

Na primjer, kako je prikazano u gornjim tablicama, kad je 200 mg/kg davano u intervalima od 7 dana, postotak bilo kojeg nepoželjnog događaja je bio 40%, a bilo kojeg ozbiljnog nepoželjnog događaja je bio 20%. Nasuprot tome, kada je 200 mg/kg bilo davano u intervalima od 4 dana, postotak bilo kojeg nepoželjnog događaja je bio 85,7%, bilo kojeg ozbiljnog nepoželjnog događaja 28,6%. Slično tome, kada je 100 mg/kg bilo davano u intervalima od 7 dana, postotak "bilo kojeg ozbiljnog nepoželjnog događaja" je bio 0%. Nasuprot tome, kada je 100 mg/kg bilo davano u intervalima od 4 dana, postotak "bilo kojeg ozbiljnog nepoželjnog događaja" je bio 25%. Slično tome, kada je 50 mg/kg bilo davano u intervalima od 7 dana, postotak "bilo kojeg ozbiljnog nepoželjnog događaja" je bio 0%. Ipak, kada je 50 mg/kg bilo davano u intervalima od 4 dana, postotak "bilo kojeg ozbiljnog nepoželjnog događaja" je bio 25%.

PATENTNI ZAHTEJEVI

- Uporaba liposoma, **naznačena time** da se lipidi sastoje od fosfolipida i vodenog sloja i time da navedeni liposomi imaju prosječan promjer između 50 nm i 250 nm te da se pripremaju za uporabu u pojedinačnoj ili višestrukoj dozi između 50 mg/kg i 300 mg/kg za pripremu lijeka za sprječavanje, tretiranje ili kontroliranje bolesti ili tjelesnog stanja.
- Uporaba zahtjeva 1, **naznačena time** da se liposomi daju u dozi između 50 mg/kg i 300 mg/kg, u intervalu od 4 do 10 dana.
- Uporaba zahtjeva 1 ili zahtjeva 2, **naznačena time** da liposomi imaju prosječni promjer od između 50 i 150 nm ili time da liposomi imaju prosječni promjer od između 50 i 200 nm ili time da liposomi imaju prosječan promjer od između 100 i 200 nm ili time da liposomi imaju prosječan promjer od između 100 i 250 nm ili time da liposomi imaju prosječan promjer od između 150 i 200 nm ili time da liposomi imaju prosječan promjer od između 150 i 250 nm.
- Uporaba bilo kojeg od zahtjeva od 1 do 3, **naznačena time** da se liposomi daju u kombinaciji sa ostalim fosfolipidnim vezikulama izabranima iz skupine koja se sastoji od multilamelarnih vezikula, velikih unilamelarnih vezikula, malih unilamelarnih vezikula i njihovih mješavina.
- Uporaba bilo kojeg od zahtjeva od 1 do 4, **naznačena time** da ne izaziva znatno povećanje ili smanjenje razina LDL kod subjekta.
- Uporaba bilo kojeg od zahtjeva od 1 do 4, **naznačena time** da izaziva znatno povećanje ili smanjenje razina LDL kod subjekta.
- Uporaba bilo kojeg od zahtjeva od 1 do 6, **naznačena time** da je fosfolipid izabran iz skupine koja se sastoji od fosfatidilkolina, fosfatidilglicerola, distearoilfosfatidilkolina ili distearoilfosfatidilglicerola, fosfatidilkolina, fosfatidilglicerola, lecitina, beta, glikolipida, gama-dipalmitoil-alfa-lecitina, sfingomijelina, fosfatidilserina, fosfatidne kiseline, N-(2,3-di(9-(Z)-oktadeceniloksi))-prop-1-il-N,N,N-trimetilamonij klorida, fosfatidiletanolamina, lizolecitina, lizofosfatidiletanolamina, fosfatidilinozitola, cefalina, kardioplipina, cerebrozida, dicetilfosfata, dioleoilfosfatidilkolina, dipalmitoilfosfatidilkolina, dipalmitoilfosfatidilglicerola, dioleoilfosfatidilglicerola, palmitoil-oleoil-fosfatidilkolina, di-stearoil-fosfatidilkolina, stearoil-palmitoil-fosfatidilkolina, di-palmitoil-fosfatidiletanolamina, di-stearoil-fosfatidiletanolamina,

di-mirstoil-fosfatidilserina, di-oleoil-fosfatidilkolina, oleoil-palmitoil fosfatidilkolina, lipida koji je u fazi tekućeg kristala pri 37°C i njihove smjese.

8. Uporaba bilo kojeg od zahtjeva od 1 do 6, **naznačena time** da fosfolipid je palmitoil-oleoil fosfatidilkolina.
9. Uporaba bilo kojeg od zahtjeva od 1 do 8, **naznačena time** da je bolest ili tjelesno stanje izabrano iz skupine koja se sastoji od fleboskleroze ili bilo kojeg stanja vena u kojem plakovi, koji sadrže kolesterol ili drugi materijal, nastaju u intimi ili mediji vena, akutnih koronarnih sindroma, angine, uključujući stabilnu i nestabilnu anginu, upale, vaskularne upale, dermalne upale, kongestivnog zatajenja srca, koronarne bolesti srca (CHD), ventrikularne aritmije, periferne vaskularne bolesti, infarkta miokarda, početka fatalnog infarkta miokarda, nefatalnog infarkta miokarda, ishemije, kardiovaskularne ishemije, privremenih ishemijskih napada, ishemije koja nije povezana s kardiovaskularnom bolešću, ishemijske reperfuzijske ozljede, smanjene potrebe za revaskularizacijom, poremećaja koagulacije, trombocitopenije, tromboze dubokih vena, pankreatitisa, nealkoholnog steatohepatitisa, dijabetičke neuropatije, retinopatije, bolne dijabetičke neuropatije, klaudikacije, psorijaze, kritične ishemije udova, impotencije, hiperlipidemije, hiperlipoproteinemije, hipoalfalipoproteinemije, hipertrigliceridemije, bilo kojeg stenotičkog stanja koje vodi do ishemične patologije, dijabetesa, uključujući i tip I i tip II, ihtioze, moždanog udara, osjetljivih plakova, Alzheimerove bolesti, ulceracije donjih udova, ozbiljne koronarne ishemije, limfoma, katarakta, endotelne disfunkcije, ksantoma, trajne disfunkcije organa, vaskularne bolesti, vaskularne bolesti koja je posljedica pušenja i dijabetesa, bolesti karotidne i koronarne arterije, regresivnih plakova, slabe intime žila, nestabilne intime žila, ozljede endotela, oštećenja endotela koje je posljedica operativnih postupaka, postotka oboljenja, koji je povezan sa vaskularnom bolešću, ulceracije arterijskog lumena, restenoze kao posljedice balonske angioplastike te simptoma prethodno opisanoga.
10. Uporaba bilo kojeg od zahtjeva od 1 do 9, **naznačena time** da tretman ojačava stijenku intime žile, stimulira cfluks ekstracelularnog kolesterola za prijenos do jetre, modulira imune odgovore, mobilizira kolesterol iz aterosklerotskih naslaga, pomaže u zalječivanju rana, modificira bilo koje tjelesne membrane, stanice, tkiva, organa, ekstracelularnog područja ili strukture.
11. Uporaba bilo kojeg od zahtjeva od 1 do 10, **naznačena time** da se liposomi daju u kombinaciji sa ili vezani na spojeve izabrane iz skupine koja se sastoji od peptida, paraoksonaze, lipoprotein-lipaze, Apo A-I i mimetika, varijanti A-I i njihovih kombinacija.
12. Uporaba bilo kojeg od zahtjeva od 1 do 11, **naznačena time** da se liposomi daju u kombinaciji sa malim molekulama ili lijekovima koji utječu na razine kolesterola.
13. Uporaba zahtjeva 12, **naznačena time** da je mala molekula statin, obnovljeni HDL, mali HDL ili sintetički mimetik HDL lipoproteinske čestice.
14. Uporaba bilo kojeg od zahtjeva od 1 do 13, **naznačena time** da se liposomi daju u kombinaciji sa jednim ili više kardiovaskularnih sredstava, antidijabetičkih sredstava ili druge terapijske tvari.
15. Uporaba zahtjeva 14, **naznačena time** da je kardiovaskularno sredstvo izabrano iz skupine koja se sastoji od malih molekula, statina, aspirina, beta blokatora, uključujući klopido-rel, blokatore kalcija, heparin, uključujući heparin niske molekularne težine, sredstva za snižavanje glukoze, nitrata, IIb/IIIa inhibitore, inhibitore ACE, fibrata i sekvestrante žučne kiseline.
16. Uporaba bilo kojeg od zahtjeva od 1 do 15, **naznačena time** da se liposomi daju u dozi od oko 50 mg/kg otprilike svakih 7 dana ili time da se liposomi daju u dozi od oko 100 mg/kg otprilike svakih 7 dana ili time da se liposomi daju u dozi od oko 150 mg/kg otprilike svakih 7 dana ili time da se liposomi daju u dozi od oko 200 mg/kg otprilike svakih 7 dana ili time da se liposomi daju u dozi od oko 250 mg/kg svakih 7 dana ili time da se liposomi daju u dozi od oko 300 mg/kg svakih 7 dana.
17. Uporaba bilo kojeg od zahtjeva od 1 do 16, **naznačena time** da se liposomi daju jednom.
18. Uporaba bilo kojeg od zahtjeva od 1 do 16, **naznačena time** da se liposomi daju dva puta u intervalima od 4-7 dana ili time da se liposomi daju tri puta u intervalima od 4-7 dana ili time da se liposomi daju četiri puta u intervalima od 4-7 dana ili time da se liposomi daju pet puta u intervalima od 4-7 dana ili time da se liposomi daju šest puta u intervalima od 4-7 dana ili time da se liposomi daju sedam puta u intervalima od 4-7 dana ili time da se liposomi daju osam puta u intervalima od 4-7 dana ili time da se liposomi daju devet puta u intervalima od 4-7 dana ili time da se liposomi daju deset puta u intervalima od 4-7 dana ili time da se liposomi daju jedanaest puta u intervalima od 4-7 dana ili time da se liposomi daju dvanaest puta u intervalima od 4-7 dana ili time da se liposomi ponekad daju trinaest puta u intervalima od 4-7 dana ili time da se liposomi daju četrnaest puta u intervalima od 4-7 dana.
19. Uporaba bilo kojeg od zahtjeva od 1 do 16, **naznačena time** da se liposomi daju 2-14 puta u tjednim intervalima ili time da se liposomi daju 2-14 puta u intervalima od dva tjedna ili time da se liposomi daju 2-14 puta u mjesečnim intervalima ili time da se liposomi daju 2-14 puta u intervalima od 2 mjeseca ili time da se liposomi daju 2-14 puta u intervalima od 3 mjeseca ili time da se liposomi daju 2-14 puta u intervalima od 4 mjeseca ili time da se liposomi daju 2-14 puta u intervalima od 5 mjeseci ili time da se liposomi daju 2-14 puta u intervalima od 6 mjeseci ili time da se liposomi daju 2-14 puta u intervalima od 7 mjeseci ili time da se liposomi daju 2-14 puta u intervalima od 8 mjeseci ili time da se liposomi daju 2-14 puta u intervalima od 9 mjeseci ili time da se liposomi daju 2-14 puta u intervalima od 10 mjeseci ili time da se liposomi daju 2-14 puta u intervalima od 11 mjeseci ili time da se liposomi daju 2-14 puta u intervalima od 3 godine ili time da se liposomi daju 2-14 puta u intervalima od 4 godine.

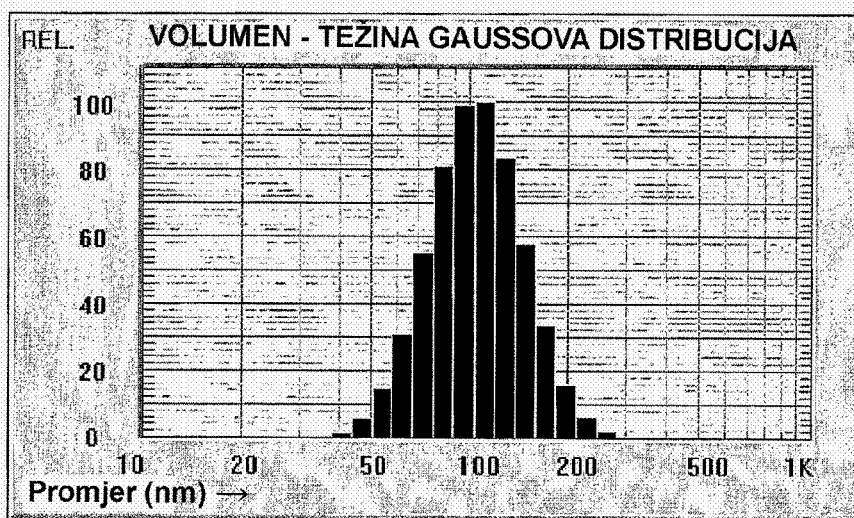
20. Uporaba liposoma, prosječne veličine čestica između 50 nm i 250 nm, u dozi od između 100 mg/kg do 200 mg/kg, **naznačena time** da je za izradu lijeka za smanjivanje kolesterola u perifernom tkivu, uz istodobno smanjivanje ili izbjegavanje nepoželjnih učinaka povezanih sa terapijom liposomima.
- 5 21. Uporaba liposoma u dozama od 100 mg/kg do 200 mg/kg, **naznačena time** da je za izradu lijeka, koji će se davati u pojedinačnoj ili u višestrukim dozama, svakih 7 ili više dana, za sprječavanje ili tretiranje bolesti ili poremećaja povezanog sa abnormalnim razinama kolesterola.
22. Uporaba zahtjeva 20, **naznačena time** da se davanje vrši jednom svakih 7 dana.
23. Uporaba zahtjeva 20, **naznačena time** da se davanje vrši 6 do 14 puta.
- 10 24. Uporaba liposoma, prosječnog promjera od između 50 nm i 250 nm, u dozi od 100 mg/kg do 200 mg/kg, **naznačena time** da je za izradu lijeka koji će se davati svakih četiri ili više dana za smanjivanje kolesterola kod oboljelog čovjeka.
25. Uporaba zahtjeva 23, **naznačena time** da dodatno sadrži davanje navedenih liposoma u kombinaciji sa jednim ili više kardiovaskularnih sredstava, antidijabetičkih sredstava i/ili sredstava za kontroliranje glikemije i/ili ostalih terapijskih sredstava.

15

SAŽETAK

- 20 Ovaj izum se odnosi na farmaceutske pripravke koji sadrže liposome i postupke uporabe takvih liposoma za sprječavanje, tretiranje ili kontroliranje brojnih bolesti i/ili tjelesnih stanja. Liposomi mogu sadržavati velike unilamelarne vezikule (LUV), same ili u kombinaciji sa multilamelnim vezikulama (MLV), malim unilamelnim vezikulama (SUV) ili drugim terapeutima. Izum se odnosi na liposome koji imaju određene promjere i koji se daju pacijentima u specifičnim dozama i/ili režimima doziranja.

A



TEST.006

Sr. promjer (nm) x Koef.Var. = Stand. dev. (nm)

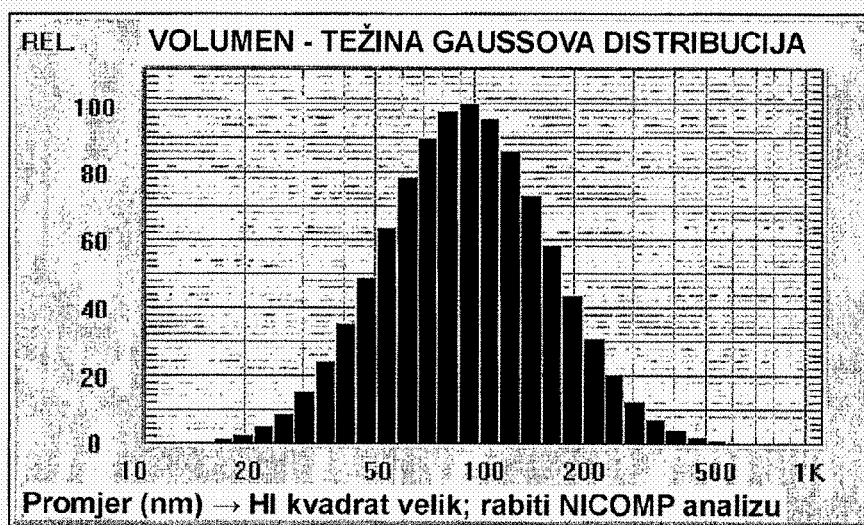
110.1

0.332

36.542

Slika 1 A

B

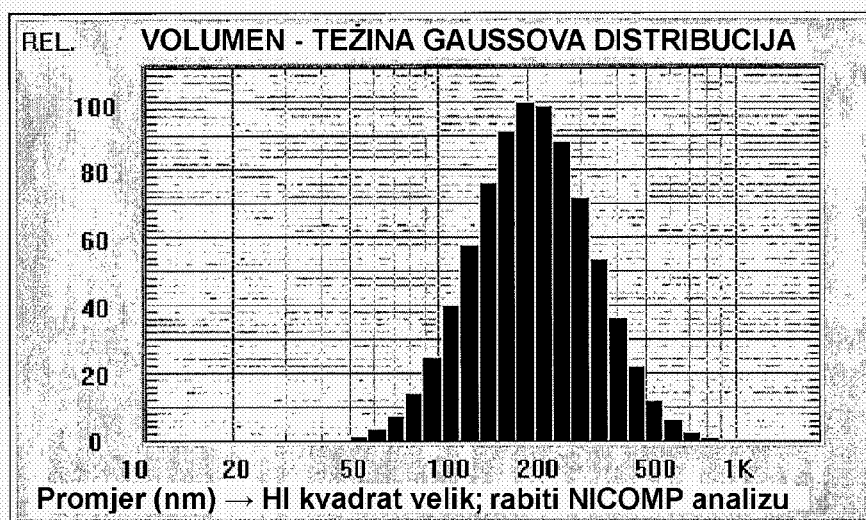


TEST. 007

Sr. promjer (nm) x Koef.Var. = Stand. dev. (nm)
 110.8 0.580 64.254

Slika 1B

C



TEST.11

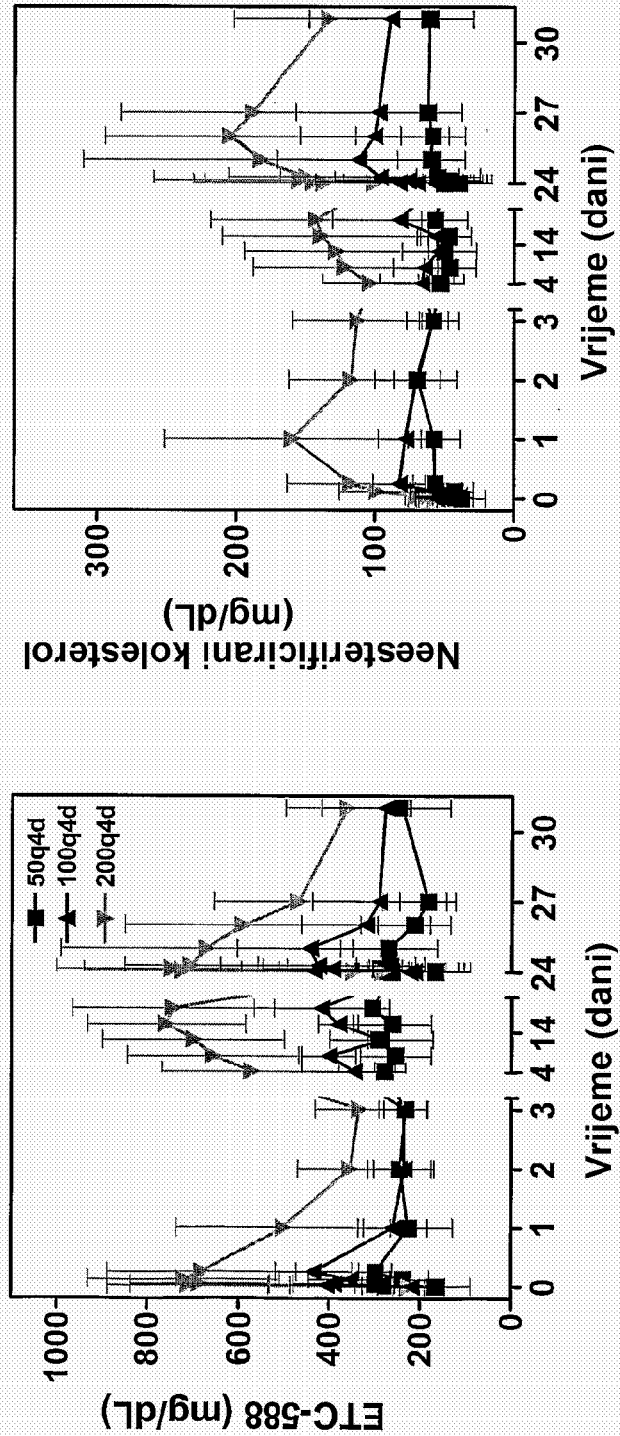
Sr. promjer (nm) x Koef.Var. = Stand. dev. (nm)

229.7

0.464

106.587

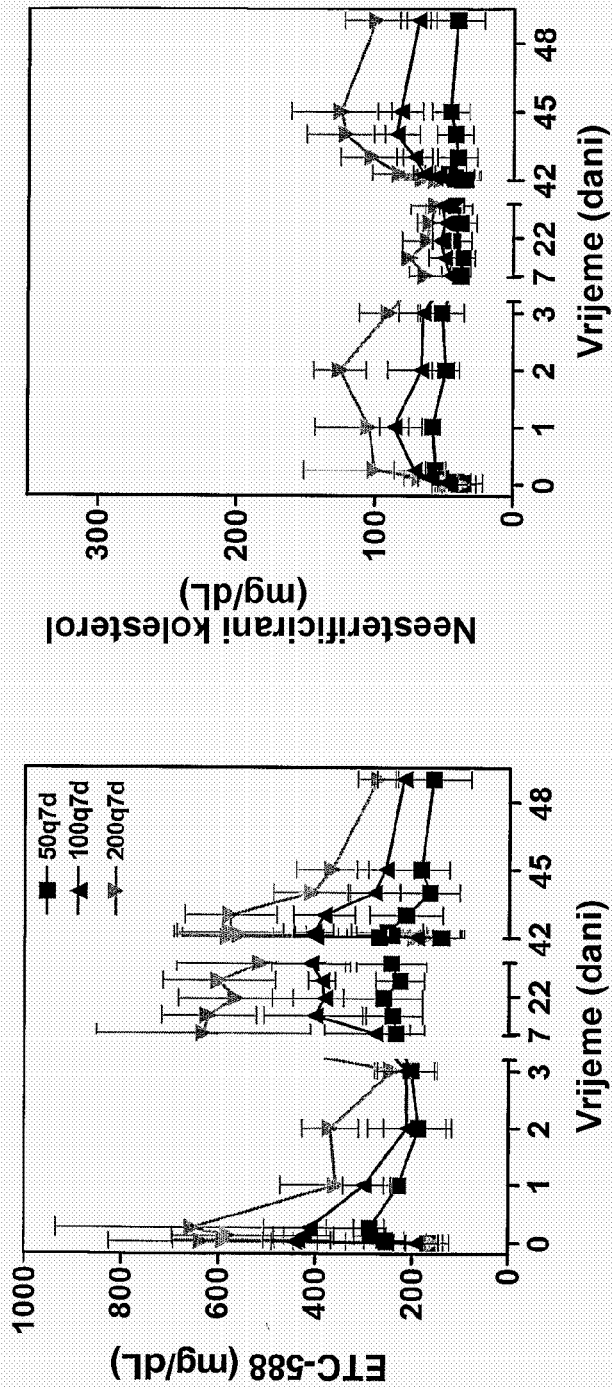
Slika 1C



4/5

Osnovne vrijednosti fosfolipida nisu oduzete od razina ETC-588.
 Vrijednosti prikazane od 4-20 dana predstavljaju podatke skupljene
 1 sat nakon primljene doze

ETC-588-003: Doze su davane svaka 4 dana
 Slika 2



Mobilizacija kolesterola je prikazana kroz sve doze.
 Vrijednosti prikazane od 7-35 dana predstavljaju podatke skupljene
 1 sat nakon primljene doze.
 Učestalost doziranja svakog sedmog dana je optimalna za klirens
 između doza.

ETC-588-003: Doze su davane svakih 7 dana
 Slika 3