

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(11) 019635

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента  
**2014.05.30**

(51) Int. Cl. C07G 99/00 (2009.01)  
C07F 15/02 (2006.01)

(21) Номер заявки  
**200970718**

(22) Дата подачи заявки  
**2008.02.06**

---

(54) ЛИГАНД-МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ПОЛИОКСОГИДРОКСИДНЫЕ МАТЕРИАЛЫ С  
ИОНАМИ МЕТАЛЛА, ИХ ПРИМЕНЕНИЕ И СПОСОБЫ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ

---

(31) 0702270.0; 60/888,386

(56) HOLLEMAN A. F. ET AL.: "Lehrbuch der Anorganischen Chemie", LEHRBUCH DER ANORGANISCHEN CHEMIE, BERLIN: WALTER DE GRUYTER, DE, 1976, pages 930-931, XP002482484, page 931

(32) 2007.02.06

HOLLEMANN A. F. ET AL.: "Lehrbuch der Anorganischen Chemie", LEHRBUCH DER ANORGANISCHEN CHEMIE, BERLIN: WALTER DE GRUYTER, DE, 1 January 1995 (1995-01-01), page 929, XP002350463, ISBN: 978-3-11-012641-9

(33) GB; US

DE-A1-2826147

(43) 2010.02.26

(86) PCT/GB2008/000408

(87) WO 2008/096130 2008.08.14

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
**МЕДИКАЛ РЕСЁРЧ КАУНСИЛ (GB)**

(72) Изобретатель:

Паувэл Джонатан Джозеф, Браграбер  
Сильван Франсуа Алин, Фарина  
Нано Хорхе Родригес, Переира Дора  
Исабель Амараль (GB)

(74) Представитель:

**Нилова М.И. (RU)**

(57) Описаны лиганд-модифицированные полиоксогидроксидные материалы с ионами металла и их применение, в частности, для пищевых, медицинских, косметических или биологических целей, например для лечения состояния, связанного с недостаточностью одного из компонентов указанного материала, или для удаления эндогенного вещества, способного связываться с указанным материалом. Настоящее изобретение относится также к способам получения материалов, к оптимизации их физико-химических свойств и к их применению в медицинских целях.

B1

019635

019635  
B1

### Область изобретения

Настоящее изобретение относится к лиганд-модифицированным полиоксогидроксидным материалам с ионами металла и к их применению, в частности, в пищевых, медицинских, косметических или биологических областях применения, например, для лечения недостаточности, связанной с каким-либо компонентом указанного материала или для удаления эндогенного вещества, способного связываться с указанным материалом. Настоящее изобретение относится также к способам получения материалов и к оптимизации их физико-химических свойств и к их применению в медицине.

### Уровень техники

В настоящее время дефицит железа является наиболее распространенным в мире недостатком поступающего с пищей микроэлемента, от которого страдают более 4 млрд человек во всем мире. По оценкам специалистов 2 млрд человек - свыше 30% населения Земли - страдает анемией (ВОЗ, <http://www.who.int/nut/ida.htm>, опубликовано 20 декабря 2005 г.). Дефицит железа не является проблемой, характерной только для развивающихся стран. Эпидемиологические исследования, проведенные в европейских странах, показали, что дефицит железа наблюдается у 10-30% населения, а железодефицитной анемией (iron deficiency anemia, IDA) страдают от 1,5 до 14% менструирующих женщин (Hercberg et al., 2001; Goddard et al., 2005). Железодефицитная анемия может приводить к уменьшению интеллектуальной работоспособности, к снижению физических способностей, к изменениям терморегуляции, к изменениям протекания беременности и к ослаблению иммунных и метаболических функций, что оказывают влияние на качество жизни и экономику здравоохранения (Edgerton et al., 1979; Hercberg et al., 2001; Scholz et al., 1997). Стандартная терапия первой очереди в случае простой IDA в легкой форме обычно представляет собой пероральный прием сульфата железа.

В более сложных или тяжелых случаях дефицита железа возможно лечение путем внутривенного введения железа или переливаний крови, однако последующая терапия осуществляется препаратами для перорального введения железа. Несмотря на широкое распространение препаратов для перорального введения железа их эффективность является низкой. Это вызвано: (1) переменными характеристиками абсорбции и (2) побочными эффектами, которые приводят к плохой совместимости. Стратегия предотвращения дефицита железа включает употребление пищи, обогащенной железом. Широко применяемые обогащающие добавки включают сульфат железа, хлорид железа, железонатриевую соль этилендиаминтетрауксусной кислоты и пирофосфаты железа. Однако, несмотря на различные стратегии восполнения, дефицит железа остается распространенной глобальной проблемой, в связи с чем существует потребность в дешевых и эффективных добавках.

WO 2005/000210 описывает синтез высокомолекулярных железосахаридных комплексов, которые образуются, когда свежеосажденные гидроксиды железа агрегируют с молекулами сахара, с образованием вторичных комплексов. Эти комплексы известны как агломерированные смеси.

WO 03/031635 относится к ферментному способу получения глюконата кальция, кристаллы которого обладают высокой чистотой и высокой растворимостью.

US 2005/0209322 описывает способ получения глюконатных комплексов натрия и железа для внутривенного введения железа, который включает первую операцию получения гидроксида железа и следующую операцию осуществления реакции с лигандром - глюконатом натрия. US 2005/0209187 относится к аналогичному способу получения комплексов сахарозы и железа вместо комплексов глюконата железа.

US 2003/0049284 описывает способ увеличения растворимости солей альфа-оксикарбоновых кислот в результате реакции с альфа-аминокислотой, при этом указанный материал имеет улучшенные свойства пищевой добавки.

US 3679377 относится к агротехнически эффективному источнику железа в питательном растворе для удобрения растений в форме растворимого сульфато-гидроксидного анионного комплекса железа. Полученные материалы представляют собой обычные комплексы лиганда и ионов металла.

DE 20 2005 014332 U1 описывает металлоорганические нанопорошки, предназначенные для применения в технологии материалов, в частности, для получения полимерных композитов путем распыления указанных нанопорошков или нанесения покрытия из указанных нанопорошков на/в существующий материал.

Jugdaohsingh et al. (2004) описывают способ критического осаждения, который использует реакцию в фазе раствора при пери-нейтральном значении pH, когда органические кислоты конкурируют с образованием оксомостиков между атомами алюминия в процессе полимеризации, ограничивая рост и уменьшая разветвление полигидроксиалюминиевых молекул (Jugdaohsingh et al. (2004); Powell et al. (2004)). Способ удобен для использования, поскольку эффективность лиганда в прерывании этого процесса связана с его сродством к алюминию. В этой работе отмечено также, что во время роста молекул полигидроксиалюминия в фазе раствора "конкурирующий лиганд" оказывается внедренным в полимер.

### Краткое описание изобретения

В широком смысле настоящее изобретение относится к способам получения твердых модифицированных лигандами полиоксогидроксидных материалов с ионами металла и к оптимизации их физико-химических свойств. Составы согласно настоящему изобретению представляют собой твердофазные лиганд-модифицированные полиоксогидроксидные материалы с ионами металла, представленные формул-

лой ( $M_xL_y(OH)_n$ ), где  $M$  - один или более ион металла,  $L$  - один или более лигандов,  $OH$  - оксо- или гидроксидные группы. Указанные составы можно применять для пищевых, медицинских, косметических или иных соответствующих биологических целей, включая доставку материалов как таковых или применение указанных материалов для доставки компонента материала, в частности иона металла, в качестве добавки или фортификанта или пищевой добавки, или применение указанного материала для удаления или ингибиования компонента и смягчения нежелательных эффектов, которые могут быть им вызваны.

Указанные твердофазные лиганд-модифицированные полиоксогидроксидные материалы с ионами металла представляют собой новые формы веществ, которые не были известны ранее для применения в указанных целях и которые можно описать, в частности, при помощи структурных, спектроскопических или композиционных параметров (т.е., используя аналитические характеристики материалов), или при помощи способов получения этих материалов. Так, например, хотя порошки оксогидроксидов металлов хорошо известны в области неорганической химии, согласно настоящему изобретению их модифицируют биологически совместимыми лигандами (т.е., отличными от оксо- или гидроксидных групп), чтобы изменить их физические и/или химические свойства для получения новых материалов и их применения в новом качестве. Как часть уникальных процессов, применяемых для оптимизации и получения материалов, следует отметить, что (1) материалы получают в твердой фазе после осаждения из раствора (например, из водного раствора) и (2) включение лиганда в твердую полиоксогидроксидную твердую фазу с ионами металла, по меньшей мере для одного из участвующих в этом процессе лигандов, происходит путем непосредственного (формального), идентифицируемого образования связей.

Таким образом, настоящее изобретение отличается, например, от способа критического осаждения, описанного у Jugdaohsingh et al. (2004), поскольку описанный там способ реализуют в растворе, а осажденный материал далее не выделяют и не используют. В отличие от этого, согласно настоящему изобретению, образование полимеров продолжается до точки осаждения, при этом получают твердофазные материалы, которые используют в различных областях применения. Кроме того, авторы настоящего изобретения установили, что высущенные твердофазные материалы проявляют физико-химические свойства, которые существенно зависят от конкретных характеристик раствора, применяемого для получения соответствующего материала, например от выбора лигандов и их концентрации по отношению к концентрации иона металла. Можно было ожидать, что эти материалы являются просто оксидами/гидроксидами металлов с небольшой степенью отличия кристаллизации, и, следовательно с небольшим отличием свойств материалов, однако, вместо этого лиганда внедряются в матрицу осадка полиоксогидроксидного соединения с ионами металла посредством замещения оксо- или гидроксидной группы. Это замещение в общем случае является нестехиометрическим, однако происходит посредством непосредственного образования связей и приводит к новым отличительным изменениям химических характеристик, кристалличности и свойств твердофазного материала. Таким образом, составы, полученные согласно настоящему изобретению, представляют собой химически новые структуры, а не являются только результатами изменения степени кристалличности оксидов/гидроксидов металлов. Оказалось, что условия осаждения не определяют напрямую свойства осадка, в частности условия его повторного растворения. Так, например, при применении указанной системы вполне возможно добиться осаждения материала при pH 7, при этом указанный материал также можно полностью повторно растворить при pH 7, используя только немного больший объем раствора или внеся небольшие изменения в химические характеристики раствора. Тем не менее, при идентичных условиях реакции образуется материал с высоко воспроизводимыми свойствами. Таким образом, идея, лежащая в основе настоящего изобретения, заключается в том, что этот процесс можно применять для получения твердофазных соединений  $M:L:OH$  с точно заданными физико-химическими свойствами для множества биологических применений, в частности для медицинских, пищевых или косметических целей, когда требуются конкретные характеристики материала. Такой подход не рассматривался ранее, и неожиданно оказалось, что небольшие изменения процесса осаждения вызывают соответствующие изменения твердой фазы, которые можно применять для получения точно заданных физико-химических характеристик или свойств (например, растворимости).

В соответствии с этим в первом аспекте настоящее изобретение обеспечивает способ получения твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла, включающего один или более ионов металла ( $M$ ), выбранных из группы, включающей:  $Ag^{2+}$ ,  $Al^{3+}$ ,  $Au^{3+}$ ,  $Be^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Cr^{3+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Eu^{3+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Sr^{2+}$ ,  $V^{5+}$ ,  $Zn^{2+}$  или  $Zr^{2+}$ , один или более лигандов ( $L$ ), выбранных из группы, включающей карбоновую кислоту, мальтотол, этилмальтотол, ванилин, бикарбонат, сульфат, фосфат, силикат, борат, молибдат, селенат, триптофан, глутамин, пролин, валин или гистидин, фолат, аскорбат, пиридоксин, ниацин, адипат, ацетат, бикарбонат, глутарат, диметилглутарат, пимелат, сукцинат, бензоат, пропионат, и -оксо- или гидроксогруппы ( $OH$ ),

при этом указанный материал имеет полимерную структуру, в которой оксо- или гидроксогруппы нестехиометрично замещены лигандами  $L$ , и

характеризуется наличием по меньшей мере одной связи иона металла с одним лигандом  $M-L$ , которую можно обнаружить физическими аналитическими способами, и при этом указанный способ включает:

(а) смешивание соединения, содержащего ионы металла  $M$ , и лигандов  $L$  при первом значении pH

(А), при котором компоненты являются растворимыми;

(б) изменение значения pH (А) на второе значение pH (В), чтобы вызвать осаждение твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала, который требуется получить; и

(в) отделение и, возможно, сушку, твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла, полученного на операции (б).

Материалы, полученные способами согласно настоящему изобретению, можно использовать, например, для пищевых, медицинских, косметических или иных соответствующих биологических целей. Предпочтительным примером такого применения является использование указанного материала для доставки материала или его части, в том числе иона металла или лиганда, субъекту, например, для коррекции недостатка компонента материала или для того, чтобы компонентоказал полезное действие на субъекта. Альтернативным примером является применение указанного материала для связывания или блокирования компонента, который может присутствовать в системе, куда вводят указанный материал, тем самым удаляя или ингибируя указанный компонент и ослабляя нежелательное действие, которое он может вызывать. В этой связи указанный способ может дополнительно включать операцию получения твердофазного лиганд-модифицированного полиоксо-гидроксидного материала с ионами металла в виде композиции, пред назначенной для введения субъекту.

Во всех аспектах настоящего изобретения описанные в данной заявке способы можно применять для создания или оптимизации определенных физико-химических свойств материала, например для регулирования профиля растворимости или профиля адсорбции или аналогичных свойств материала, при этом существенное достоинство описанных здесь способов заключается в том, что они хорошо подходят для таких оптимизационных исследований.

Соответственно, следующий аспект настоящего изобретения обеспечивает способ получения твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла и оптимизации желательных физико-химических свойств этого материала для его применения в пищевых, медицинских, косметических или биологических целях, при этом указанный твердофазный лиганд-модифицированный полиоксогидроксидный материал с ионами металла включает один или более ионов металла (M), выбранных из группы, включающей:  $\text{Ag}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Au}^{3+}$ ,  $\text{Be}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{V}^{5+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  или  $\text{Zr}^{2+}$ ,

один или более лигандов (L), выбранных из группы, включающей карбоновую кислоту, мальтол, этилмальтол, ванилин, бикарбонат, сульфат, фосфат, силикат, борат, молибдат, селенат, триптофан, глутамин, пролин, валин или гистидин, фолат, аскорбат, пиридоксин, ниацин, адипат, ацетат, бикарбонат, глутарат, диметилглутарат, пимелат, сукцинат, бензоат, пропионат, и оксо- или гидроксогруппы (OH),

при этом указанный материал имеет полимерную структуру, в которой оксо- или гидроксогруппы нестехеометрично замещены лигандами L, и характеризуется наличием по меньшей мере одной связи иона металла с одним лигандом M-L, которую можно обнаружить физическими аналитическими способами, и при этом указанный способ включает:

(а) смешивание соединения, содержащего ионы металла M, и лигандов L в реакционной среде при первом значении pH (А), при котором компоненты являются растворимыми;

(б) изменение значения pH (А) на второе значение pH (В), чтобы вызвать осаждение твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла, который требуется получить;

(в) отделение и, возможно, сушку, твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла, полученного на стадии (б);

(г) исследование желательного физико-химического свойства осажденного твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла; и

(д) повторение в случае необходимости стадий (а)-(г), с изменением одного или более следующих параметров:

(1) типа или концентрации ионов металла (M) и/или лигандов (L), вводимых на стадии (а); и/или  
(2) отношения содержания ионов металла (M) и лигандов (L), вводимых на стадии (а); и/или

(3) pH (А); и/или

(4) pH (B); и/или

(5) скорости изменения от pH (А) до pH (B); и/или

(6) присутствия или концентрации буфера;

с получением твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла, который обладает желаемыми физико-химическими свойствами.

Примеры пригодных ионов металла и лигандов приведены ниже. В некоторых вариантах реализации в материалах согласно настоящему изобретению можно использовать несколько типов ионов металлов или лигандов, например два, три, четыре или пять различных типов ионов металлов или лигандов. Кроме того, в некоторых вариантах реализации лиганды L могут также обладать некоторой буферной емкостью, как более подробно описано ниже.

Как часть процесса оптимизации желательных физико-химических свойств материала, которые требуются для его применения, может оказаться желательным изменить физические условия или условия

химической реакции, используемые в способе получения твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла, например температуру реакции, содержание ионов и силу раствора, буферную емкость раствора (в частности, используя буфер МОПС (3-(N-морфолино)пропансульфоновую кислоту), как описано в примерах), или режимы и оборудование, применяемые для смешивания реагентов, чтобы определить наличие и степень их влияния на одно или более свойств материала.

В другом аспекте настоящее изобретение обеспечивает способ получения твердофазных лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами металла для введения субъекту, и при этом указанный способ включает получение оптимизированного твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла описанным в данной заявке способом и дополнительную операцию приготовления твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла в составе композиции.

В одном варианте реализации способы согласно настоящему изобретению применяют, например, для оптимизации и изготовления композиций трехвалентного железа, в частности, для применения в качестве железосодержащих добавок, фортификантов или терапевтических средств. Как является общепринятым в данной области техники, добавки представляют собой пищевые композиции, которые вводят субъекту для коррекции, предотвращения или чтобы обеспечить отсутствие недостатка определенного минерала или иного пищевого компонента. "Фортификант" представляет собой вещество, которое аналогично пищевой добавке, но которое обычно вводят в композиции, традиционно добавляемые в пищевые продукты для повышения их пищевой ценности, например добавление йода в поваренную соль, витаминов группы В - в зерновые завтраки или железа - в крупуяные продукты. Кроме того, композиции можно применять в терапевтических целях, обычно - в контексте предотвращения или лечения патологии или состояния, вызванных недостатком какого-либо минерала или иного пищевого компонента. В случае железа описанные здесь композиции трехвалентного железа можно применять в качестве пищевых добавок, фортификантов или терапевтических композиций, например, при лечении дефицита железа у беременных женщин или у женщин в пременопаузе, а также при лечении рака или воспалительных заболеваний. Такие терапевтические средства обычно вводят перорально или внутривенно.

Соответственно, в одном своём аспекте настоящее изобретение обеспечивает также композицию трехвалентного железа для применения в пищевых, медицинских, косметических или иных биологических целях, содержащая твердофазный лиганд-модифицированный полиоксогидроксидный материал с ионами трехвалентного железа, включающий  $\text{Fe}^{3+}$ , один или более лигандов (L), выбранных из группы, включающей карбоновую кислоту, мальтол, этилмальтол, ванилин, бикарбонат, сульфат, фосфат, силикат, борат, молибдат, селенат, триптофан, глутамин, пролин, валин или гистидин, фолат, аскорбат, пиридоксин, ниацин, адипат, ацетат, бикарбонат, глутарат, диметилглутарат, пимелат, сукцинат, бензоат, пропионат, и оксо- или гидроксидные группы (OH), при этом материал имеет полимерную структуру, в которой лиганды L, по существу, случайно замещают оксо- или гидроксогруппы, а твердофазный лиганд-модифицированный полиоксогидроксидный материал с ионами металла имеет связь  $\text{Fe}^{3+}\text{-L}$ , которую можно определить при помощи физического анализа.

Как правило, полезная пищевая добавка железа должна иметь некоторые характеристики простых солей железа, а, именно, иметь относительно низкую стоимость и достаточно хорошо абсорбироваться, однако в то же время она должна иметь сниженную окислительно-восстановительную активность и, следовательно, приводить к меньшему возникновению побочных эффектов. Некоторые соли трехвалентного железа не страдают этим недостатком, поскольку они уже являются окисленными и, следовательно, менее склонны проявлять окислительно-восстановительную активность, поскольку инициация восстановления железа в желудочно-кишечном тракте менее предпочтительна, чем инициация окисления железа. Кроме того, восстановление трехвалентного железа, которое регулируется слизистой оболочкой посредством белка DcytB, может представлять собой стадию, лимитирующую скорость поступления железа в кровоток, что снижает образование циркулирующего свободного железа (non-transferrin-bound iron, NTBI). NTBI может вызывать окислительное повреждение кровотока, эндотелия и большей части сосудистых органов. Однако простые соли трехвалентного железа не являются эффективными добавками, поскольку после их быстрого растворения в желудке происходит зависимая от концентрации оксо-гидроксидная полимеризация в тонком кишечнике, которая препятствует их абсорбции. Таким образом, хотя соли трехвалентного железа, обычно - хлорид железа, опробовали в качестве фортификантов в определенных пищевых продуктах, они плохо абсорбируются в дозах, применяемых в добавках или терапевтических средствах вследствие нерегулируемой доставки ионов трехвалентного железа в тонкий кишечник в дозах, которые применяют в болюсах. Хелатирование трехвалентного железа, например мальтолом, может помочь преодолеть эту проблему слабой растворимости в тонком кишечнике для болюсных доз, однако рентабельность этого процесса не подтверждена вследствие высоких производственных расходов (WO 03/097627). Кроме того, есть сомнение в безопасности хелаторов, в частности, мальтола. Описанные в данном изобретении композиции предназначены для того, чтобы преодолеть указанные трудности с абсорбцией, безопасностью, побочными эффектами и производственными расходами. Таким образом, указанные твердофазные лиганд-модифицированные полиоксогидроксидные материалы с ио-

нами металла можно приготовить так, что они будут иметь профили растворения в среде желудка, отличные от профилей растворения в среде тонкой кишечки. Благодаря этому за счет состава этих материалов можно исключить быстрое растворение в желудке, которое приводит к нежелательной доставке железа из болюсов в тонкий кишечник, как это имеет место для простых солей двух- и трехвалентного железа. pH раствора и скорость растворения можно подобрать в соответствии с требованиями. Потенциальными указанные твердофазные лиганд-модифицированные полиоксогидроксидные материалы с ионами трехвалентного железа можно получить таким образом, чтобы они "чувствовали" имеющуюся потребность в железе. Абсорбция железа из желудочно-кишечного тракта в кровоток будет происходить у индивидуумов, которым требуется железо. У тех, кому железо не требуется, будет очень низкая или нулевая абсорбция, при этом большее количество железа останется в просвете кишечника. Растворение или дезагрегация указанных твердофазных лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами трехвалентного железа могут быть "отрегулированы" таким образом, чтобы они эффективно растворялись или дезагрегировали в среде с низким содержанием гидратированного железа, но неэффективно - в среде с высоким содержанием гидратированного железа. Это также способствует снижению побочных эффектов без ослабления абсорбции у лиц, нуждающихся в железе. Растворение или дезагрегация указанных материалов в условиях желудочно-кишечного тракта зависят от оптимального режима абсорбции железа в кишечнике, поскольку как растворимое железо, так и очень мелкие частицы гидратированного железа могут быть абсорбированы, при этом для любого случая могут быть получены соответствующие лиганд-модифицированные полиоксогидроксидные материалы с ионами трехвалентного железа.

В следующем своём аспекте настоящее изобретение обеспечивает применение композиции твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла, который получают описанными в данной заявке способами, для приготовления медикамента, предназначенного для терапевтической доставки иона металла в организм субъекта. Альтернативно настоящее изобретение обеспечивает твердофазный лиганд-модифицированный полиоксогидроксидный материал с ионами металла, который получают описанными в данном изобретении способами для доставки иона металла в организм субъекта.

Примеры применения описанных здесь твердофазных лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами металла включают, в частности, но без ограничения биологически активные минеральные добавки и фортификанты; терапевтические минеральные добавки (например, вводимые внутривенно и перорально); лекарственные препараты, питательные вещества или косметические носители/сокомплексы; фосфатные связывающие агенты; другие связывающие или блокирующие агенты; пищевые добавки; антиперспиранты; солнцезащитные агенты; адьюванты для вакцин; иммуномодуляторные агенты; прямые косметические применения, включая отшелушивающие агенты; костные и зубные наполнители/цементы; материалы для имплантации, включая брахитерапию, а также агенты для визуализации изображения и контрастные агенты.

Далее, частные варианты реализации настоящего изобретения описаны без ограничения, со ссылками на прилагаемые фигуры и примеры.

#### **Краткое описание фигур**

Фиг. 1. Примеры влияния слабых (сукцинат, темный квадрат), средних (малат, белый круг) и сильных (мальтол, темный треугольник) лигандов на образование твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла (A) и дезагрегацию влажных твердофазных материалов в буферных растворах при pH 6 (темные столбцы) и pH 4 (серые столбцы) (B), с использованием способа, описанного в "скрининговом исследовании". Показанные отношения представляют собой отношения M:L, которые выбрали для получения материалов. Концентрация железа в исходном растворе (перед осаждением) составляла 27 мМ.

Фиг. 2. Влияние различных лигандов на процесс осаждения твердофазных лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами металла при увеличении pH, как описано в протоколе титрования: без лиганда (светлый круг), винная кислота (темный квадрат) и яблочная кислота (темный треугольник). Все препараты готовили в 50 мМ МОПС и 0,9% мас./об. NaCl. Концентрация железа в исходном растворе (перед осаждением) составляла 27 мМ.

Фиг. 3. Пример влияния изменения pH конечного раствора во время образования твердофазных лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами металла на дезагрегацию указанных влажных материалов при различных значениях pH в соответствующих буферных растворах. Материалы, а, именно FeOHM-1:2-МОПС50, получили в соответствии с протоколом приготовления, описанным в разделе "Методики", в 0,9% мас./об. NaCl и при конечном значении pH 6 (серые столбцы), pH 7 (заштрихованные столбцы) или pH 8 (темные столбцы). Полученный процент осаждения составил 10, 30 и 48% соответственно. Концентрация железа в исходном растворе (перед осаждением) составляла 27 мМ.

Фиг. 4. Пример влияния присутствия электролита при приготовлении твердофазных лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов на дезагрегацию материала при четырех различных значениях pH в указанных буферных растворах. Материалы получили в соответствии с протоколом приготовления, описанным в разделе "Методики", и высушили в печи. Материалы, а, именно, FeОНТ-

4:1-МОПС50, приготовили при pH конечного раствора 6.5 и получили в отсутствие электролита (серые столбцы, n=2) или в присутствии 0.9% масса/объем NaCl (заштрихованные столбцы, n=1); полученное процентное осаждение составляло 97% и 98%, соответственно (A). Материал, а, именно, FeOHT-2:1-Ниацин50, приготовили при pH конечного раствора 3.2 при отсутствии электролита (серые столбцы, n=2) или в присутствии 0,9% мас./об. KCl (темные столбцы, n=2); полученное процентное осаждение составляло 88 и 91% соответственно (B).

Концентрация железа в исходном растворе (перед осаждением) составляла 27 mM.

Фиг. 5. Пример влияния сушки твердофазных лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами металла на их дезагрегацию при четырех различных значениях pH в указанных буферных растворах. Материалы, а, именно, FeOHT-4 : 1-МОПС50, получили в соответствии с протоколом приготовления, описанным в разделе "Методики" при pH конечного раствора 6.5 при отсутствии электролита. Полученное процентное осаждение составляло 97%. Твердую фазу разделили на три аликвоты и высушили в печи (серые столбцы, n=2), высушили замораживанием (темные столбцы, n=2) или использовали влажной (заштрихованные столбцы, n=2). Примечание: в некоторых случаях значение погрешности было слишком малым для отображения. Данные, представленные в серых столбцах, были показаны выше на фиг. 4А. Концентрация железа в исходном растворе (перед осаждением) составляла 27 mM.

Фиг. 6. Пример влияния "лиганда В" на процесс осаждения твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла при увеличении pH в присутствии (1) или отсутствии (2) "лиганда А", - винной кислоты, при отношении M:L<sub>A</sub> 4:1. Используемый "лиганд В" представлял собой 50 mM адипиновой кислоты (квадраты) или 50 mM МОПС (треугольники). Все титрования осуществляли в соответствии с протоколом, описанным в разделе "Методики", при отсутствии электролита. Концентрация железа в исходном растворе (перед осаждением) составляла 27 mM.

Фиг. 7. Пример влияния лиганда В на дезагрегацию высушенных в печи твердофазных лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами металла в четырех различных буферных растворах. Тартрат-модифицированные полиоксогидроксидные материалы с ионами трехвалентного железа при отношении M:L<sub>A</sub> 4:1 с тартратом в качестве лиганда А (L<sub>A</sub>) приготовили в присутствии других лигандов В, которые представляли собой 50 mM МОПС (серые столбцы, n=2), 20 mM бензойной кислоты (темные столбцы, n=3) или 50 mM ниацина (заштрихованные столбцы, n=3) в соответствии с протоколом получения, описанным в разделе "Методики", при отсутствии электролита. Полученное процентное осаждение составляло 97, 94 и 100% соответственно. Примечание: в некоторых случаях значения погрешности были слишком малыми для отображения. Данные, указанные в серых столбцах, были представлены ранее на фиг. 4А и 5.

Фиг. 8. Энергодисперсионный рентгеновский микроанализ (energy dispersive X-ray microanalysis, EDX) лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла (FeOHT-3:1-Ad20) показывает, что материал, в основном состоит из Fe и O с внедрением С с очень малыми добавками Na и Cl из применяемого электролита (сигнал Си вызван поддерживающей сеткой).

Фиг. 9. Типичные инфракрасные спектры твердофазного оксогидроксида трехвалентного железа (А), тартрат-модифицированного оксогидроксида трехвалентного железа (В) (т.е., лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала; FeOHT-4:1) и винной кислоты (С). Полоса, соответствующая участку C=O винной кислоты (1712 cm<sup>-1</sup> в спектре С) замещена двумя полосами (1356 и 1615 cm<sup>-1</sup> в спектре В), что указывает на присутствие связи между карбоксилатной группой винной кислоты и железом в материале FeOHT-4:1. Следует отметить также присутствие широкой полосы около 3350 cm<sup>-1</sup>, вызванной участком - OH в спектрах А и В.

Фиг. 10. Процентная доля распада железа (без ультрафильтрации, А) и растворения (с ультрафильтрацией, В) после симулированного прохождения через желудок в течение указанного времени. Известные вещества показаны темными символами, а именно: оксогидроксид трехвалентного железа (темные квадраты), мальтофер (темные круги), сульфат железа (темные треугольники). Лицанд-модифицированные полиоксогидроксидные материалы с ионами металла согласно настоящему изобретению показаны светлыми символами, а именно, FeOHT-3:1-Ad20 (светлые ромбы) и FeOHM-4:1-Bic25 (светлые треугольники). Погрешности показаны через стандартные отклонения (следует отметить, что в некоторых случаях значения погрешности были слишком малыми для отображения).

Фиг. 11. Сканирующая просвечивающая электронная микроскопия с коррекцией aberrации, с высоким углом обзора в круговом темном поле (superSTEM) и с высоким разрешением изображения показывает, что упорядоченные кристаллические области реже заметны в лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалах с ионами металла согласно настоящему изобретению (например, FeOH-TRP15 (В) и особенно – в FeOHT-2:1-TRP15 (С)), по сравнению с участками аналогичного размера немодифицированного оксогидроксида трехвалентного железа (А).

Фиг. 12. Дифракционная рентгенограмма мальтофера (А) и лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла FeOHT-3:1-Ad20 (В), четко показывающая присутствие кристаллической структуры оксогидроксида железа в мальтофере и слабое наличие кристаллической структуры в FeOHT-3:1-Ad20, не считая совместно осажденного электролита - хлорида натрия. Под каждым графиком для большей ясности показаны реперные линии для оксида железа и хлорида натрия.

Фиг. 13. Примеры повышения содержания железа в сыворотке крови (А) и процентная доля абсорбции железа (В) у испытуемых добровольцев после приема внутрь сульфата железа, оксогидроксида трехвалентного железа или различных твердофазных лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами трехвалентного железа. А: сульфат железа (светлые треугольники, n=30); FeOHT-3:1-Ad20 (символ +, n=4); FeOHT-2:1-TRP15 (символ -, n=4); FeOH-адипат100 (символ ×, n=2); FeOH-Гистидин100 (темные квадраты, n=2); FeOHM-4:1-Bic25 (светлые квадраты, n=3); FeOH-Глюконат20 (темные треугольники, n=3); FeOHT-2:1-Ниацин50 (светлые круги, n=3); FeOH (темные круги, n=2). В: процентная доля абсорбции железа (рассчитано как содержание  $^{58}\text{Fe}$  в красных кровяных тельцах, деленное на 0.80) из оксогидроксида трехвалентного железа или твердофазных лиганд-модифицированных полиоксо-гидроксидных материалов с ионами трехвалентного железа согласно настоящему изобретению (темные столбцы) по сравнению с расчетной абсорбцией железа из сульфата железа для той же самой группы участников исследования (светлые столбцы). Погрешности выражены через стандартную погрешность среднего. Количество пар сравнения изменялось от 2 до 4 за исключением сульфата железа в группе FeOH-Гистидин100, где была всего одна пара.

Фиг. 14. Выделение железа во время симулированного прохода через желудок и двенадцатиперстную кишку (А) для известных соединений: пирофосфата железа (темные ромбы), хлорида железа (темные квадраты), три-мальтотола трехвалентного железа (темные треугольники), бисглицинат железа (светлые квадраты); и (В) для ряда соединений, результаты исследований *in vivo* которых приведены на фиг. 13: сульфат железа (светлые квадраты), FeOHT-3:1-Ad20 (светлые ромбы) и FeOHM-4:1-Bic25 (темные круги). Детали протокола указаны в разделе "Методики" для исследования с желудочно-кишечным трактом *in vitro*.

Фиг. 15. Примеры влияния различных лигандов при различных отношениях M:L на процентную долю выделения железа (А) и на процентную долю растворения железа (В) твердофазных лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами металла после инкубации в течение 30 мин при pH 1.2 в желудочной среде (темные столбцы, n=3) или в течение 60 мин при pH 7.0 в кишечной среде (светлые столбцы, n=3); погрешности представляют собой стандартные отклонения.

Фиг. 16. Процесс образования лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами трехвалентного железа, а, именно, FeOHT-2:1-Ad20, при увеличении pH, как описано в протоколе титрования в разделе "Методики", выраженный как суммарная процентная доля железа в исходном растворе. Процентная доля железа в агрегированном материале показана темными треугольниками, а процентная доля железа в агрегированном и гидратированном дисперсном материале показана темными квадратами. Примечание: остальная часть железа (т.е., железо, которое не находится в агрегированной или гидратированной дисперсной форме) содержится в растворимой фазе.

Фиг. 17. Пример влияния лиганда, отношения M:L и pH образования конечного раствора на дезагрегацию тартрат-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами трехвалентного железа с использованием модифицированного *in vitro* анализа переваривания в желудочно-кишечном тракте, описанного в разделе "Методики". Столбцы показывают распределение размера частиц дезагрегированных материалов как процентную долю суммарного железа в твердой фазе. Размеры фракций составляли < 5 нм (заштрихованный участок), 5-20 нм (серый участок), 20-300 нм (черный участок) и 1-10 мкм (белый участок).

#### Подробное описание

Ион металла (M). Твердые лиганд-модифицированные полиоксогидроксидные материалы с ионами металла могут быть описаны формулой  $(\text{M}_x\text{L}_y(\text{OH})_n)$ , где M представляет собой один или более ионов металла. Обычно ион металла первоначально имеет форму соли, которую при изготовлении материалов можно растворить, а затем индуцировать для образования полиоксогидроксидных сокомплексов с лигандом (L), некоторые из которых интегрируются в твердую фазу посредством непосредственного образования M-L-связи, т.е. не весь лиганд (L) просто захватывается или адсорбируется массой материала. Связывание иона металла в указанных материалах можно определить методами физического анализа, в частности, методом инфракрасной спектроскопии, где спектры имеют пики, характерные для связей между ионом металла и лигандом (L), а также пики, характерные для других связей, присутствующих в материале, в частности, M-O, O-H и связей в лигандах (L). Предпочтительные ионы металла (M) биологически совместимы при условиях использования материалов и легко осаждаются из водного раствора с образованием оксогидроксидов. Примеры таких ионов металла включают ионы железа, кальция, магния, цинка, меди, марганца, хрома и алюминия. Особенно предпочтительным ионом металла является ион трехвалентного железа ( $\text{Fe}^{3+}$ ).

Что касается описанных в данной заявке композиций трехвалентного железа, то наличие непосредственного образования связи является одним аспектом, который главным образом отличает эти материалы от других продуктов, в частности от полимальтозы железа (мальтотифера), в которых дисперсный кристаллический оксогидроксид железа окружен сахарной оболочкой, полученной из мальтозы и, следовательно, представляет собой просто смесь оксогидроксида железа и сахара наnanoуровне (Heinrich (1975); Geisser and Müller (1987); Nielsen et al. (1994; US Patent No: 3076798); US20060205691). Кроме того, мате-

риалы согласно настоящему изобретению представляют собой полиоксогидроксиды металлов, модифицированные путем нестехиометрического введения лигандов, поэтому их не следует путать с многочисленными металло-лигандными комплексами, которые хорошо описаны в литературе (например, см. WO 03/092674, WO 06/037449). Являясь, как правило, растворимыми, такие комплексы, тем не менее, могут осаждаться из раствора в точке пересыщения, например тримальтол трехвалентного железа, Harvey et al. (1998), WO 03/097627; цитрат трехвалентного железа, WO 04/074444 и тартрат трехвалентного железа, Bobtelsky и Jordan (1947), а в отдельных случаях могут даже содержать стехиометрическое соединение гидроксильных групп (например, гидроксид трехвалентного железа сахарид, патент США № 3821192). Применение гидроксильных групп для уравновешивания заряда и геометрии металло-лигандных комплексов хорошо описано в литературе (например, малат гидроксида железа, WO 04/050031) безотносительно описанных в данной заявке твердофазных лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами металла.

При отсутствии модификации первичные частицы материалов согласно настоящему изобретению имеют ядро из оксида металла и поверхность из гидроксида металла, при этом в различных областях науки и техники их могут называть оксидами металлов или гидроксидами металлов. Применение термина "оксогидрокси" или "оксогидроксид" указывает на эти факты, не уточняя соотношений оксо- или гидроксидных групп. Поэтому в равной степени можно было бы использовать термин гидроксиоксид. Как описано выше, материалы согласно настоящему изобретению изменены на уровне первичной частицы оксогидроксида металла посредством введения в структуру указанной первичной частицы по меньшей мере одного лиганда L, т.е. в результате легирования или загрязнения первичной частицы лигандом L. Этот процесс может существенно отличаться от образования наносмесей оксогидроксидов металла и органической молекулы, в частности железосахаридных комплексов, в которых структура первичных частиц не изменяется.

Первичные частицы описанных в данной заявке лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов получают способом, который называют осаждением. Применение термина "осаждение" часто связывают с образованием агрегатов материалов, которые действительно отделяются от раствора путем седиментации или центрифугирования. В данном случае термин "осаждение" описывает образование всего твердофазного материала, включая агрегаты, как описано выше, и твердофазные материалы, которые не агрегируют, однако остаются нерастворимыми компонентами в суспензии, независимо от того, являются ли они макрочастицами, коллоидными или субколлоидными частицами (т. е., наночастицами). Эти последние твердофазные материалы могут называться также гидратированными твердыми частицами.

Настоящее изобретение относится к модифицированным оксогидроксидам металлов, имеющим полимерные структуры, которые обычно образуются при pH, превышающих критическое значение осаждения. В контексте данного изобретения это не следует понимать как указание на то, что структуры материалов является полимерными в строгом смысле регулярно повторяющейся мономерной единицы, поскольку, как было установлено, введение лиганда за исключением случайных совпадений является нестехиометрическим. Лицанд вводят в твердофазную структуру путем замещения оксо- или гидроксидной группы, что приводит к изменению упорядоченности твердой фазы. В некоторых случаях, например, при получении материалов, содержащих ионы трехвалентного железа и указанных здесь в качестве примеров, лиганд L можно вводить в твердофазную структуру путем замещения оксо- или гидроксидных групп молекулами лиганда таким способом, который снижает общую упорядоченность твердофазного материала. Хотя образующиеся при этом твердофазные лиганд-модифицированные полиоксогидроксидные материалы с ионами металла в общей форме обладают одним или более воспроизводимыми физико-химическими свойствами, эти материалы имеют более аморфную природу по сравнению, например, со структурой соответствующего оксогидроксида металла. Специалисты в данной области техники могут легко определить присутствие более разупорядоченной или аморфной структуры, используя хорошо известные способы. Примером такого способа является дифракция рентгеновских лучей (X-ray diffraction, XRD), которая позволяет получать дифракционную рентгенограмму для материалов, содержащих трехвалентное железо, примеры которых приведены в данном описании, с плохо идентифицируемыми пиками L или MO/MOH, при этом XRD основана на регулярном расположении атомов, которые отклоняют рентгеновские лучи и создают рентгенограмму.

Альтернативно или дополнительно уменьшение кристалличности структуры материала можно определить способом просвечивающей электронной микроскопии высокого разрешения. Просвечивающая электронная микроскопия высокого разрешения позволяет визуально оценить кристаллическую структуру материала. Она дает возможность определить размер первичных частиц и структуру (в частности, d-параметр решетки) и получить определенную информацию о распределении аморфного и кристаллического материала. При применении этого способа очевидно, что описанные выше химические процессы повышают содержание аморфной фазы материалов согласно настоящему изобретению по сравнению с соответствующими материалами без внедренного лиганда. Это может стать особенно очевидным при использовании сканирующей просвечивающей электронной микроскопии с коррекцией aberrации, с высоким углом обзора в круговом темном поле и с высоким разрешением изображения, благодаря высокой

контрастности, которая достигается при сохранении разрешения, что позволяет визуализировать как поверхность, так и объем первичных частиц материала. Воспроизведенное физико-химическое свойство или характеристика материалов согласно настоящему изобретению зависит от предполагаемого применения материала. Примеры свойств, которые можно с пользой модулировать, применяя настоящее изобретение, включают: растворимость (скорость, зависимость от pH и рМ), дезагрегацию, адсорбционные и абсорбционные характеристики, реакционную способность-инертность, точку плавления, термостойкость, размер частиц, магнетизм, электрические свойства, плотность, светопоглощающие/отражающие свойства, твердость-мягкость, цвет и инкапсуляционные свойства. Примерами свойств, особенно характерных для пищевых добавок, фортификантов и минеральных терапевтических средств, являются физико-химические свойства, одно или более из которых выбирают из группы, включающей профиль растворения, профиль адсорбции или воспроизведенное элементное отношение. В данном контексте свойство или характеристика могут считаться воспроизведенными, если результаты повторных опытов воспроизведены в пределах стандартного отклонения, предпочтительно  $\pm 10\%$ , более предпочтительно  $\pm 5\%$  и еще более предпочтительно - в пределах  $\pm 2\%$ .

Профиль растворения твердофазных лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами металла согласно настоящему изобретению можно представить через различные стадии процесса, а именно, дезагрегацию и растворение. Термин "растворение" используют для описания перехода вещества из твердой фазы в растворимую фазу. Более конкретно, дезагрегация описывает переход материалов из твердой агрегированной фазы в гидратированную фазу, которая представляет собой совокупность растворимой фазы и гидратированной корпуксуллярной фазы (т.е. фаза раствора плюс фаза суспензии). Таким образом, термин "растворение" отличается от термина "дезагрегация" тем, что более конкретно представляет переход из какой-либо твердой фазы (агрегированной или гидратированной) в растворимую фазу.

Предпочтительные конкретные примеры ионов металла (M) включают, в частности, но без ограничения, металлы группы 2, 3 и 5 Периодической таблицы, переходные металлы, тяжелые металлы и лантаноиды. Примеры включают, в частности, но без ограничения:  $\text{Ag}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Au}^{3+}$ ,  $\text{Be}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{V}^{5+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Zr}^{2+}$ . Кроме того, многие из этих катионов металлов могут иметь различные степени окисления, поэтому следует учитывать, что эти примеры не ограничиваются указанными валентностями. Во многих случаях твердофазные лиганд-модифицированные полиоксогидроксидные материалы с ионами металлов согласно настоящему изобретению содержат ион металла одного вида, например  $\text{Fe}^{3+}$ .

#### Лиганд (L)

В твердофазных лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалах с ионами металла, описанных формулой  $(\text{M}_x\text{L}_7(\text{OH})_n)$ , L представляет собой один или более лигандов или анионов, в частности, первоначально - в его протонированной форме или в соединении со щелочным металлом, которые можно ввести в указанный твердофазный лиганд-модифицированный полиоксогидроксидный материал с ионами металла. Обычно это делают для того, чтобы получить модификацию физико-химического свойства твердофазного материала, например, по сравнению с поликсогидроксилированным материалом с ионами металла, в котором лиганда отсутствуют. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения лиганда L могут также обладать определенной буферной емкостью. Примеры лигандов, которые можно применять согласно настоящему изобретению, включают, в частности, но без каких-либо ограничений: карбоновые кислоты, в частности адипиновую кислоту, глутаровую кислоту, винную кислоту, яблочную кислоту, янтарную кислоту, аспарагиновую кислоту, пимелиновую кислоту, лимонную кислоту, глюконовую кислоту, молочную кислоту или бензойную кислоту; пищевые добавки, в частности мальтоза, этилмальтоза или ванилин; "классические анионы" с лигандными свойствами, в частности бикарбонат, сульфат и фосфат; минеральные лиганда, в частности силикат, борат, молибдат и селенат; аминокислоты, в частности триптофан, глутамин, пролин, валин или гистидин; и лиганда на основе питательных веществ, в частности фолат, аскорбат, пиридоксин или ниацин. Обычно лиганда можно определяют в данной области техники по высокому сродству к определенному иону металла в растворе или по низкому сродству, или же они вообще не могут выступать в качестве лиганда для данного иона металла. Однако авторы настоящего изобретения установили, что в поликсогидроксидных материалах с ионами металла лиганда могут играть определенную роль независимо от наблюдаемого недостатка активности в растворе. Обычно для получения этих материалов применяют два лиганды с различным сродством к иону металла, хотя в определенных вариантах реализации можно применять один, два, три, четыре или более лигандов.

Для многих областей применения лиганда должны быть биологически совместимыми при условиях использования и обычно содержат один или более атомов с одной парой электронов в точке реакции. Лиганда включают анионы, слабые лиганда и сильные лиганда. Во время реакции лиганда могут проявлять определенную характерную буферную емкость. Не желая быть связанными каким-либо частным объяснением, авторы настоящего изобретения полагают, что лиганда имеют два типа взаимодействия: (a) замещение гидроксидных групп и, следовательно, внедрение в материал с практически ковалентным

характером и (б) неспецифическая адсорбция (образование ионных пар). Эти два типа, вероятно, относятся к различному сродству металл-лиганд (т.е. сильные лиганды для первых и слабые лиганды/анионы для последних). В нашей текущей работе имеются некоторые свидетельства того, что эти два типа лигандов проявляют синергизм при модулировании характеристик растворения материалов и, вероятно, поэтому - в определении других характеристик материала. В этом случае используют два типа лигандов, и по меньшей мере один из них (типа (а)) наглядно показывает связывание с металлом в материале. На эффективность лигандов, в особенности, вероятно, лигандов типа (б), могут оказывать влияние другие компоненты системы, в частности электролит.

Отношение количества ионов металла и лигандов ( $L$ ) также является параметром твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла, которое можно изменять описанными в данном изобретении способами с целью изменения свойств материалов. В общем случае полезные отношения  $M:L$  должны составлять между 10:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1 и 1:1 и 1:2, 1:3, 1:4, 1:5 или 1:10.

### **Гидроксо- и оксогруппы**

В настоящем изобретении можно применять любой способ получения гидроксидных ионов при концентрациях, которые могут обеспечивать гидроксидные поверхностные группы и оксомостиковые связи при образовании этих полиоксогидроксидных материалов. Примеры включают, в частности, но без ограничения, растворы щелочей, в частности гидроксида натрия, гидроксида калия и бикарбоната натрия, которые добавляют для увеличения  $[OH]$  в смеси  $ML$ , или растворы кислот, в частности, минеральных кислот или органических кислот, которые добавляют для увеличения  $[H]$  в смеси  $ML$ .

### **Условия проведения процесса**

Точные условия смешивания и осаждения твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла согласно настоящему изобретению изменяют в зависимости от желательных характеристик твердофазного материала. Типичными переменными являются следующие параметры.

(1) Начальное значение  $pH$  (т.е. значение  $pH$ , при котором смешивают  $M$  и  $L$ ). Эта величина всегда отличается от значения  $pH$ , при котором начинается оксогидроксидная полимеризация. Предпочтительным является более кислотное значение  $pH$  и более предпочтительно - ниже  $pH 2$ .

(2) Значение  $pH$ , при котором начинается оксогидроксидная полимеризация. Она всегда отличается от начальной величины  $pH$ . Предпочтительным является менее кислотное значение  $pH$  и более предпочтительно - выше  $pH 2$ .

(3) Конечное значение  $pH$ . Она всегда способствует осаждению и может способствовать агломерации твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла и предпочтительно имеет более высокое значение, чем значение  $pH$ , при котором начинается оксогидроксидная полимеризация. Для специалистов в данной области техники очевидно, что при наличии разности между величиной  $pH$  начала оксогидроксидной полимеризации и конечной величиной  $pH$  можно добавлять  $M$ ,  $L$ ,  $OH^-$ ,  $H^+$ , наполнители или другие вещества перед получением конечной величины  $pH$ .

(4) Скорость изменения  $pH$  от начала оксогидроксидной полимеризации до завершения реакции. Этот процесс происходит в течение 24 ч, предпочтительно в течение одного часа и наиболее предпочтительно в течение 20 мин.

Концентрации  $M$  и  $L$ . В то время как концентрация  $OH$  устанавливается величиной  $pH$  во время оксогидроксидной полимеризации, концентрации всех  $M$  и всех  $L$  в системе зависят от их исходных количеств в смеси  $ML$  и объема конечного раствора. Обычно эта концентрация превышает  $10^{-6}$  г молекул для  $M$  и  $L$  и более предпочтительно превышает  $10^{-3}$  Моль. Концентрации  $M$  и  $L$  не зависят друг от друга. Их выбирают для получения одной или более желательных характеристик конечного материала и, в частности, таким образом, чтобы концентрация  $M$  не была слишком высокой, в противном случае оксогидроксидная полимеризация будет происходить слишком быстро и препятствовать внедрению  $L$ . Аналогично этому концентрация  $L$  не должны быть слишком высокой, чтобы не препятствовать металлооксогидроксидной полимеризации. Так, например, лиганд-модифицированные полиоксогидроксидные материалы, в которых  $M$  представляет собой ион трехвалентного железа, получают предпочтительно при концентрации железа в начальном растворе ниже 300 мМ и наиболее предпочтительно - 200 мМ, что обеспечивает диапазон концентраций трехвалентного железа от 1 до 300 мМ, более предпочтительно от 20 до 200 мМ и наиболее предпочтительно примерно 40 мМ.

(5) Жидкая фаза. Предпочтительным растворителем для данной работы является водный растворитель и наиболее предпочтительно вода.

(6) Буфер. В раствор можно добавлять буфер, чтобы способствовать стабилизации диапазона  $pH$  при оксогидроксидной полимеризации. Буферные растворы могут быть неорганическими или органическими, и в некоторых вариантах реализации они не участвуют в непосредственном образовании связи с ионами металла  $M$  твердофазного материала.

Альтернативно один или более лигандов  $L$ , участвующих в непосредственном образовании связи с ионами металла  $M$  твердофазного материала, может иметь определенную буферную емкость, что дополнительно способствует получению желаемого состава конечного материала. Концентрации буферных

растворов составляют менее 500 мМ, предпочтительно менее 200 мМ и наиболее предпочтительно менее 100 мМ.

(7) Температура. Предпочтительная температура лежит в пределах от 0 до 100°C, обычно - от температуры помещения (20-30°C) до 100°C, наиболее предпочтительно температура равна температуре помещения.

(8) Ионная сила. В указанном процессе можно применять электролит, в частности, но без ограничения, хлорид калия и хлорид натрия. При этом ионная сила раствора может изменяться в зависимости от компонентов и условий, указанных выше в пп.(1)-(8) или от дальнейшего добавления электролита, который может составлять до 10% (мас./об.), предпочтительно до 2% и наиболее предпочтительно <1%.

(9) Степень смешивания компонентов. Этот параметр относится главным образом к степени перемешивания компонентов, при этом исходные растворы (т.е. M, L и буфер) предпочтительно быстро смешивать и поддерживать гомогенными на протяжении всего процесса.

Для специалистов в данной области техники очевидно, что, хотя вышеуказанные параметры могут полностью регулировать физико-химическую природу осадка, другие параметры, в частности система отбора и/или наполнители, применяемые для извлечения осадка и способные вызывать целенаправленное ингибирование его агломерации, его сушка и помол, могут далее также влиять на свойства материала. Однако эти параметры являются общими для любой системы экстракции твердой фазы из жидкой фазы. После отделения осажденного материала его можно высушить перед последующим приготовлением состава. Однако высушенный продукт может сохранять некоторое количество воды и находиться в форме гидратированного твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла. Для специалистов в данной области техники очевидно, что на любой описанной здесь стадии извлечения твердой фазы можно добавлять наполнители, которые смешиваются с лиганд-модифицированным полиоксо-гидроксидным материалом с ионами металла, однако не модифицируют первичные частицы и используются для оптимизации состава с учетом предполагаемой функции материала. Примерами таких наполнителей могут служить, в частности, но без ограничения, гликолипиды, фосфолипиды (например, фосфатидилхолин), сахара и полисахариды, сахарные спирты (например, глицерин), полимеры (например, полиэтиленгликоль (PEG)) и таурохолевая кислота.

### **Препараты и их применение**

Твердофазные материалы согласно настоящему изобретению можно приготовить для различных биологических применений, включая препараты для применения в качестве фармацевтических, пищевых, косметических композиций или в составах для личной гигиены. Композиции согласно настоящему изобретению кроме одного или более твердофазных материалов могут содержать фармацевтически приемлемый наполнитель, носитель, буфер, стабилизатор или другие материалы, хорошо известные специалистам в данной области техники. Такие материалы должны быть нетоксичными и не должны ухудшать эффективность соответствующего применения твердофазных материалов.

Точная природа носителя или иного компонента может быть связана со способом или путем введения композиции. Такие композиции можно доставлять различными способами, включая, в частности, но без ограничения: доставку через желудочно-кишечный тракт, в том числе перорально и ректально; парентеральную доставку, в том числе инъекцию; трансдермальную доставку, в том числе при помощи пластырей, кремов и т.п.; трансмукозальную доставку, в том числе трансназальную, посредством ингаляции и пессария; или путем имплантата в специфических участках, включая протезы, которые можно применять для этой цели или, главным образом, для другой цели, но с такой же пользой.

Фармацевтические композиции для перорального введения могут быть в форме таблетки, капсулы, порошка, геля или жидкости. Таблетка может содержать твердофазный носитель, в частности желатин или адьювант. Капсулы могут иметь специальные свойства, в частности энтеросолюбильное покрытие. Жидкие фармацевтические композиции, как правило, включают жидкий носитель, в частности воду, вазелин, животные или растительные масла, минеральное масло или синтетическое масло. Могут быть включены также физиологический раствор, раствор декстрозы или другого сахарида или гликоли, в частности этиленгликоль, пропиленгликоль или полиэтиленгликоль. Если твердофазный лиганд-модифицированный полиоксогидроксидный материал необходимо поддерживать в твердой форме, например, для регулирования доставки компонента материала, может оказаться необходимым выбирать компоненты препарата соответствующим образом, например, в тех случаях, когда готовят жидкий препарат материала согласно настоящему изобретению.

Для внутривенной, чрескожной или подкожной инъекции или инъекции в место поражения активный ингредиент имеет форму парентерально приемлемого водного раствора или суспензии, которые являются апирогенными и имеют соответствующие pH, изотоничность и стабильность. Специалисты в данной области техники могут легко приготовить пригодные растворы, используя, например, изотонические среды, в частности раствор хлорида натрия для инъекций, раствор Рингера для инъекций или лактатный раствор Рингера для инъекций. По мере необходимости могут быть включены консерванты, стабилизаторы, буферы, антиоксиданты и/или другие добавки.

Материалы и композиции, применяемые согласно настоящему изобретению и предназначенные для индивидуума, предпочтительно вводят в количестве "профилактически эффективной дозы" или "тера-

певтически эффективной дозы" (в некоторых случаях, хотя профилактику можно считать терапией), это является достаточным, чтобы показать полезность для индивидуума (например, биологическую ценность). Фактически вводимая доза, скорость и динамика введения зависят от природы и тяжести заболевания, подвергаемого лечению. Режим лечения, например решение о дозировании и т.п., определяет лечащий врач и другие специалисты в области нарушения учетом нарушения, подвергаемого лечению, состояния конкретного пациента, места доставки, способа введения и других факторов, известных практикующим врачам. Примеры соответствующих способов и протоколов можно найти в работе Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th Edition, 2000, Lippincott, Williams & Wilkins. Композицию можно вводить отдельно или в комбинации с другими лечебными средствами, одновременно или последовательно, в зависимости от патологического состояния, подвергаемого лечению.

Примеры применения описанных в данном изобретении твердофазных лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами металла включают, в частности, но без ограничения: биологически активные минеральные добавки и фортификанты; терапевтические минеральные добавки (например, вводимые внутривенно и перорально); лекарственные препараты, питательные вещества или косметические носители/сокомплексы; фосфатные связывающие агенты; другие связывающие или блокирующие агенты; пищевые добавки; антиперспиранты; солнцезащитные агенты; адьюванты для вакцин; иммуномодуляторные агенты; прямые косметические применения, включая отшелушивающие агенты; костные и зубные наполнители/цементы; материалы для имплантации, включая брахитерапию, а также агенты для визуализации изображения и контрастные агенты.

Лиганд-модифицированные полиоксогидроксидные материалы можно применять в качестве добавок для пищевых или медицинских целей. В этой области применения можно привести три основных примера.

(1) Терапевтические (прописанные) добавки, которые, как правило, вводят перорально или внутривенно для лечения показаний, включая железодефицитную анемию, дефицит железа и анемию хронических заболеваний. Терапевтическое введение материалов согласно настоящему изобретению может сочетаться с другими лечебными средствами и, в частности, с сопутствующим применением эритропоэтина.

(2) Пищевые (приобретаемые без рецепта) добавки, которые обычно предназначены для пероральной доставки.

(3) Фортификанты. Они могут иметь традиционные формы, будучи добавленными в пищевые продукты перед приобретением, или более поздние формы, в частности, "присыпки", которые добавляют в пищу (как соль или перец) во время еды.

Для всех форм, но особенно для фортификантов может оказаться необходимой последующая обработка, в частности, добавление защитного покрытия (например, липидного), чтобы обеспечить совместимость материала с предполагаемым применением. Кроме того, все эти формы добавок можно получать в виде комбинаций, путем применения комбинаций материалов в качестве лигандов или посредством заключения в оболочку/инкапсулирования указанных материалов или просто путем совместной доставки указанных материалов.

Как указано в данном описании, одним из конкретных вариантов применения твердофазных лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами металла согласно настоящему изобретению является лечение недостаточности минеральных элементов, например дефицита железа. В альтернативном варианте применения эти материалы можно применять для связывания или блокирования определенного компонента, присутствующего в организме индивидуума. Так, например, композиции трехвалентного железа, описанные в данном изобретении, можно применять для доставки железа в организм индивидуума с целью профилактики или лечения дефицита железа или железодефицитной анемии, которые можно предполагать или диагностировать при помощи стандартных гематологических и клинических химических методов. Дефицит железа и железодефицитная анемия могут возникать изолированно, например, вследствие неадекватного питания или чрезмерной потери железа, или они могут быть связаны со стрессами, в частности с беременностью или лактацией, или с заболеваниями, в частности с воспалительными нарушениями, раком и почечной недостаточностью. Кроме того, имеются свидетельства того, что снижение эритропоэза, связанное с анемией хронических болезней, может быть улучшено или скорректировано эффективной системной доставкой железа и что совместная доставка железа с эритропоэтином или его аналогами может быть особенно эффективной для лечения пониженной эритропоэтической активности. Таким образом, в качестве следующего примера, композиции трехвалентного железа, согласно настоящему изобретению, можно применять для доставки железа индивидууму с целью лечения субоптимальной эритропоэтической активности, в частности, при анемии хронических болезней. Анемия хронических болезней может быть связана с патологическими состояниями, в частности, с почечной недостаточностью, раком и воспалительными нарушениями. Как указано выше, дефицит железа может также возникать при этих нарушениях, следовательно, лечение путем введения железосодержащих добавок может быть показано при дефиците железа самом по себе и/или анемии при хронических болезнях.

Для специалистов в данной области техники очевидно, что приведенные выше примеры применения железосодержащих добавок в медицинских целях не являются ограничительными в какой-либо степени.

## Описание экспериментов

### Введение

Неорганические материалы на минеральной основе широко используют в биологических целях для получения пищевых добавок, агентов, связующих фосфаты, антиокислителей, иммунных адьювантов (квасцов) и антиперспирантов (квасцов). Их часто получают в форме комбинаций для того, чтобы несколько изменять физико-химические свойства минералов, в частности скорости растворения и/или дезагрегации, с целью повышения их эффективности. Нами, однако, разработан способ, который позволяет модифицировать фактическую структуру на уровне первичной частицы (первичного элемента в структуре кристаллической решетки в оксидных/гидроксидных минералах). Такое нано-структурообразование может приводить к основательным изменениям характеристик минералов и обеспечивать получение минералов с точно заданными физико-химическими характеристиками. При этом указанный способ является дешевым и его по мере необходимости можно применять в крупных масштабах. Все модифицирующие агенты являются биологически совместимыми лигандами, пригодными для употребления в пищу, и обеспечивают быстрое введение новых материалов в организм человека. Примерами таких материалов являются новый класс железосодержащих добавок, которые можно вводить парентерально или перорально в терапевтических целях, а также широко распространенные фортификанты и биологически активные добавки.

Относительно добавок авторы настоящего изобретения полагают, что их желательным свойством является изменение скорости абсорбции питательного вещества, которая наблюдается для того же самого питательного вещества при его приеме в пищу. Так, например, в случае железа скорость абсорбции пищевого железа можно регулировать при помощи скорости растворения железа. В приведенных далее примерах авторы настоящего изобретения получили ряд различных твердофазных лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами металла, используя способ согласно настоящему изобретению, для выявления композиций, которые выделяют железо регулируемым образом. Цель заключается в том, чтобы скорость растворения позволила ионам трехвалентного железа перейти в редуктазу слизистой оболочки (DcytB) таким образом, чтобы предотвратить накопление железа в желудочно-кишечном тракте или абсорбцию из болюсов в кровоток, поскольку оба эти явления не желательны. При этом композиции, содержащие ионы трехвалентного железа согласно настоящему изобретению, должны оказывать меньшие побочные эффекты на желудочно-кишечный тракт, поскольку они не подвергаются действию плавных окислительно-восстановительных циклов в кишечнике. Кроме того, существует возможность составлять композиции таким образом, чтобы обеспечить их различную растворимость при значениях pH в желудочно-кишечном тракте. Также существует возможность составлять композиции таким образом, чтобы они имели различную скорость растворения в зависимости от концентрации железа в локальном растворе (например, в кишечнике), таким образом, композиции могут "чувствовать" потребность окружающей среды в железе и, следовательно, потребность организма индивидуума в железе. Остальная неабсорбированная часть железа будет в значительной степени недоступна для неожелательной окислительно-восстановительной активности в желудочно-кишечном тракте и без ущерба перейдет в экскременты.

### Система обозначения материалов

Во всех примерах приняли систему обозначений  $\text{FeOHL}_A:i:j\text{-L}_Bk$  для описания лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами трехвалентного железа; где  $L_A$  - лиганд с более высоким сродством, а  $L_B$  - лиганд с более низким сродством в растворе к железу. Отношение  $i:j$  означает молярное отношение между железом (Fe) и лигандом A ( $L_A$ ), а  $k$  - концентрацию (мМ) лиганда B ( $L_B$ ) в растворе перед осаждением лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами трехвалентного железа. В тех случаях, когда присутствовал только слабый лиганд (лиганд B), использовали следующее обозначение:  $\text{FeOH L}_Bk$ . Например, материал, обозначенный как  $\text{FeOHT-3:1-Ad20}$  получали, используя молярное отношение 3:1 Fe к одной тартрату и концентрацию адипата 20 мМ. Концентрация железа в растворе составляла 40 мМ, если в пояснениях к фигурам не указано иного.

### Материалы

Все химикаты были приобретены у компании Sigma-Aldrich, Дорсет, Великобритания, если не указано иного. Вся лабораторно-химическая посуда была изготовлена из полипропилена. Материалы, которые использовали для получения лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами трехвалентного железа для проведения исследования *in vivo*, приготовили с химикатами пищевой марки или с химикатами фармацевтической марки также производства Sigma-Aldrich за исключением элементарного железа  $^{58}\text{Fe}$ , которое использовали для получения хлорида железа  $^{58}\text{Fe}$  и которое приобрели у компании Chemgas, Булонь, Франция.

### Методики

#### Скрининговое исследование

Для ряда пищевых лигандов провели скрининговое исследование, чтобы определить их влияние на образование твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла. Вкратце, в центрифужной пробирке смешивали фиксированный объем маточного раствора трехвалентного железа (400 мМ  $\text{FeCl}_3$  с 50 мМ МОПС, pH 1,4) с различными объемами маточного рас-

твora лиганда (400 мМ за исключением мальтола, объем которого составлял 200 мМ, плюс МОПС с 50 мМ и 0,9% NaCl), чтобы получить желаемое отношение металл:лиганд. Затем объемы одинаковым образом откорректировали, чтобы получить соответствие раствору 50 мМ МОПС и 0,9% NaCl. Все растворы, полученные на этом этапе, были полностью растворимы при pH < 2,0. Небольшую аликвоту отобрали для подтверждения начальной концентрации железа, а затем повысили pH до 6,5, добавляя по каплям концентрированный NaOH, чтобы избежать высоких изменений объема. После центрифугирования при 2500 об/мин в течение 10 мин отобрали аликвоту надосадочной жидкости для определения содержания железа, оставшегося в растворе. Остаточную надосадочную жидкость удалили, к влажному осадку в каждой пробирке добавили фиксированный объем растворенного буфера при pH 6 (МОПС 10 мМ) или pH 4 (уксусная кислота 10 мМ) и инкубировали в течение ночи при температуре окружающей среды. Затем пробирки центрифугировали (2500 об/мин в течение 10 мин) и отобрали аликвоту надосадочной жидкости для анализа железа, которое находилось в дезагрегированной форме. Концентрацию железа во всех аликвотах определяли способом оптической эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанный плазмой (ICPOES).

#### **Опыты с применением титрования**

Кислотный концентрированный маточный раствор железа (в форме хлорида железа) добавили в раствор, содержащий лиганд А, лиганд В или оба лиганда А и В с соответствующими концентрациями, чтобы получить желаемые отношения M:L. В некоторых случаях добавляли также 0,9% мас./об. электролита (например, NaCl или KCl). Раствор тщательно перемешивали и отбирали аликвоту для определения начальной концентрации железа. pH раствора постоянно составляло <2,0, и железо было полностью солюбилизовано. Затем pH медленно увеличивали, добавляя по каплям концентрированный раствор NaOH при постоянном перемешивании до тех пор, пока смесь не достигла щелочного значения pH (как правило, >8,0). В различных точках во время титрования отбирали гомогенную аликвоту (1 мл) смеси и переносили ее в пробирку Эппendorфа. Образовавшийся агрегат отделяли от раствора путем центрифугирования (10 мин при 13000 об./мин). Концентрацию железа в надосадочной жидкости определили при помощи ICPOES. В некоторых случаях надосадочную жидкость анализировали на присутствие частиц гидратированного железа и определяли распределение размера (см. ниже). В случае присутствия частиц гидратированного железа производили ультрафильтрацию надосадочной жидкости (полиэфирсульфоновая мембрана Vivaspin с границей пропускания 3000 Да, Sartorius Stedium Biotech GmbH, Геттинген, Германия) и способом ICPOES определяли концентрацию железа в фильтрате, т.е. "растворимое железо".

#### **Получение твердофазных лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами трехвалентного железа**

Материалы получили в соответствии с протоколом, аналогичным описанному выше эксперименту с применением титрования. Вкратце, кислотный концентрированный маточный раствор железа добавляли в раствор, содержащий лиганд А, лиганд В или оба лиганда А. В некоторых случаях добавляли также 0,9% мас./об. электролита. Начальное значение pH раствора постоянно составляло <2,0, и железо было полностью солюбилизовано. Затем pH медленно увеличивали, добавляя по каплям концентрированный раствор NaOH при постоянном перемешивании до тех пор, пока смесь не достигала желаемого конечного значения pH.

При получении твердофазного материала в форме осадка в пробирке всю смесь переносили в колбу центрифуги и центрифугировали при 4500 об/мин в течение 15 мин. Надосадочную жидкость удалили и агрегированную твердую фазу собрали в чашку Петри. При необходимости твердую фазу далее сушили в печи при 45°C не менее 8 ч. Альтернативно смесь (осадок и надосадочную жидкость) лиофилизовали при -20°C и 0,4 мбар.

В случае получения твердофазного материала в форме гидратированных частиц всю смесь либо лиофилизовали, как указано выше, либо концентрировали путем ультрафильтрации (полиэфирсульфоновая мембрана Vivaspin с границей пропускания 3000 Да, Sartorius Stedium Biotech GmbH, Геттинген, Германия), а затем сушили на воздухе в печи при 45°C не менее 8 ч. В некоторых случаях смесь подвергали диализу (мембрана из регенерированной целлюлозы с границей пропускания 1000 Да Spectra/pro 7, Cole-Parmer, Лондон, Великобритания) в воде для удаления избытка железа, лигандов и электролитов перед проведением сушки одним из способов, описанных выше.

При использовании бикарбоната в качестве лиганда В вносили изменение в этот протокол, чтобы исключить выделение CO<sub>2</sub> во время превращения бикарбоната при кислотном значении pH. Начальный раствор, содержащий лиганд А (если это было применимо), и бикарбонат получали при pH 8,5. Затем по каплям добавляли соответствующий объем кислотного концентрированного маточного раствора железа в сочетании с гранулами NaOH (постепенно добавляли в смесь при необходимости), чтобы постоянно поддерживать pH >7,5. Конечное значение pH препарата составляло 8,5.

#### **Исследование дезагрегации**

Известные количества твердофазных лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами трехвалентного железа поместили в пробирки (примерно 3 мг железа на пробирку). Затем добавили 3 мл буфера (см. ниже), пробирки интенсивно встряхивали и инкубировали при температуре

окружающей среды в течение ночи. После центрифугирования при 4500 об./мин в течение 15 мин для отделения агрегированной твердой фазы от гидратированной фазы отобрали аликвоту надосадочной жидкости для измерения концентрации дезагрегированного железа. Остальную надосадочную жидкость удалили. Массу остального материала (т.е., влажного осадка) зафиксировали. К этому осадку добавили концентрированную  $\text{HNO}_3$  и новую величину массы также зафиксировали. Пробирки выдержали при температуре окружающей среды до полного растворения осадка и отобрали аликвоту для определения концентрации железа во влажном осадке методом ICPOES.

Буферы представляли собой 50 мМ МОПС с 0,9% NaCl при pH 7,0; 50 мМ малеиновой кислоты с 0,9% NaCl при pH 5,8-6,0 и 1,8-2,2; 50 мМ ацетата натрия/50 мМ ледяной уксусной кислоты с 0,9% NaCl при pH 4,0-4,5.

Исследование переваривания в желудочно-кишечном тракте *in vitro*. Определенные количества твердофазных лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами трехвалентного железа или контрольных железосодержащих материалов а, именно, сульфата железа, хлорида железа или немодифицированного оксогидроксида трехвалентного железа, эквивалентные 60 мг элементарного железа, добавили в синтетический гастральный (желудочный) раствор (50 мл 2 г/л NaCl, 0,15 M HCl и 0,3 мг/мл свиного пепсина) и инкубировали при 37°C в течение 30 мин при встряхивании с поворотом.

Затем 5 мл полученной желудочной смеси добавили в 30 мл синтетического дуodenального раствора (содержащего 10 г/л сока поджелудочной железы и 2 г/л NaCl в 50 мМ бикарбонатного буфера с pH 9,5). Конечный объем составлял 35 мл, а конечное значение pH-7,0. Смесь инкубировали при 37°C в течение 60 мин при встряхивании с поворотом. Во время выполнения процесса отбирали гомогенные аликвоты (1 мл) и центрифугировали при 13000 об/мин в течение 10 мин, чтобы разделить агрегатную и гидратированную фазы. В надосадочной жидкости определяли содержание железа методом ICPOES. В конце эксперимента остаточный раствор центрифугировали при 4500 об/мин в течение 15 мин и определяли содержание железа в надосадочной жидкости методом ICPOES. Массу остаточного материала (т.е., влажного осадка) зафиксировали. К этому влажному осадку добавили концентрированную  $\text{HNO}_3$  и зафиксировали новое значение массы. Пробирки выдержали при температуре окружающей среды до полного растворения осадка и отобрали аликвоту для анализа методом ICPOES, чтобы определить количество железа, которое не дезагрегировало/растворилось. Начальное количество железа рассчитали, исходя из количества железа во влажном осадке плюс количество железа в надосадочной жидкости.

Чтобы определить отличие содержания растворимого железа и частиц гидратированного железа в надосадочной жидкости в каждый момент времени, эту фракцию также подвергали ультрафильтрации (полиэфирсульфоновая мембрана Vivaspin с границей пропускания 3000 Да, Sartorius Stedium Biotech GmbH, Геттинген, Германия) и анализировали методом ICPOES.

Желудочно-кишечное переваривание коммерчески доступных препаратов железа также определили при помощи этого исследования, используя дозу суммарного железа, рекомендованную изготовителями: пирофосфат железа 14 мг (Lipofer, Boots); бисглицинат железа 20 мг (Gentle iron, Solgar); комплекс полимальтозы и гидроксида трехвалентного железа 80 мг (мальтофер, Ferrum Hausmann); тримальтотол трехвалентного железа 30 мг (Trimaltol, Iron Unlimited).

#### **Модифицированное исследование желудочно-кишечного переваривания *in vitro***

Определили размер частиц лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами трехвалентного железа при имитированных желудочных и кишечных условиях, используя адаптированное исследование желудочно-кишечного переваривания *in vitro*, при котором в растворе отсутствовали белки. Отсутствие белков необходимо для измерения размера частиц, поскольку они мешают этому измерению, в остальном процедура была идентична исследованию желудочно-кишечного переваривания *in vitro* с дополнительным отбором аликвот в различные моменты времени для определения размера частиц.

Анализ способом оптической эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy analysis, ICPOES)

Содержание железа в растворах или твердой фазе (включая влажные осадки) измеряли при помощи прибора JY2000-2 ICPOES (Horiba Jobin Yvon Ltd., Стэнмор, Великобритания), используя характерную длину волн железа 259,940 нм. Перед анализом растворы разбавляли 5% азотной кислотой, в то время как твердую фазу обрабатывали концентрированной  $\text{HNO}_3$ . Процентное содержание железа в растворе или твердой фазе определяли по разности между начальным содержанием железа и содержанием железа в фазе раствора или в твердой фазе в зависимости от испытуемого образца.

#### **Определение размера частиц**

Распределение размера микрочастиц определяли при помощи прибора Mastersizer 2000 с дисперсионным блоком Hydro- $\mu$ P (Malvern Instruments Ltd, Мальверн, Великобритания), а наночастиц - при помощи прибора Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd, Мальверн, Великобритания). Измерения с Mastersizer не требовали предварительной обработки образцов, в то время как перед измерениями с Zetasizer необходимо центрифугирование для удаления крупных частиц.

### **Структурный анализ**

Просвечающая электронная микроскопия и энергодисперсионный рентгено-спектральный анализ (Energy Dispersive X-ray Analysis, EDX)

При анализе порошковых образцов вначале диспергировали порошок в метаноле, а затем наносили методом drop-casting на стандартные перфорированные угольные пленочные подложки для просвечающей электронной микроскопии. Аналогично анализировали коммерчески доступные таблетки, но вначале их измельчали, чтобы получить порошок. Анализ проводили в Институте исследования материалов университета Лидса, Великобритания.

### **Сканирующая просвечающая электронная микроскопия**

При анализе порошковых образцов вначале диспергировали порошок в метаноле, а затем наносили методом drop-casting на стандартные перфорированные угольные пленочные подложки для просвечающей электронной микроскопии. Аналогично анализировали коммерчески доступные таблетки, но вначале их измельчали, чтобы получить порошок. Анализ проводили методом сканирующей просвечающей электронной микроскопии с коррекцией aberrации (Daresbury; superSTEM).

### **Анализ методом инфракрасной спектроскопии (Infrared Analysis, IR)**

Инфракрасные спектры получили, используя приставку DurasampIIIR dimond ATR со спектрометром Nicolet Avatar 360 с диапазоном длин волн  $4000\text{-}650\text{ cm}^{-1}$  и разрешением  $4\text{ cm}^{-1}$ . Анализ выполняла компания ITS Testing Services (UK) Ltd, Sunbury on Thames, Великобритания.

### **Рентгеноструктурный анализ**

Образцы анализировали в форме сухих порошков. Коммерчески доступные таблетки измельчали, чтобы получить порошок. Рентгеноструктурный анализ проводили в Кембриджском университете, используя прибор Philips X'Pert PW3020 (тета/2 тета, 2 двигателя) при времени сканирования до 14 ч и значении угла 2 тета  $5\text{-}70^\circ$  с излучением CuK-alpha.

### **Исследование абсорбции *in vivo***

#### **Субъекты исследования**

Здоровые молодые женщины (в возрасте 18-45 лет) со слабой железодефицитной анемией (определенной как содержание гемоглобина 10-11,9 г/дл, дополнительно имеющие либо уровень ферритина сыворотки крови ниже 20 мкг/л, либо насыщение трансферрина ниже 10%); или с выраженным дефицитом железа (определенным как уровень ферритина сыворотки крови ниже 12 мкг/л) были приняты для участия в исследовании. Критериями исключения из клинического исследования были беременность или лактация и известная целиакия, умеренная/тяжелая анемия (уровни гемоглобина  $<10\text{ g/dl}$ ), сердечно-сосудистое заболевание, хроническое респираторное заболевание, хроническое заболевание печени, почечная недостаточность, хроническая инфекция или хроническое воспаление. Другие критерии исключения: хирургическая операция в течение последних трех месяцев, диагностируемый рак в течение последних десяти лет, известная история наследственного гемохроматоза или гемоглобинопатий, текущее лекарственное лечение, которое может изменять метаболизм железа, недавнее донорство крови/тяжелая потеря крови (в течение последних 3 месяцев). Субъектам, которые регулярно принимали витамин и минеральные добавки, было предложено прервать их прием за 2 недели до отбора для исследования. От всех субъектов получили информированное согласие в письменной форме. Протокол исследования был утвержден Местным комитетом Суффолка по этике исследований.

### **План исследования**

Экспериментальное лечение включало введение однократной дозы меченого  $^{58}\text{Fe}$  лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами трехвалентного железа (общее содержание железа 60 мг) или сульфата железа (общее содержание железа 65 мг). Сульфат железа использовали в качестве референтной дозы для контроля индивидуумов со слабой абсорционной способностью (которых определили по отсутствию существенной эффективной площади под фармакокинетической кривой (net area under the curve, AUC) для содержания железа в плазме после приема сульфата железа). Переизотопное исследование использовали для каждой добровольной участницы, действовавшей под собственным контролем.

Абсорбцию Fe определяли через 14 дней после приема меченых испытуемых железосодержащих соединений при помощи введения метки стабильного изотопа  $^{58}\text{Fe}$  в эритроциты. Испытуемые соединения и контрольное соединение (сульфат железа) принимали (с завтраком или без завтрака) в строго стандартизованных условиях под тщательным контролем, натощак с утра с интервалом 14 дней. В течение 4 ч после приема железосодержащего соединения не разрешался прием пищи или жидкостей (кроме воды).

Десять проб крови (12 мл) отбирали во время каждого из 2 посещений, чтобы определить абсорбцию Fe в следующие моменты времени: перед приемом и через 30, 60, 90, 120, 180, 210 и 240 мин после приема железосодержащего соединения. Дополнительную пробу крови отбирали на базовом уровне (перед приемом) для подтверждения состояния железа (полный анализ крови, ферритин, растворимый трансферриновый рецептор, насыщение трансферрина) и определение введения  $^{58}\text{Fe}$  в эритроциты.

Общую сывороточную концентрацию железа определяли стандартным клиническим химическим

методом на основании способа, описанного Smith et al., с использованием хромофора Ferene®.

Введение  $^{58}\text{Fe}$  в эритроциты определяли при помощи масс-спектрометра Elan DRC Plus, индуктивно связанного с плазмой (Perkin Elmer Scieix, Биконсфилд, Великобритания). Система введения в образец состояла из небулайзера с V-образным желобом, камеры впрыска с двойным проходом, съемной кварцевой горелки и кварцевого инжектора (внутренний диаметр 2 мм). Во всех анализах использовали пробоотборник с платиновым наконечником и конические скиммеры (Perkin Elmer Scieix, Биконсфилд, Великобритания). Базовые пробы цельной крови отбирали у участниц исследования непосредственно перед пероральным введением 60 мг добавки Fe, меченой 2 мг  $^{58}\text{Fe}$ , а вторую пробу крови отбирали через 14 дней после введения добавки. Цельную кровь разбавляли в 100 раз водным раствором, содержащим 0.5% Triton X-100, 1% бутан-1-ола, 0.5% аммиака и 0.007% азотной кислоты. Режимы работы прибора настроили на оптимальную чувствительность сигнала (посредством измерения изотопов  $^{24}\text{Mg}$ ,  $^{115}\text{In}$  и  $^{238}\text{U}$ ), минимальное образование оксидов (посредством измерения изотопов  $^{140}\text{Ce}$  и  $^{155}\text{Gd}$ , чтобы обеспечить контроль степени образования CeO с  $m/z = 155$ ) и минимальное образование двухзарядных ионов (посредством измерения сигналов от изотопов  $^{138}\text{Ba}$  и  $^{69}\text{Ga}$ , чтобы обеспечить контроль степени образования  $^{138}\text{Ba}^{2+}$  с  $m/z = 69$ ). Затем произвели дополнительную настройку для уменьшения систематической погрешности по массе между  $^{58}\text{Fe}$  и  $^{57}\text{Fe}$  (примерно 5%). Напряжение детектора снизили с типичных значений -2400 и 1550 В до -1725 и 1050 В для аналоговых и импульсных каскадов соответственно.

#### **Приготовление раствора хлорида железа, меченого $^{58}\text{Fe}$**

Раствор хлорида железа, меченого  $^{58}\text{Fe}$ , приготовили путем растворения 100 мг элементарного железа, обогащенного  $^{58}\text{Fe}$ , (Chemgas, Булонь, Франция) в 4 мл 37% HCl в грушевидной стеклянной колбе, подключенной к холодильнику, с нагреванием при 48°C на водяной бане. Температуру постепенно повышали, чтобы поддерживать кипение раствора по мере уменьшения концентрации хлора. После растворения порошка элементарного железа добавили 0,5 мл 30% перекиси водорода, чтобы окислить двухвалентное железо до трехвалентного железа. Когда реакция окисления закончилась, т.е. прекратилось образование пузырьков  $\text{O}_2$ , колбу герметично закрыли. Концентрацию железа в конечном растворе определили способом ICPOES и использовали анализ с феррозином для подтверждения отсутствия двухвалентного железа.

#### **Получение лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами трехвалентного железа, меченого $^{58}\text{Fe}$**

Выбранные лиганд-модифицированные полиоксогидроксидные материалы с ионами трехвалентного железа, обогащенные  $^{58}\text{Fe}$ , получили в соответствии с вышеописанным протоколом (см. раздел "Получение твердофазных лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами трехвалентного железа"), используя маточный раствор хлорида железа, содержащий 3,5 мас.%  $^{58}\text{Fe}$  (2 мг  $^{58}\text{Fe}$  на 60 мг общего железа во введенном твердофазном материале) из раствора хлорида железа, меченого  $^{58}\text{Fe}$ , как описано выше.

#### **Результаты и обсуждение**

##### **Влияние лиганда А**

Ряд лигандов, а именно мальтозу, янтарную кислоту, лимонную кислоту, молочную кислоту, винную кислоту, яблочную кислоту, глюконовую кислоту, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, гистидин и глутамин, исследовали с точки зрения их влияния на осаждение из растворов полиоксогидроксида трехвалентного железа.

Вначале все лиганды испытали при помощи вышеописанного скринингового исследования в отношениях от 1:1 до 1:5 и разделили на три группы. Первая группа, "сильные лиганды", представляла собой лиганды, которые ингибировали образование 80% твердофазного материала при отношении 1:1, и включала: глюконовую кислоту, лимонную кислоту и мальтозу. Вторая группа, "слабые лиганды", представляла собой лиганды, которые не оказывали большого влияния на количество образующегося твердофазного материала (<10% при всех испытуемых отношениях) и включала: аспарагиновую кислоту, янтарную кислоту, молочную кислоту, глутаминовую кислоту и гистидин. Третья группа, "средние лиганды", представляла собой лиганды, которые оказывали промежуточное влияние по сравнению сильными и слабыми лигандами на количество образующегося твердофазного материала по меньшей мере при одном из испытуемых отношений и включала: яблочную кислоту, винную кислоту и глутамин.

Во втором случае повторно испытали шесть лигандов из трех вышеописанных групп, чтобы определить их влияние как на осаждение полиоксогидроксида трехвалентного железа при изменении отношений M:L так и на растворение твердофазных материалов, полученных в буферных растворах с pH 6 и pH 4 (см. описанное выше скрининговое исследование). Как и ожидали, лиганды оказывали различное влияние на процентную долю осажденного полиоксогидроксида железа в зависимости (а) от группы, к которой принадлежал лиганд, и (б) от отношения M:L. При этом полученные твердофазные материалы обладали различными свойствами регидратации, которые невозможно было прогнозировать, исходя из их поведения при осаждении. Примеры результатов, полученных при использовании лиганда с сильным сродством, а именно мальтозы, лиганда со слабым сродством, а, именно, сукцината, и лиганда с промежуточным сродством, а именно малата, показаны на фиг. 1A и B. Как можно было ожидать, повторное

растворение четко зависит от лиганда и его соотношения с железом. Неожиданно оказалось, что сильный лиганд, мальтол, не способствовал повторному растворению железа при pH 6.0 независимо от того, что при данном значении pH могли образовываться растворимые комплексы железа и мальтола (по меньшей мере для части железа). Кроме того, промежуточный лиганд, малат, обеспечивал большее растворение железа из твердой фазы при pH 6.0, чем сильный лиганд мальтол - даже при равных отношениях (см. 1:1). Примеры результатов с другими лигандами или отношениями показаны в табл. 1.

Таблица 1. Влияние отдельных лигандов на осаждение полиоксогидроксида железа и повторное растворение железа из указанного материала

Лиганд	Отношение M : L	%Fe, %Fe, дезагрегированного при		
		осажденного при pH 6	pH 6	pH 4
Янтарная кислота	1 : 1	100	0	0
L-молочная кислота	1 : 1	65	0	0
Мальтол	3 : 1	55	0	13
Винная кислота	5 : 1	85	36	100
Лимонная кислота	5 : 1	42	0	0

Два лиганда, а именно малат и тартрат, которые проявили самое большое влияние в скрининговом исследовании, выбрали для более подробного изучения. Профиль повторного растворения исследовали при помощи более определенного анализа в четырех различных буферных растворах (см. "Анализ дезагрегации" в разделе "Методики"). Буферы содержали 0,9% мас./об. электролита, поэтому полученные результаты отражали поведение материала в среде с биологической ионной силой. При этом pH среды выбрали таким образом, чтобы отобразить различные участки желудочно-кишечного тракта - от желудочного (pH 1,8) до кишечного (pH 7,0). Во-первых, результаты, показанные в табл. 2, подтвердили, что указанные два лиганда оказывают влияние не только на осаждение, но и на профиль дезагрегации в зависимости от отношения, которое используют при получении полиоксогидроксидных материалов, как видно из описанного выше скринингового исследования. Как правило, увеличение содержания лиганда приводило к уменьшению образования лиганд-модифицированного полиоксо-гидроксидного твердофазного материала с ионами трехвалентного железа и повышало профиль дезагрегации. Однако степень влияния одного лиганда не отражала степени влияния другого лиганда, как показано в случае малата и тартрата. Наблюдавшиеся результаты были воспроизводимыми, как показано в табл. 2 для малата при отношении M:L 1:2.

Таблица 2. Влияние содержания малата и тартрата на процентную долю железа, осажденного в форме лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами трехвалентного железа, и дезагрегацию указанных материалов

Лиганд	Отношение M:L	% осажденного Fe	% дезагрегированного Fe при pH			
			7.0	5.8	4.1	1.8
Яблочная кислота <sup>a</sup>	2:1	59	6	7	19	14
	1:1	45	12	20	55	15
	1:2 (n=4)	27±10	6±4	49±5	63±5	18±4
Винная кислота <sup>b</sup>	4:1	99	13	61	99	22
	3:1	91	71	100	100	28
	2:1	43	100	100	100	14

Лиганд-модифицированные полиоксогидроксидные материалы с ионами трехвалентного железа приготовили при pH 6,5 в 50 mM МОПС и 0,9% NaCl.

Начальные концентрации железа составляли 26.7 mM. Операции осаждения выполняли либо в индивидуальных пробирках (а) в соответствии с процедурой осаждения, описанной в скрининговом исследовании, либо в форме общей партии (б), как при получении твердофазных лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами трехвалентного железа (см. "Методики"). Дезагрегацию всех материалов определяли способом, описанным для анализа дезагрегации (см. "Методики").

Во-вторых, влияние лиганда на скорость образования лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами трехвалентного железа исследовали при помощи протокола титрования, описанного в разделе "Методики". На фиг. 2 показана скорость образования твердофазного материала при увеличении pH. Добавление малата задерживало образование твердофазного материала по сравнению с отсутствием лиганда. Такой сценарий можно ожидать, если лиганд конкурирует с полимеризацией полиоксогидроксидной группой с ионами трехвалентного железа, которая приводит к образованию указанного твердофазного материала. Однако неожиданно оказалось, что тартрат оказывает влияние, спо-

существующее образованию твердофазного материала при более низком значении рН. Это не коррелирует с описанным выше конкурентным сценарием. В этом случае тартратный лиганд усиливает осаждение. Другое наблюдение заключалось в том, что тартрат при основных значениях рН (>7,5) не способствует дезагрегации этого материала. Действительно, фиг. 16 показывает типичный профиль образования двух твердых фаз, а именно агрегированного и гидратированного тартрат-модифицированного полиоксогидроксида трехвалентного железа при увеличении значения рН согласно протоколу титрования, описанному в разделе "Методики". Эти результаты наблюдали также для других лигандов А и лигандов В (результаты не показаны).

Профиль дезагрегации лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного твердофазного материала с ионами трехвалентного железа, полученный при различных значениях рН, изменяется, как показано на фиг. 3 для малата. По мере увеличения рН при получении материала профиль дезагрегации уменьшается. Это соответствует увеличению полимеризации и образованию оксомостиков при повышении рН, что, вероятно, ограничивает модифицирующее влияние лиганда на материал.

Исследовали также влияние присутствия 0,9% мас./об. электролита, в частности хлорида натрия (NaCl) или хлорида калия (KCl), при получении лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных твердофазных материалов с ионами трехвалентного железа. Фиг. 4А показывает, что присутствие 0,9% NaCl не влияет на профиль дезагрегации тартрат-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами трехвалентного железа при отношении M:L 4:1 по сравнению с таким же материалом, полученным без NaCl. Фиг. 4В аналогично показывает, что присутствие 0,9% KCl не изменяет профиль дезагрегации тартрат-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами трехвалентного железа при отношении M:L 2:1 (раствор, содержащий 50 мМ ниацина).

И, наконец, исследовали, как влияет на дезагрегацию сушка лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных твердофазных материалов с ионами трехвалентного железа. Сушка материала, как правило, приводила к умеренному снижению его дезагрегации, как показано на фиг. 5 для тартрат-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами трехвалентного железа при отношении M:L 4:1. Мелкие, несущественные отличия наблюдали между сушкой в печи и сублимационной сушкой (фиг. 5).

### **Влияние лиганда В**

Почти все исследования, описанные выше, проводили с лиганд-модифицированными полиоксогидроксидными твердофазными материалами с ионами трехвалентного железа, полученными в буфере МОПС. МОПС часто используют в исследованиях составов металлов вследствие его очень слабого взаимодействия с большинством ионов металлов, поэтому он редко участвует в образовании металлических комплексов. При этом МОПС имеет рKa 7.2 и поэтому имеет буферную емкость вблизи нейтрального значения рН.

Таким образом, хотя МОПС непосредственно не взаимодействует с железом и не препятствует образованию твердофазного материала, он может оказывать косвенное влияние на образование твердой фазы за счет регулирования скорости изменения рН среды. Кроме того, буфер, который используют для получения лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных твердофазных материалов с ионами трехвалентного железа, должен быть безопасным для потребления человеком, что не относится к МОПС. Поэтому для исследования влияния буфера или лиганда В на образование и повторную растворимость лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных твердофазных материалов с ионами трехвалентного железа авторы настоящего изобретения выбрали ряд соединений с буферной емкостью в различных пределах рН, а именно, адипат, бикарбонат, ацетат, глутарат, диметилглутарат, пимелат, сукцинат, ванилин, триптофан, бензоат, пропионат, борат, ниацин и пиридоксин гидрохлорид. Фиг. 6 показывает влияние замены МОПС на адипат на скорость образования тартрат-модифицированного полиоксогидроксидного твердофазного материала с ионами трехвалентного железа при отношении M:L 4:1 (фиг. 6(i)), а также его влияние на немодифицированный полиоксогидроксидный твердофазный материал с ионами трехвалентного железа (фиг. 6(ii)). В обоих случаях адипат оказывал поддерживающее влияние на скорость образования твердофазного материала.

В соответствии с этими наблюдениями исследовали образование и профили дезагрегации тартрат-модифицированных оксогидроксидных твердофазных материалов с ионами трехвалентного железа, используя изменение отношений M:L. Адипат уменьшал способность образовавшихся материалов к дезагрегации (табл. 3) по сравнению МОПС (табл. 2), за исключением желудочного значения рН (рН 1.8), при котором имела место низкая способность к дезагрегации с обоими буферными растворами. В отличие от этого в случае малат-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами трехвалентного железа бикарбонат оказывал негативное влияние на процентную долю осаждения и способность материала к дезагрегации (табл. 2 и 3). Это влияние уменьшается при снижении концентрации адипата, но не бикарбоната (табл. 3, данные выделены полужирным шрифтом).

Влияние лиганда В на профиль дезагрегации тартрат-модифицированного полиоксогидроксидного твердофазного материала с ионами трехвалентного железа далее иллюстрирует фиг. 7 на примере ниацина и бензоата.

Таблица 3

Материал	Отношение M:L	% осажденного Fe	% дезагрегированного Fe при pH		
			7.0	4.1	1.8
<b>FeOH-Ad50</b>	2:1	41	43	76	17
	3:1	78	13	42	14
	4:1	91	9	50	26
	5:1	96	3	44	27
<b>FeOH-Ad20</b>	3:1	<b>82</b>	<b>2</b>	<b>21</b>	<b>17</b>
<b>FeOHM-Bic100</b>	1:1	5	n/o	n/o	n/o
	2:1	33	n/o	n/o	n/o
	4:1	78	0	1	10
	5:1	81	0	0.5	6
<b>FeOHM-Bic25</b>	<b>4:1</b>	<b>83</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>3</b>

Тартрат-модифицированные полиоксогидроксидные твердофазные материалы с ионами трехвалентного железа согласно настоящему изобретению приготовили в соответствии с протоколом "получения твердофазных лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами трехвалентного железа" (см. раздел "Методики") при pH 4.0 в 50 мМ адипата (Ad50) или 20 мМ адипата (Ad20) при отсутствии электролита. Малат-модифицированные полиоксогидроксидные твердофазные материалы с ионами трехвалентного железа приготовили в соответствии с той же самой процедурой при pH 8.5 в 100 мМ бикарбоната (Bic100) или 25 мМ бикарбоната (Bic25) при отсутствии электролита. Дезагрегацию материалов провели в соответствии со способом, описанным в разделе "Анализ дезагрегации" (см. "Методики"), используя невысушенный материал для FeOHT-Ad50 и FeOHM-Bic100 и высушенный в печи материал для FeOHT-Ad20 и FeOHM-Bic25.

#### Структурный анализ твердофазных лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами трехвалентного железа

Твердофазные лиганд-модифицированные полиоксогидроксидные материалы с ионами трехвалентного железа, полученные, как описано выше, отличаются от существующих препаратов железа тем, что они не являются простыми неорганическими солями двухвалентного иона железа (как, например, сульфат железа), комплексом железа, в котором металл скординирован с органическим лигандом (как, например, тримальтол трехвалентного железа) или минеральными частицами железа, покрытыми органическим лигандом (как, например, полимальтоза железа или "мальтофер").

Элементный анализ частиц твердофазных лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами трехвалентного железа согласно настоящему изобретению, проведенный при помощи энергодисперсионной рентгеноспектроскопии (Energy dispersive X-ray analysis, EDX) четко показывает присутствие атомов углерода в частицах, содержащих железо и кислород (один из примеров показан на фиг. 8). Кроме того, инфракрасный спектр материала показывает наличие ковалентно-подобной связи между лигандом и металлом (фиг. 9) помимо присутствия многочисленных гидроксидных групп. Это иллюстрирует тот факт, что лиганд введен в структуру решетки оксогидроксида металла посредством образования связи, а не простой адсорбции или "захвата". Изменение характеристик растворения материала можно легко объяснить способом, которым лиганд изменяет решетку оксогидроксида металла. В свежеосажденном оксогидроксиде железа наблюдается ферригидрит-подобная структура с некоторыми четкими областями с кристаллической структурой: добавление лиганда B, в данном случае триптофана, уменьшает степень кристалличности, в то время как добавление лиганда A и B, в данном случае триптофана и тартрата, почти полностью подавляет кристалличность (фиг. 11). Мальтофер, который представляет собой минеральные частицы железа, покрытые органическим лигандом, оказался более сходным со свежеосажденным оксогидроксидом железа, что указывает на то, что лиганд несущественно модифицировал его первичную структуру. Это сравнение лучше всего наблюдается при использовании рентгеновской дифракции, когда пики гидроксида железа не обнаруживаются для лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами трехвалентного железа, однако они видны для мальтофера (фиг. 12), хотя и в форме широких и искаженных пиков вследствие очень малого размера первичных частиц (несколько нанометров).

#### Желудочно-кишечное переваривание твердофазных лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами трехвалентного железа согласно настоящему изобретению

Авторы настоящего изобретения сравнили дезагрегацию некоторых известных коммерчески доступных железосодержащих соединений и лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами трехвалентного железа при имитированных условиях желудочно-кишечного тракта (см. "Методики"). Профили дезагрегации и растворения в желудочной среде (pH 1.2) двух лиганд-

модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами трехвалентного железа в сравнении с сульфатом железа, оксогидроксидом трехвалентного железа и полимальтозы железа (Мальтофера) показаны на фиг. 10. Сульфат железа очень хорошо дезагрегирует и растворяется при кислотных значениях pH, как и ожидалось для соли металла. В отличие от этого Мальтофер очень быстро дезагрегирует в желудочной среде (через 5 мин дезагрегировало почти 80% железа), однако остается в форме гидратированных частиц (обычно диаметром около 20 нм; результаты не показаны) (фиг. 10).

Процентная доля железа, растворенного из Мальтофера, составляла менее 5%, хотя следует отметить возможность потери до 10% железа за счет связывания с мембраной при ультрафильтрации. По сравнению с этим два новых лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материала с ионами трехвалентного железа имели промежуточный профиль дезагрегации по сравнению с оксогидроксидом трехвалентного железа и сульфатом железа. Кроме того, растворение этих материалов близко связано с профилем дезагрегации в желудочной среде, хотя этого не требовалось для указанных новых материалов. Эти результаты показывают четкое различие между немодифицированным оксогидроксидом трехвалентного железа, Мальтофером, сульфатом железа и нашими лиганд-модифицированными полиоксогидроксидными материалами с ионами трехвалентного железа.

Дезагрегацию некоторых из наших новых лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами трехвалентного железа в желудочной и кишечной средах также сравнивали с дезагрегацией других коммерчески доступных железосодержащих соединений, а именно, пирофосфата железа, хлорида железа, тримальтола трехвалентного железа и бисглицинат железа. Коммерчески доступные соединения либо не могли дезагрегировать соответствующим образом (как, например, пирофосфат железа), либо дезагрегировали очень быстро (фиг. 14). Предполагается, что такая быстрая дезагрегация, если она происходит параллельно с растворением, является ответственной за инициацию доставки ионов железа из болюсов в полость кишечника и т.п. и поэтому за побочные эффекты. Хотя новые лиганд-модифицированные полиоксогидроксидные материалы с ионами трехвалентного железа проявляют в некоторой степени регулируемое выделение, четкую разницу можно видеть в скоростях дезагрегации новых материалов. Это указывает на возможность формирования их свойств в соответствии с требованиями (фиг. 14). Применительно к фиг. 14 следует отметить, что сохранение или отсутствие железа в растворе при pH 7,0 зависит исключительно от присутствия хелаторов/лигантов (поскольку они естественно имеются в кишечнике), поэтому данные для сульфата железа и хлорида железа (когда в соединении нет лиганда) не следует переоценивать.

Дезагрегация и растворение железа в желудочной и кишечной среде для некоторых лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами трехвалентного железа, которые дополнительно испытывали на добровольцах представлены на фиг. 15 (см. ниже). Здесь также имеется определенное отличие профилей дезагрегации и растворения новых материалов, что иллюстрирует возможность формирования их свойств в соответствии с требованиями.

Распределение размера частиц после проведения модифицированного анализа желудочно-кишечного переваривания некоторого тартрат-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами трехвалентного железа показано на фиг. 17. Изменение отношения M:L (первый столбец относительно второго), pH при получении (второй столбец относительно третьего) и тип лиганда B (четвертый столбец) оказывают явное влияние на размер получаемых частиц и, следовательно, на профили дезагрегации/растворимости. В частности, увеличение содержания частиц более мелкого размера при увеличении концентрации тартрата указывает на меньшую агрегацию первичных частиц при увеличении содержания L. Кроме того, чем больше значение pH при получении материалов, тем меньше размер образующихся частиц.

#### **Абсорбция железа организмом человека из твердофазных лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами трехвалентного железа**

Семь лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами трехвалентного железа дополнительно исследовали с точки зрения их абсорбции в организмах добровольцев и полученные результаты сравнили с немодифицированным оксогидроксидом трехвалентного железа. Сводка результатов показана в табл. 4.

Таблица 4. Абсорбция *in vivo* различных лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами трехвалентного железа

Соединение	Увеличение содержания сывороточного Fe на 180 минуте	% абсорбции
FeOHT-3:1-AD20	9 ± 3	5.8 ± 0.9
FeOHM-4:1-Bic25	5.2 ± 0.6	1.9 ± 0.5
FeOHT-2:1-Ниацин50	3 ± 2	2.8 ± 0.5
FeOHT-2:1-TRP15	8 ± 3	5 ± 1
FeOHГлюконат20	4.3 ± 0.5	6 ± 2
FeOHГистидин100	6.0 ± 0.4	3 ± 2
FeOHAдипат100	8 ± 4	18 ± 1
FeOH	-1.3 ± 0.2 *	0.9 ± 1

Содержание железа в сыворотке крови и процентная доля абсорбции железа (рассчитанная по включению  $^{58}\text{Fe}$  в эритроциты, деленному на 0.80) увеличивается через три часа после переваривания твердофазных лиганд-модифицированных полиоксогидроксидных материалов с ионами трехвалентного железа. Среднее значение ± стандартная погрешность среднего (п лежит в пределах от 2 до 4);

\* для FeOH на 180 мин имело место уменьшение содержания сывороточного железа относительно базового значения.

Профили абсорбции соединений сывороткой (фиг. 13) показывают, что новые лиганд-модифицированные полиоксогидроксидные материалы с ионами трехвалентного железа имеют гораздо более низкие скорости абсорбции железа, чем сульфат железа, что может быть полезным, поскольку предотвращает системное воздействие и потенциальные нарушения в результате временных высоких уровней железа. Из всех препаратов имела место очевидная абсорбция железа (фиг. 13) и по меньшей мере для одного препарата она представляется эквивалентной сульфату железа. Особенно следует отметить, что в литературных публикациях сообщается о том, что полимальтоза трехвалентного железа не вызывает заметного повышения содержания сывороточного железа после переваривания и что абсорбция железа является очень низкой (Kaltwasser et al., 1987). Это согласуется с нашими данными для оксогидроксида трехвалентного железа.

Соединения FeOHT-2: 1-TRP15 и FeOH-Глюконат20 являются примерами того, как изменение состава этих новых материалов приводит к изменению их профиля железа в сыворотке крови, однако, не сохраняет ту же самую процентную долю абсорбции железа (фиг. 13). Это также указывает на возможность получения материалов со свойствами, которые обеспечивают желаемые результаты.

#### Литература

Все публикации, патенты и патентные заявки, цитируемые в данном описании или представленные к регистрации с данной заявкой, в том числе ссылочные документы, поданные как часть Заявления о раскрытии информации, во всей их полноте включаются в данное описание в качестве ссылки.

Bobtelsky M. and Jordan J. The structure and behaviour of ferric tartrate and citrate complexes in dilute solutions. Journal of the American Chemical Society 1947; 69: 2286-2290.

Edgerton V.R., Gardner G.W., Ohira Y., Gunawardena K.A., Senewiratne B. Iron-deficiency anaemia and its effect on worker productivity and activity patterns. British Medical Journal 1979; 2 (6204): 1546-1549.

Geisser P. and Müller A. Pharmacokinetics iron salts and ferric hydroxide-carbohydrate complexes. Arzneimittelforschung/Drug Research 1987; 37 (1): 100-104.

Goddard A.F., James M.W., McIntyre A.S. and Scott B.B. Guidelines for the management of iron deficiency anaemia. BSG Guidelines in Gastroenterology. 2005

Harvey R.S.J., Reffitt D.M., Doig L.A., Meenan J., Ellis R.D., Thompson R.P.H and Powell J.J. Ferric trimaltol corrects iron deficiency anaemia in patients intolerant to iron. Alimentary Pharmacology & Therapeutics 1998; 12(9): 845-848.

Heinrich H.C. Bioavailability of trivalent iron in oral preparations. Arzneimittelforschung/Drug Research 1975; 25 (3): 420-426.

Hercberg S., Preziosi P. & Galan P. Iron deficiency in Europe. Public Health Nutrition 2001; 4, 537-545.

Jugdahsingh R., Afsharrad S., McCrohan C.R., White K.N., Thompson R.P.H. and Powell J.J. A rapid non-equilibrium critical precipitation assay to assess aluminium -ligand interactions. Chemical Speciation and Bioavailability 2004; 16(3): 87-96.

Kaltwasser J.P.; Werner E.; Niechzial M. (1987), Bioavailability and therapeutic efficacy of bivalent и trivalent iron preparations. Arzneimittelforschung/Drug Research, 37(Ia): 122-129.

Nielsen P., Gabbe E.E., Fisher R. and Heinrich H.C. Bioavailability of iron from oral ferric polymaltose in humans. Arzneimittelforschung/Drug Research 1994; 44(1): 743-748.

Powell J.J., Jugdaohsingh R., Piotrowicz A., White KN, McCrohan CR and Thompson RPH. Application of the critical precipitation assay to complex samples: aluminium binding capacity of human gastrointestinal fluids. *Chemical Speciation and Bioavailability* 2004; 16 (3): 97-104.

Smith F.E.; Herbert J.; Gaudin J., Hennessy J.; Reid G.R. Serum iron determination using ferene triazine. *Clinical Biochemistry* 1984; 17:306-310.

Scholz B.D., Gross R., Schultink W., Sastroamidjojo S. Anaemia is associated with reduced productivity of women workers even in less-physically-strenuous tasks. *British Journal of Nutrition* 1997; 77 (1): 47-57.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла, включающего

один или более ионов металла (M), выбранных из группы, включающей  $\text{Ag}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Au}^{3+}$ ,  $\text{Be}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{V}^{5+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  или  $\text{Zr}^{2+}$ ,

один или более лигандов (L), выбранных из группы, включающей карбоновую кислоту, мальтол, этилмальтол, ванилин, бикарбонат, сульфат, фосфат, силикат, борат, молибдат, селенат, триптофан, глутамин, пролин, валин или гистидин, фолат, аскорбат, пиридоксин, ниацин, адипат, ацетат, бикарбонат, глутарат, диметилглутарат, пимелат, сукцинат, бензоат, пропионат, и

-оксо- или гидроксогруппы (OH),

при этом указанный материал имеет полимерную структуру, в которой оксо- или гидроксогруппы нестехеометрично замещены лигандами L, и

характеризуется наличием по меньшей мере одной связи иона металла с одним лигандом M-L, которую можно обнаружить физическими аналитическими способами, и при этом указанный способ включает:

(а) смешивание соединения, содержащего ионы металла M, и лигандов L при первом значении pH (A), при котором компоненты являются растворимыми;

(б) изменение значения pH (A) на второе значение pH (B), чтобы вызвать осаждение твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала, который требуется получить; и

(в) отделение и, возможно, сушку твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла, полученного на операции (б).

2. Способ получения фармацевтической композиции, содержащей лиганд-модифицированный полиоксогидроксидный материал с ионами металла, для введения субъекту, включающий стадию получения твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла по п.1 и стадию добавления фармацевтически приемлемого наполнителя, носителя, буфера, стабилизатора или их смеси.

3. Способ по любому из пп.1, 2, отличающийся тем, что значение pH (A) превышает значение pH, при котором начинается оксогидроксидная полимеризация соответствующего оксогидроксида металла.

4. Способ по любому из пп.1-3, отличающийся тем, что значение pH изменяют от pH (A) до pH (B) посредством добавления щелочи, причем предпочтительно щелочь добавляют в форме раствора гидроксида натрия, гидроксида калия или бикарбоната натрия, чтобы увеличить концентрацию ионов OH в смеси на стадии (б), при этом pH (A) достигает значения меньше или равного 2, а значение pH (B) - больше или равного 2.

5. Способ по любому из пп.1-2, отличающийся тем, что значение pH изменяют от pH (A) до pH (B) посредством добавления кислоты, причем предпочтительно кислоту добавляют в форме минеральной кислоты или органической кислоты, чтобы уменьшить концентрацию ионов OH в смеси на стадии (б), при этом pH (B) достигает значения меньше или равного 2, а значение pH (A) - больше или равного 2.

6. Способ по любому из пп.1-5, отличающийся тем, что материал, полученный на стадии (б), обладает одним или более воспроизводимым физико-химическим свойством, выбранным из группы, включающей растворимость (скорость, зависимость от pH и зависимость от pM), характеристики адсорбции и абсорбции, активность-инертность, точку плавления, термостойкость, размер частиц, магнетизм, электрические свойства, плотность, светопоглощающие/отражающие свойства, твердость-мягкость, цвет и инкапсуляционные свойства.

7. Способ по п.6, отличающийся тем, что способ обеспечивает получение материала, для которого указанное воспроизводимое физико-химическое свойство является воспроизводимым в пределах предпочтительно  $\pm 10\%$ .

8. Способ по любому из пп.1-7, отличающийся тем, что полимерная структура, в которой M, L и оксо- или гидроксидные группы распределены в твердофазной структуре, является такой, что замещение оксо- или гидроксидных групп одним или более лигандами является практически случайным.

9. Способ по любому из пп.1-8, отличающийся тем, что ион металла (M) представляет собой  $\text{Fe}^{3+}$ .

10. Способ по любому из пп.1-9, отличающийся тем, что лиганд карбоновой кислоты выбран из группы, включающей адипиновую кислоту, глутаровую кислоту, винную кислоту, аспарагиновую кислоту, яблочную кислоту, янтарную кислоту, пимелиновую кислоту, лимонную кислоту, глюконовую ки-

слоту, молочную кислоту и бензойную кислоту.

11. Способ по любому из пп.1-10, отличающийся тем, что указанный лиганд обладает буферными свойствами или буфер присутствует в среде для реализации указанного способа.

12. Способ по п.11, отличающийся тем, что буфер выбирают из группы, включающей неорганические буферы, в частности борат, силикат или бикарбонат, или органические буферы, в частности МОПС (3-(N-морфолино)пропансульфоновая кислота), HEPES (N-2-гидроксизтилпиперазин-N-2-этансульфоновая кислота), PIPES (пиперазин-1,4-бис-2-этансульфоновая кислота) или TRIS (трикс(гидроксиметиламинометан)), или буфер выбирают из группы, включающей адипиновую кислоту, пимелиновую кислоту, триптофан или гидроксиметилцеллюзозу.

13. Способ получения твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла и оптимизации желательных физико-химических свойств этого материала для его применения в пищевых, медицинских, косметических или биологических целях, при этом указанный твердофазный лиганд-модифицированный полиоксогидроксидный материал с ионами металла включает один или более ионов металла (M), выбранных из группы, включающей  $\text{Ag}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Au}^{3+}$ ,  $\text{Be}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{V}^{5+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  или  $\text{Zr}^{2+}$ ,

один или более лигандов (L), выбранных из группы, включающей карбоновую кислоту, мальтоль, этилмальтоль, ванилин, бикарбонат, сульфат, фосфат, силикат, борат, молибдат, селенат, триптофан, глутамин, пролин, валин или гистидин, фолат, аскорбат, пиридоксин, ниацин, адипат, ацетат, бикарбонат, глутарат, диметилглутарат, пимелат, сукцинат, бензоат, пропионат, и

оксо- или гидроксогруппы (OH),

при этом указанный материал имеет полимерную структуру, в которой оксо- или гидроксогруппы нестехеометрично замещены лигандами L, и

характеризуется наличием по меньшей мере одной связи иона металла с одним лигандом M-L, которую можно обнаружить физическими аналитическими способами, и при этом указанный способ включает:

(а) смешивание соединения, содержащего ионы металла M, и лигандов L в реакционной среде при первом значении pH (A), при котором компоненты являются растворимыми;

(б) изменение значения pH (A) на второе значение pH (B), чтобы вызвать осаждение твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла, который требуется получить;

(в) отделение и, возможно, сушку, твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла, полученного на стадии (б);

(г) исследование желательного физико-химического свойства осажденного твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла; и

(д) повторение в случае необходимости стадий (а)-(г) с изменением одного или более следующих параметров:

(1) типа или концентрации ионов металла (M) и/или лигандов (L), вводимых на стадии (а); и/или

(2) отношения содержания ионов металла (M) и лигандов (L), вводимых на стадии (а); и/или

(3) pH (A); и/или

(4) pH (B); и/или

(5) скорости изменения от pH (A) до pH (B); и/или

(6) присутствия или концентрации буфера;

с получением твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла, который обладает желаемыми физико-химическими свойствами.

14. Способ по п.13, отличающийся тем, что дополнительно включает изменение физических или химических условий реакции, которые используют в способе получения твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала.

15. Способ по п.14, отличающийся тем, что указанные физические или химические условия реакции выбирают из группы, включающей температуру реакции, скорость изменения pH, применение смешивания или условия смешивания реагентов.

16. Способ по любому из пп.13-15, отличающийся тем, что первое значение pH (A) ниже значения pH, при котором начинается оксогидроксидная полимеризация соответствующего оксогидроксида металла, и возможно значение pH (A) меньше или равно pH 2, а значение pH (B) больше или равно pH 2.

17. Способ по любому из пп.13-16, отличающийся тем, что величину pH изменяют от pH (A) до pH (B) посредством добавления кислоты, при этом возможно кислоту добавляют в форме минеральной кислоты или органической кислоты для уменьшения концентрации ионов OH в смеси на стадии (б).

18. Способ по любому из пп.13-15, отличающийся тем, что значение pH (B) меньше или равно pH 2, а значение pH (A) больше или равно pH 2.

19. Способ по любому из пп.13-18, отличающийся тем, что:

(а) изменение pH от pH (A) до pH (B) происходит в течение 24 ч или менее, более предпочтительно в течение 1 ч и наиболее предпочтительно в течение 20 мин, и/или

(б) общая концентрация ионов металла (M) и общая концентрация лигандов (L) превышают  $10^{-6}$

моль/л и более предпочтительно превышают  $10^{-3}$  моль/л, и/или

(с) реакционная среда представляет собой водный раствор, и/или

(д) буфер стабилизирует диапазон значений pH при оксигидроксидной полимеризации, и/или

(е) указанный буфер выбирают из группы, включающей неорганические буферы, в частности борат, силикат или бикарбонат, или органические буферы, в частности МОПС (3-(N-морфолино)пропансульфоновую кислоту), HEPES (N-2-гидроксиэтилпиперазин-N-2-этансульфоновую кислоту), PIPES (пиперазин-1,4-бис-2-этансульфоновую кислоту) или TRIS (триксигидроксиметиламинометан), или

(f) буфер выбирают из группы, включающей адипиновую кислоту, пимелиновую кислоту, триптофан или гидроксиметилцеллюозу, и/или концентрации буфера составляют менее 500 mM, и/или

(g) температура реакции составляет от 0 до 100°C, и/или

(h) ионную силу реакционной среды изменяют путем добавления электролита, и/или

(i) компоненты смешивают на стадии (а) до получения гомогенного раствора.

20. Способ получения твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла для введения субъекту, включающий получение оптимизированного твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла способом по любому из пп.13-19, как описано выше, и дополнительную операцию приготовления твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла в составе композиции.

21. Композиция для применения в пищевых, медицинских, косметических или иных биологических целях, содержащая твердофазный лиганд-модифицированный полиоксогидроксидный материал с ионами металла, включающий

один или более ионов металла (M), выбранных из группы, включающей  $\text{Ag}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Au}^{3+}$ ,  $\text{Be}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{V}^{5+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  или  $\text{Zr}^{2+}$ ,

один или более лигандов (L), выбранных из группы, включающей карбоновую кислоту, мальтол, этилмальтол, ванилин, бикарбонат, сульфат, фосфат, силикат, борат, молибдат, селенат, триптофан, глутамин, пролин, валин или гистидин, фолат, аскорбат, пиридоксин, ниацин, адипат, ацетат, бикарбонат, глутарат, диметилглутарат, пимелат, сукцинат, бензоат, пропионат, и

оксо- или гидроксогруппы (OH),

при этом указанный материал имеет полимерную структуру, в которой оксо- или гидроксогруппы нестехеометрично замещены лигандами L,

отличающаяся тем, что указанную композицию получают способом по любому из пп.2-20.

22. Композиция по п.21, отличающаяся тем, что композиция предназначена для биологического применения и приготовлена в лекарственной форме, пригодной для доставки в организм субъекта указанного иона металла или лиганда.

23. Композиция по п.21, отличающаяся тем, что композиция предназначена для биологического применения и приготовлена в лекарственной форме, пригодной для связывания или ингибирования компонента, присутствующего в организме субъекта, при помощи твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла.

24. Композиция по п.21, отличающаяся тем, что композиция предназначена для биологического применения и приготовлена в лекарственной форме, пригодной для применения в качестве добавки железа.

25. Композиция по п.21, отличающаяся тем, что композиция предназначена для биологического применения и приготовлена в лекарственной форме, пригодной для терапевтического удаления или ингибирования эндогенного вещества, присутствующего в организме субъекта и способного связываться с твердофазным лиганд-модифицированным полиоксогидроксидным материалом с ионами металла.

26. Композиция трехвалентного железа для применения в пищевых, медицинских, косметических или иных биологических целях, содержащая твердофазный лиганд-модифицированный полиоксогидроксидный материал с ионами трехвалентного железа, включающий

$\text{Fe}^{3+}$ ,

один или более лигандов (L), выбранных из группы, включающей карбоновую кислоту, мальтол, этилмальтол, ванилин, бикарбонат, сульфат, фосфат, силикат, борат, молибдат, селенат, триптофан, глутамин, пролин, валин или гистидин, фолат, аскорбат, пиридоксин, ниацин, адипат, ацетат, бикарбонат, глутарат, диметилглутарат, пимелат, сукцинат, бензоат, пропионат, и

оксо- или гидроксидные группы (OH),

при этом материал имеет полимерную структуру, в которой лиганды L, по существу, случайно замещают оксо- или гидроксогруппы,

а твердофазный лиганд-модифицированный полиоксогидроксидный материал с ионами металла имеет связь  $\text{Fe}^{3+}\text{-L}$ , которую можно определить при помощи физического анализа.

27. Композиция по п.26, отличающаяся тем, что композиция предназначена для биологического применения и приготовлена в лекарственной форме, пригодной для доставки в организм субъекта иона  $\text{Fe}^{3+}$  или лиганда.

28. Композиция по п.26, отличающаяся тем, что композиция предназначена для биологического

применения и приготовлена в лекарственной форме, пригодной для связывания или ингибиования компонента, присутствующего в организме субъекта, при помощи твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами трехвалентного железа.

29. Композиция по п.26, отличающаяся тем, что композиция предназначена для биологического применения и приготовлена в лекарственной форме, пригодной для применения в качестве добавки железа.

30. Композиция по п.26, отличающаяся тем, что композиция предназначена для биологического применения и приготовлена в лекарственной форме, пригодной для терапевтического удаления или ингибирования эндогенного вещества, присутствующего в организме субъекта и способного связываться с твердофазным лиганд-модифицированным полиоксогидроксидным материалом с ионами трехвалентного железа.

31. Композиция трехвалентного железа по п.26, отличающаяся тем, что:

(а) твердофазная структура материала, полученная, по существу, случайным замещением гидроксидных или оксогрупп лигандом L, при анализе не имеет идентифицируемых пиков для L или FeO/FeOH на дифракционной рентгенограмме, и/или

(б) твердофазная структура материала, полученная практически случайным замещением гидроксо- или оксогрупп лигандом L, имеет повышенную степень аморфности структуры материала при анализе методом просвечивающей электронной микроскопии высокого разрешения, и/или

(с) твердофазный лиганд-модифицированный полиоксогидроксидный материал с ионами металла имеет одно или более воспроизводимых физико-химических свойств, выбранных из группы, включающей профиль растворения, профиль адсорбции или воспроизводимое элементное отношение, и/или

(д) воспроизводимое элементное отношение является воспроизводимым в пределах предпочтительно  $\pm 10\%$ .

32. Композиция трехвалентного железа по любому из пп.26-31, отличающаяся тем, что инфракрасные спектры указанной композиции включают один или более пиков, соответствующих связям между Fe-O, O-H, и отдельно L.

33. Композиция трехвалентного железа по любому из пп.26-32, отличающаяся тем, что лиганд L выбран из группы, включающей тартрат, адипат, сукцинат или их смесь.

34. Композиция трехвалентного железа по любому из пп.26-33, отличающаяся тем, что отношение Fe:L составляет примерно от 1:5 до 5:1.

35. Композиция трехвалентного железа по любому из пп.26-34, отличающаяся тем, что представляет собой FeOHAd100 и FeT-3:1-Ad20.

36. Композиция трехвалентного железа по любому из пп.26-35, отличающаяся тем, что указанная композиция представляет собой дополнительный компонент, фортификант или пищевую добавку.

37. Твердофазный лиганд-модифицированный полиоксогидроксидный материал с ионами металла, полученный способом по любому из пп.1-20 или характеризуемый согласно любому из пп.21-36 для доставки в организм субъекта иона металла в терапевтических целях.

38. Твердофазный лиганд-модифицированный полиоксогидроксидный материал с ионами металла по п.37, в котором:

(а) ион металла M представляет собой  $Fe^{3+}$  и/или

(б) лиганд карбоновой кислоты выбран из группы, включающей адипиновую кислоту, глутаровую кислоту, винную кислоту, малоновую кислоту, янтарную кислоту, аспаргиновую кислоту, пимелиновую кислоту, лимонную кислоту; глюконовую кислоту, молочную кислоту и бензойную кислоту; и/или

(с) лиганд имеет буферные свойства или буфер присутствует в среде, в которой протекает процесс получения материала.

39. Твердофазный лиганд-модифицированный полиоксогидроксидный материал с ионами металла по п.37 или 38 для применения в терапии, в котором указанный буфер выбирают из группы, включающей неорганические буфера, в частности борат, силикат или бикарбонат, или органические буфера, в частности МОПС (3-(N-морфолино)пропансульфоновую кислоту), НЕПЕС (N-2-гидроксистиллиперацин-N-2-этансульфоновую кислоту), PIPES (пиперазин-1,4-бис-2-этансульфоновую кислоту) или TRIS (трикс(гидроксиметиламинометан)), или буфер выбирают из группы, включающей адипиновую кислоту, пимелиновую кислоту, триптофан или гидроксиметилцеллюлозу.

40. Применение композиции твердофазного лиганд-модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла, полученной способом по любому из пп.1-20 или характеризуемой согласно любому из пп.21-39, для приготовления медикамента, предназначенного для терапевтической доставки иона металла в организм субъекта.

41. Применение композиции по любому из пп.21-39 в пищевых, медицинских, косметических или иных биологических целях.

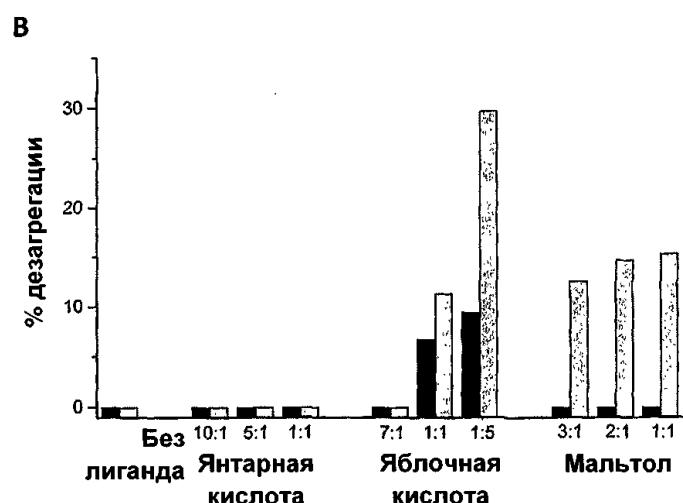
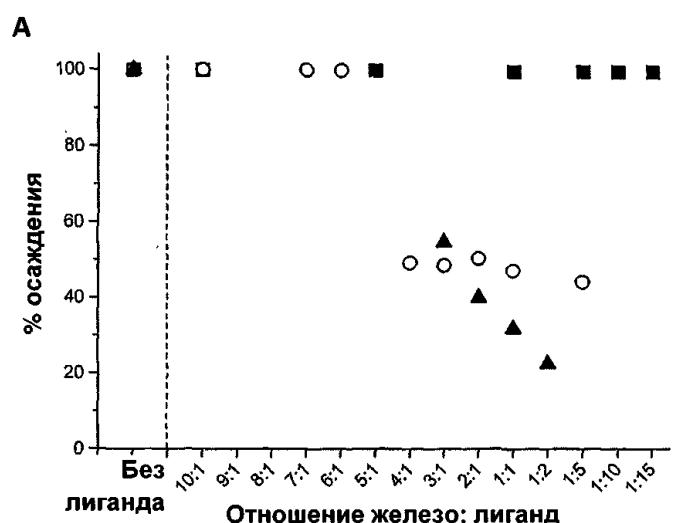
42. Применение по п.41, отличающееся тем, что биологической целью является доставка в организм субъекта указанного иона металла или лиганда.

43. Применение по п.41, отличающееся тем, что биологической целью является связывание или ингибирование компонента, присутствующего в организме субъекта, при помощи твердофазного лиганд-

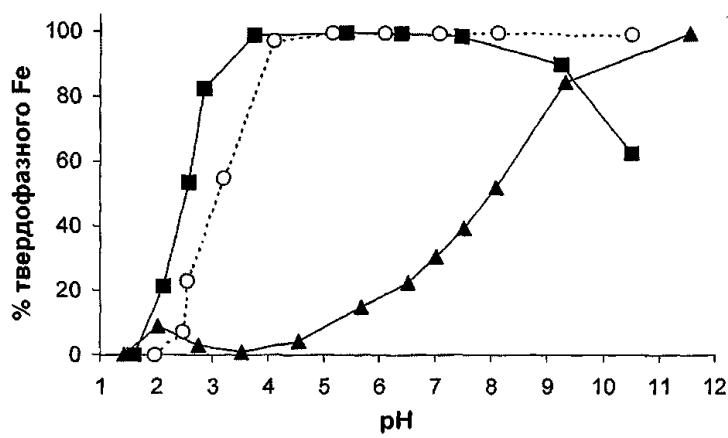
модифицированного полиоксогидроксидного материала с ионами металла.

44. Применение по п.41, отличающееся тем, что биологической целью является применение в качестве добавки железа.

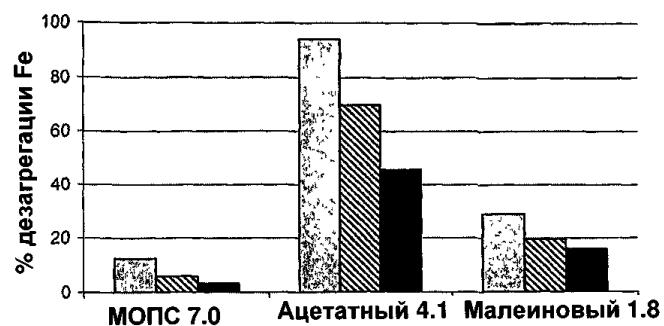
45. Применение по п.41, отличающееся тем, что биологической целью является терапевтическое удаление или ингибирирование эндогенного вещества, присутствующего в организме субъекта и способного связываться с твердофазным лиганд-модифицированным полиоксогидроксидным материалом с ионами металла.



Фиг. 1

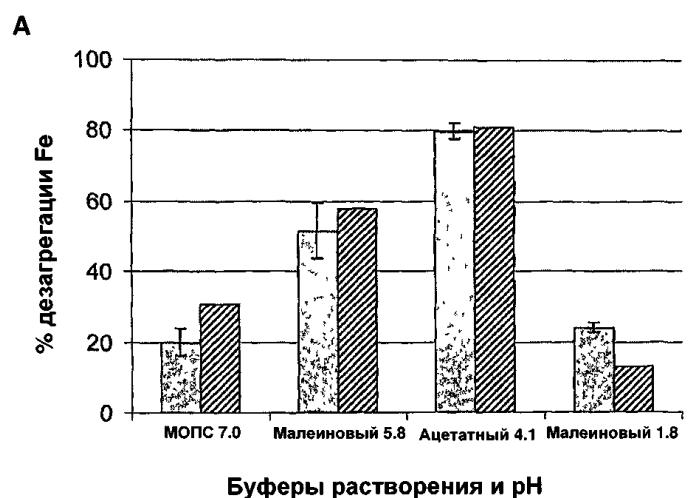


Фиг. 2

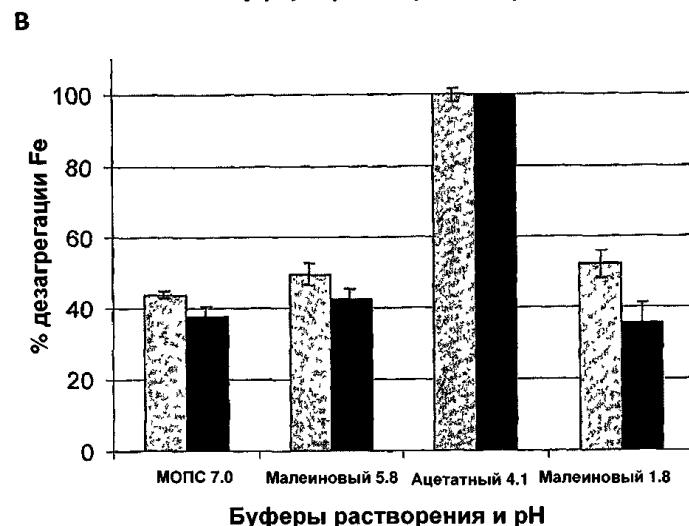


Буферы растворения и pH

Фиг. 3

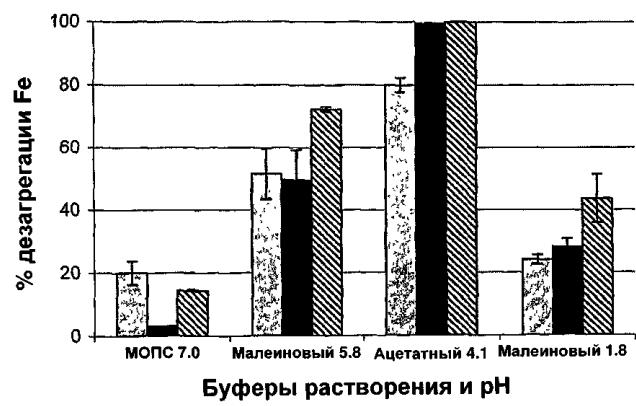


Буферы растворения и pH



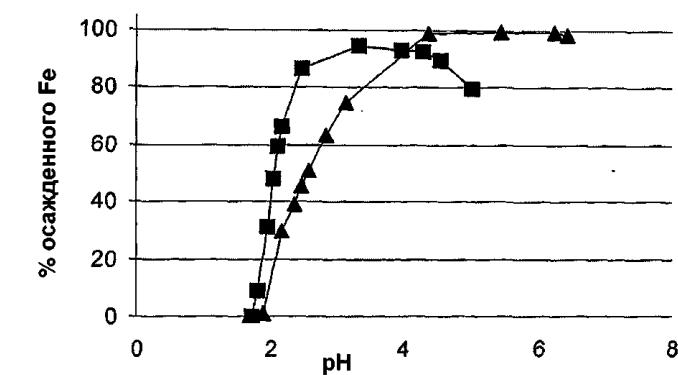
Буферы растворения и pH

Фиг. 4

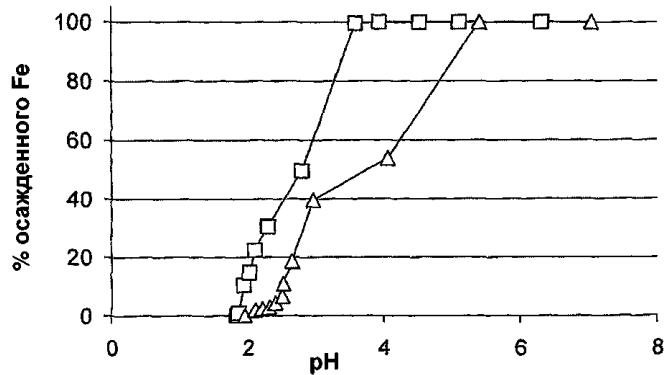


Фиг. 5

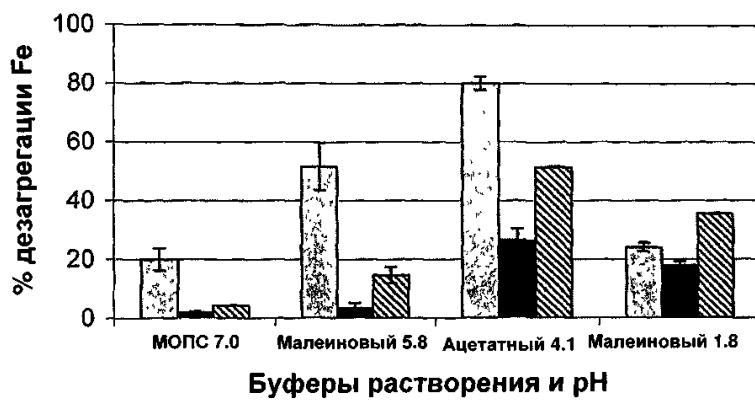
(i)



(ii)

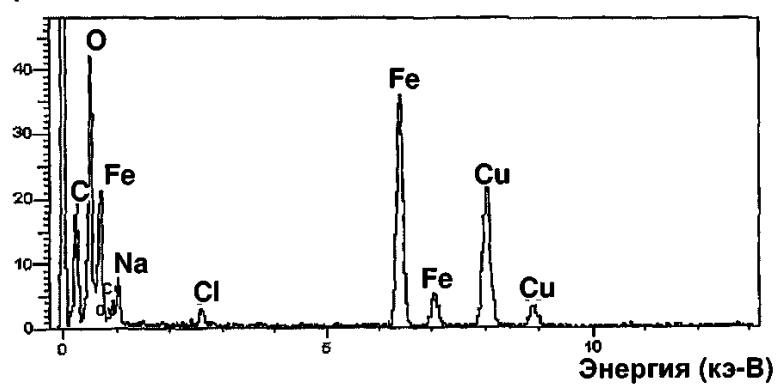


Фиг. 6

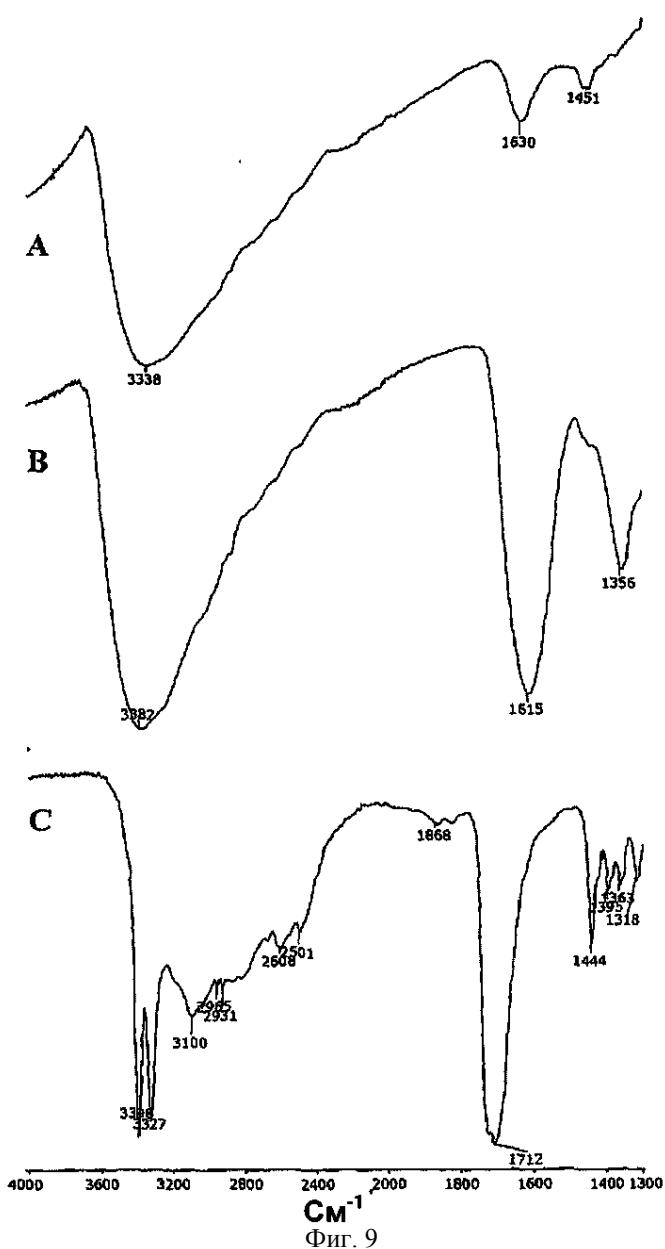


Фиг. 7

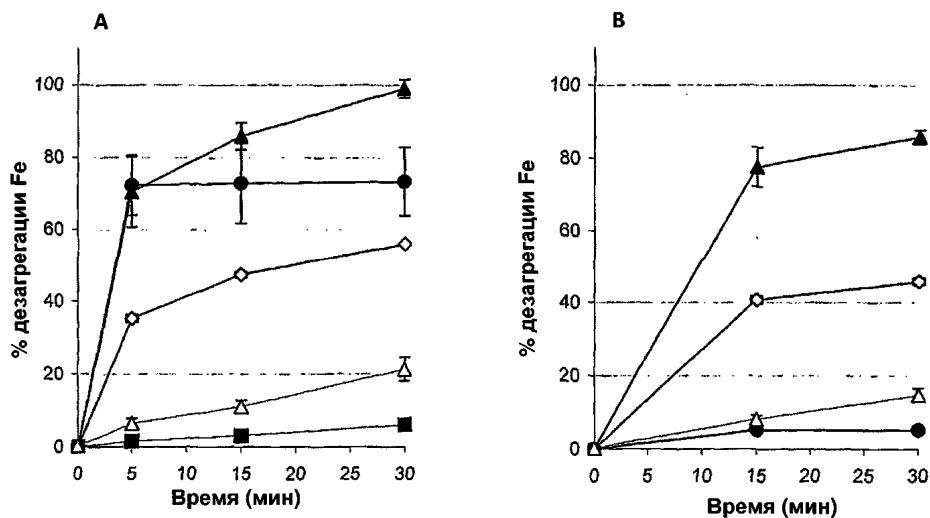
cps



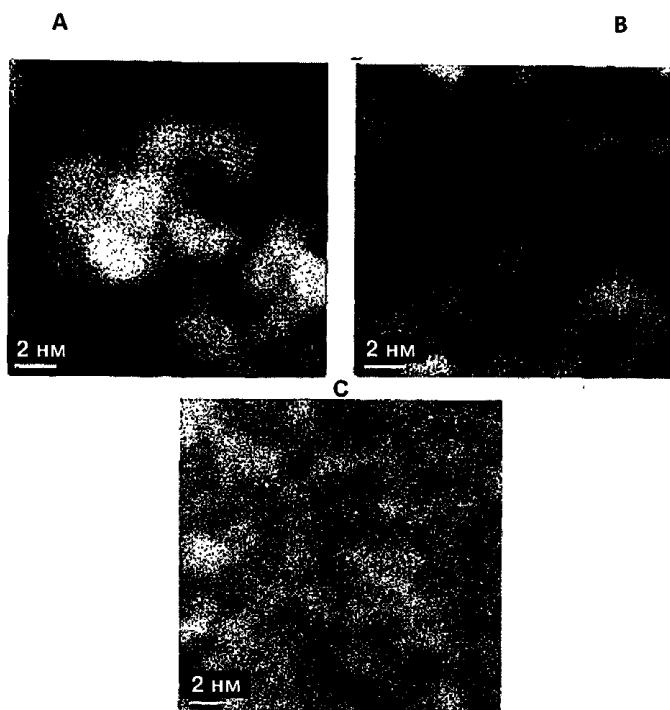
ФИГ. 8



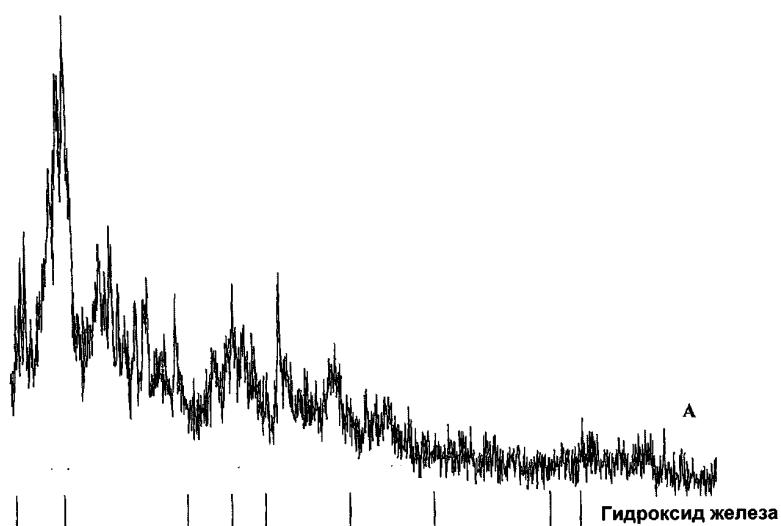
ФИГ. 9

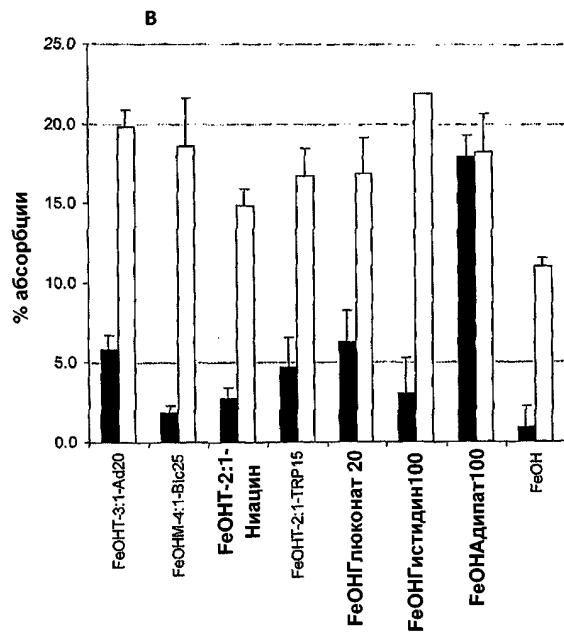
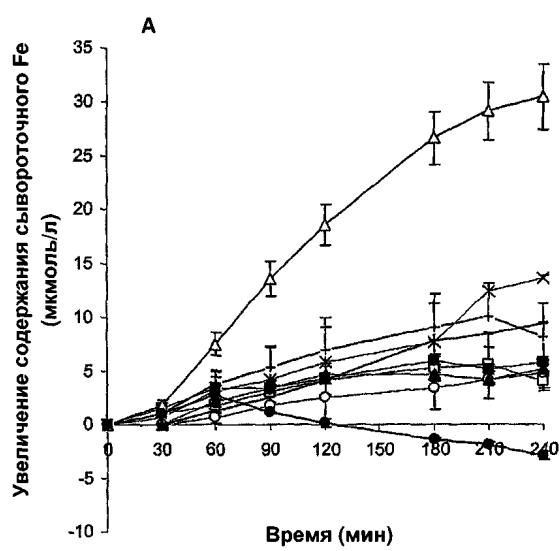
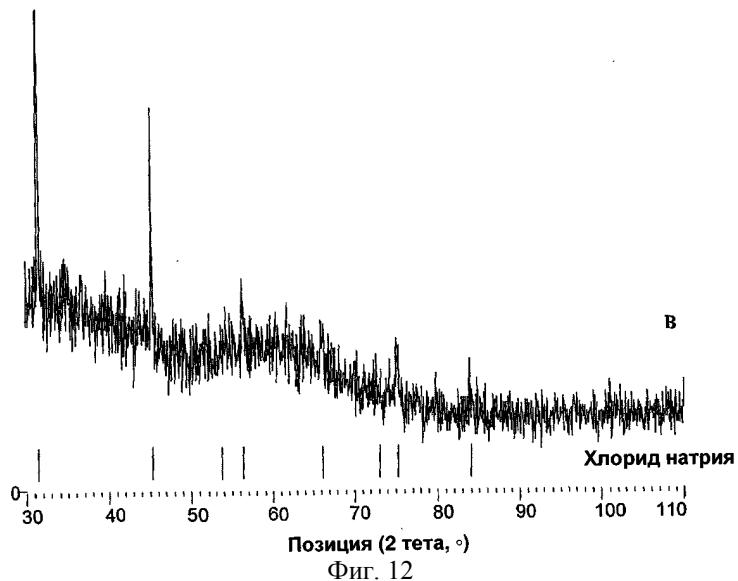


Фиг. 10

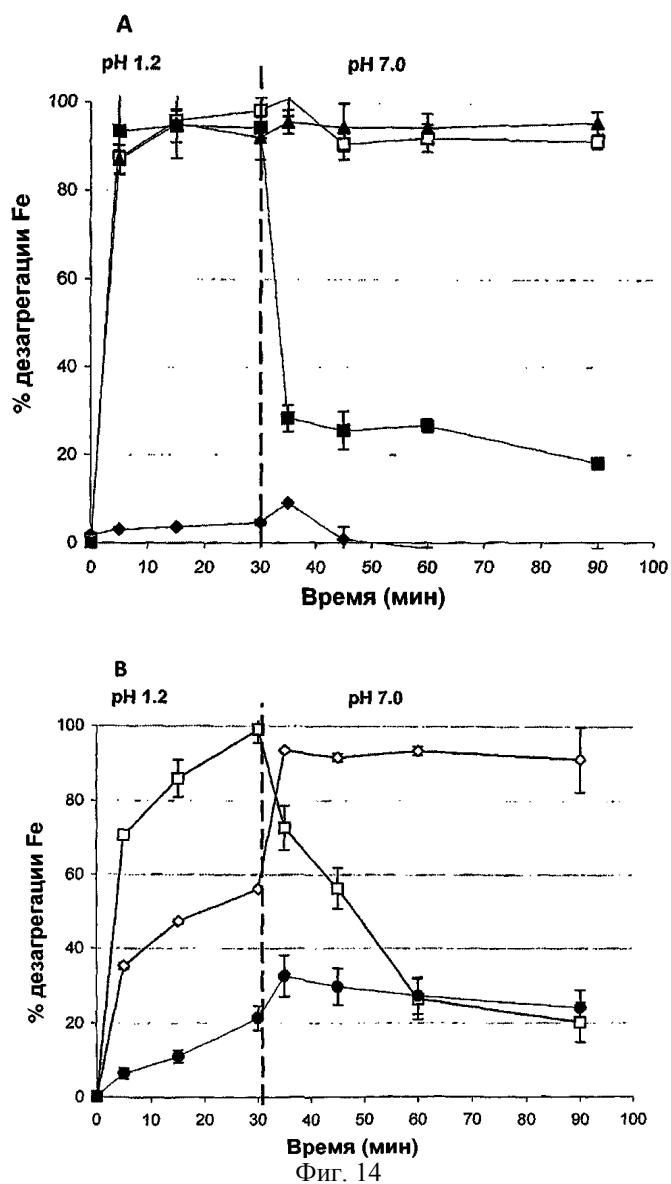


Фиг. 11

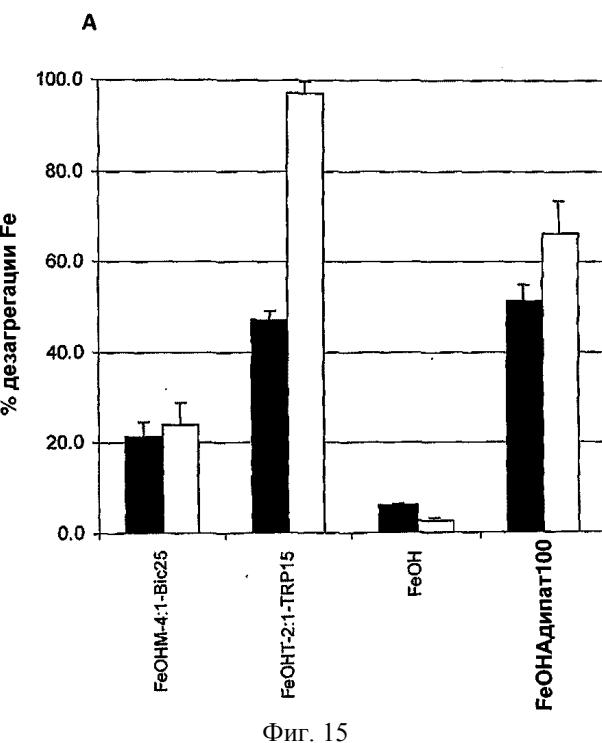




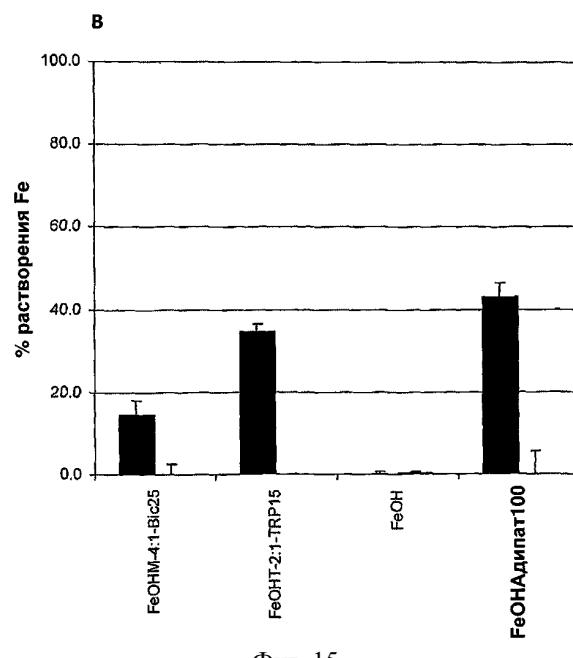
Фиг. 13



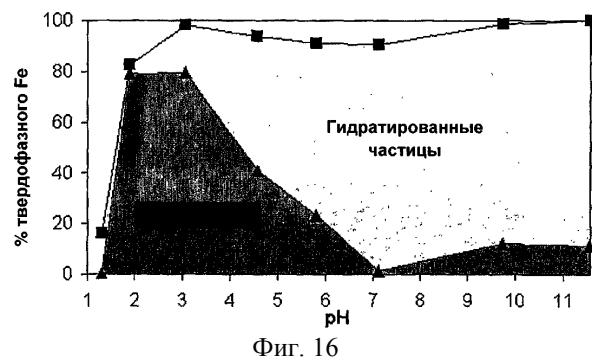
Фиг. 14



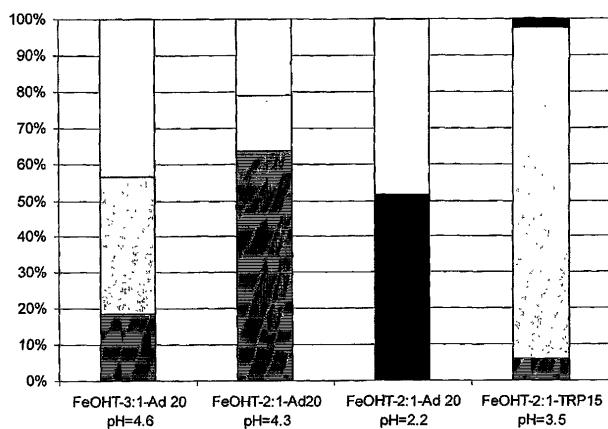
Фиг. 15



Фиг. 15



Фиг. 16



Фиг. 17

