



(19) **UA** (11) **76 940** (13) **C2**
(51)МПК

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ
УКРАИНЫ

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ УКРАИНЫ

(21), (22) Заявка: 2002010706, 28.06.2000

(24) Дата начала действия патента: 16.10.2006

(30) Приоритет: 29.06.1999 HU P 9902217

(46) Дата публикации: 15.10.2006A61K 47/48
20060101CFI20051220RHUA

(86) Заявка РСТ:
РСТ/HU00/00061, 20000628

(72) Изобретатель:

Сего Петер, HU

(73) Патентовладелец:

Сего Петер, HU

(54) БИОКОНЬЮГАТЫ НА ОСНОВЕ ПОЛИКАТИОНОВ, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫЕ ДЛЯ ТРАНСПОРТИРОВКИ
РАЗНООБРАЗНЫХ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ОРГАНИЗМЕ БОЛЬНОГО

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, в частности к новым поликатионным биоконъюгатам общей формулы (I), пригодным для транспортировки разнообразных активных веществ в организме больного. Эти поликатионы функционируют как носители и могут повышать биологическую эффективность транспортируемых молекул. Они могут направленно ингибировать пролиферацию злокачественных клеток, могут обладать противобактериальными свойствами. Наконец, они могут служить переносчиками генов. Предложенные поликатионные биоконъюгаты в соответствии с изобретением содержат в своем составе изополипептидные молекулы-переносчики со свободными альфа-аминогруппами. В состав поликатионных биоконъюгатов входят также молекулы-усилители, соединенные посредством химических связей с молекулой-переносчиком. Поликатионные биоконъюгаты имеют общую формулу (I), где r равно от 20 до 400, m принимает значения 0, 1, 2, 3, ..., k , $[(i)Mx]$ представляют собой молекулы-усилители и/или

соединительные молекулы, конъюгированные с изополипептидными молекулами-переносчиками с помощью ковалентных ($=k$) связей, а $[(i)Mx]$ представляют собой молекулы-усилители, конъюгированные с изополипептидными молекулами-переносчиками с помощью ионных ($=i$) связей. Указанные молекулы-усилители или соединительные молекулы имеют соответствующие функциональные группы, предназначенные для конъюгирования, которые могут быть одинаковыми или различными. Предложенные конъюгаты обладают повышенной активностью и низкой токсичностью.



Официальный бюлетень "Промышленная собственность". Книга 1 "Изобретения, полезные модели, топографии интегральных микросхем", 2006, N 10, 15.10.2006. Государственный департамент интеллектуальной собственности Министерства образования и науки Украины.



(19) **UA** (11) **76 940** (13) **C2**
(51) Int. Cl.

MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF
UKRAINE

STATE DEPARTMENT OF INTELLECTUAL
PROPERTY

(12) **DESCRIPTION OF PATENT OF UKRAINE FOR INVENTION**

(21), (22) Application: 2002010706, 28.06.2000

(24) Effective date for property rights: 16.10.2006

(30) Priority: 29.06.1999 HU P 9902217

(46) Publication date: 15.10.2006A61K 47/48
20060101CFI20051220RHUA

(86) PCT application:
PCT/HU00/00061, 20000628

(72) Inventor:
SZEGO PETER, HU

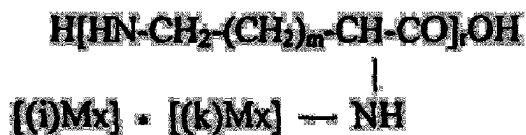
(73) Proprietor:
SZEGO PETER, HU

(54) **POLYCATION BIOCONJUGATES CAPABLE OF TRANSPORTING ACTIVE SUBSTANCES OF DIFFERENT TYPES IN PATIENT'S BODY**

(57) Abstract:

The invention relates to new polycation bioconjugates and to a method for producing them. New polycation bioconjugates according to the invention are characterized by that the comprised polycations are capable of transporting active substances of different types in the mammal organism, i.e. for functioning as carrier molecules, thus are able to enhance the biological effectiveness of the transported molecules, and consequently they can, for example, favourably inhibit malignant cell proliferation, or they possess antimicrobial effect, or are suitable for transportation of genes. A further characteristic of the polycation bioconjugates according to the invention is that each of them contains isopolypeptide carrier molecules, bearing free α -amino group, as a common characteristic structural element. Enhancer molecules - same or different - having appropriate binding functions are coupled by chemical bonds directly and/or indirectly through connecting molecules - that may be identical or different ones - to the carrier molecule. Hence the polycation bioconjugates synthesized according to the invention are of general formula (I) wherein: "r" is a mean value between 20 and

400, "m"=0, 1, 2, 3, ... k, "[(k)Mx]" designates enhancer molecules and/or connecting molecules conjugated by covalent (=k) bonds to the isopolypeptide polycation carrier molecule, and "[(i) Mx]" designates enhancer molecules conjugated by ionic (=i) bonds to the isopolypeptide polycation carrier molecule, whereas the said enhancer molecules and connecting molecules having appropriate functional groups for conjugation may either be identical ones or of (two or more i.e. "x") different kinds, and the enhancer molecules can be conjugated directly and/or indirectly through a connecting molecule.



(I)

Official bulletin "Industrial property". Book 1 "Inventions, utility models, topographies of integrated circuits", 2006, N 10, 15.10.2006. State Department of Intellectual Property of the Ministry of Education and Science of Ukraine.



(19) **UA** (11) **76 940** (13) **C2**
(51)МПК

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ

(12) ОПИС ВІНАХОДУ ДО ПАТЕНТУ УКРАЇНИ

(21), (22) Дані стосовно заявки:
2002010706, 28.06.2000

(24) Дата набуття чинності: 16.10.2006

(30) Дані стосовно пріоритету відповідно до Паризької конвенції : 29.06.1999 HU P 9902217

(46) Публікація відомостей про видачу патенту (деклараційного патенту): 15.10.2006A61K 47/48 20060101CFI20051220RHUA

(86) Номер та дата подання міжнародної заявки відповідно до договору PCT:
PCT/HU00/00061, 20000628

(72) Винахідник(и):
Сегьо Петер , HU

(73) Власник(и):
Сегьо Петер , HU

(54) БІОКОН'ЮГАТИ НА ОСНОВІ ПОЛІКАТІОНІВ, ПРИЗНАЧЕНІ ДЛЯ ДОСТАВКИ АКТИВНИХ РЕЧОВИН РІЗНИХ ВИДІВ В ОРГАНІЗМІ ПАЦІЄНТА

(57) Реферат:

Винахід належить до медицини і стосується нових полікатіонних біокон'югатів загальної формули (I), придатних для транспортування різноманітних активних речовин в організм. Кон'югати мають підвищену активність і низьку токсичність. Ці полі катіони як носії та можуть підвищувати біологічну ефективність транспортуючих молекул. Вони можуть спрямовано інгібувати проліферацію злоякісних клітин, можуть мати протибактеріальні властивості. Можуть слугувати переносниками генів. Запропоновані полікатіонні біокон'югати у відповідності з винаходом містять у своєму складі ізополіпептидні молекули-переносники з вільними альфа-аміногрупами. До складу полікатіонних біокон'югатів входять також молекули-посилувачі,

що з'єднані за допомогою хімічних зв'язків з молекулою-переносником. Полі катіонні біокон'югати мають загальну формулу(I), де r дорівнює від 20 до 400, m приймає значення 0, 1, 2, 3, ... k , $[(k)Mx]$ представляють собою молекули-посилувачі та/або з'єднуювальні молекули, що кон'юговані з ізополіпептидними молекулами-переносниками за допомогою ковалентних $(=k)$ зв'язків, а $[(i)Mx]$ представляють собою молекули-посилувачі, кон'юговані з ізополіпептидними молекулами-переносниками за допомогою іонних $(=i)$ зв'язків.



U. 76940 C2

5

10



20



30

35

40

45

50

55

60



У випадку, коли зв'язуючі молекули винятково аніонного характеру $[(-)C_xj]$, які можуть бути або ідентичними або (дві або більше, тобто "х") різного виду, кон'югуються ковалентними зв'язками з даними молекулами, які представляють молекули-носії загальної формули (I/a), то з'являється додаткова можливість для встановлення іонних зв'язків з катіонами, які можуть бути або ідентичними або (два або більше, тобто "х") різного виду, і потім:

$$[(k)Mx] = [(-)C_xj]_{p2}$$

і нові кон'югати виражаються загальною формулою (III):

(III)



У випадку, коли підсилюючі молекули $[Ex_{ek}]$, які можуть бути або ідентичними або (дві або більше, тобто "х") різного виду, опосередковано кон'югуються ковалентними зв'язками з даними молекулами, які представляють молекули-носії загальної формули (I/a), через зв'язуючі молекули $[C_{xck}]$, які також можуть бути або ідентичними або (дві або більше, тобто "х") різного виду, тоді:

$$[(k)Mx] = [C_{xck}-Ex_{ek}]_{p3}$$

і нові полікатіонні біокон'югати виражаються загальною формулою (IV):

(IV)



У випадку коли підсилюючі молекули $[Ex_j]$ і/або $[C_{xck}-Ex_{ek}]$ і/або зв'язуючі молекули $[(-)C_xj]$ аніонного характеру також кон'югуються з даними молекулами, які представляють молекули-носії загальної формули (I/a), і, окрім того, серед "р₁, р₂ і р₃" величина щонайменше двох із них більша 0, тоді:

$$[(k)Mx] = [Ex_j]_{p1} + [C_{xck}-Ex_{ek}]_{p3} + [(-)C_xj]_{p2}$$

і нові полікатіонні біокон'югати виражаються схематичною формулою (V):



(V)

де:

"Ex" у $[Ex_j]_{p1}$ позначає підсилюючі молекули Ex різного (V) виду, безпосередньо кон'юговані ковалентними зв'язками з даними молекулами, які представляють молекули-носії загальної формули (I/a) і

"i" вказує чи ідентичні (i=1) підсилюючі молекули Ex, кон'юговані з даною молекулою-носієм за допомогою ковалентних зв'язків (i=1) або чи вони різного виду, з числом "i" (i=2, 3, ... "х" виду), і

"(-)C_x" у $[(-)C_xj]_{p2}$ позначає зв'язуючі молекули (-)C_x різного виду ("х") винятково аніонного характеру, кон'юговані ковалентними зв'язками з даними молекулами, які представляють молекули-носії загальної формули (I/a), для того, щоб зробити їх придатними до встановлення іонних зв'язків з катіонами, і

"j" вказує чи ідентичні (j=1) зв'язуючі молекули (-)C_x, кон'юговані ковалентними зв'язками з даною молекулою-носієм або чи вони різного виду, з числом "j" (j=2, 3, ... "х") і

"C_x-Ex" у $[C_{xck}-Ex_{ek}]_{p3}$ позначає підсилюючі молекули Ex різного ("х") виду, опосередковано кон'юговані ковалентними зв'язками через зв'язуючі молекули C_x різного ("х") виду, і ці молекули C_x також кон'югуються

ковалентними зв'язками з даними молекулами, які представляють молекули-носії загальної формули (I/a), і

"ск" вказує чи ідентичні зв'язуючі молекули Сх (ск=1), кон'юговані ковалентними зв'язками з даною молекулою-носієм, або чи вони різного виду з числом "ск" (ск=2, 3, ... "х"), і ці зв'язуючі молекули Сх, які частково залежать від структури підсилюючих молекул Ех, можуть бути нейтральними і/або аніонного і/або катіонного характеру,

"ек" вказує чи ідентичні (ек=1) підсилюючі молекули Ех, опосередковано кон'юговані ковалентними зв'язками через зв'язуючі молекули "Сх", або чи вони різного виду з числом "ек" (ек=2,3, ... "х").

Окрім того, степінь насичення підсилюючими молекулами $[E_x]_{p_1}$ і/або $[C_{x_{ск}}-E_{x_{ек}}]_{p_3}$ і/або зв'язуючими молекулами $[(-)C_{x_j}]_{p_2}$ у % від даної молекули, яка представляє молекулу-носії загальної формули (I/a) задається різними величинами "р₁, р₂ і р₃", тоді як сумарна величина "р₁+р₂+р₃" в одному даному полікатіонному біокон'югаті >0 та ≤100, завдяки чому визначається відношення між вільними (невтягнутими у пептидні зв'язки) та зв'язуючими NH₂-групами, яке у свою чергу впливає на заряд та на катіонний характер полікатіонних біокон'югатів; і таким чином

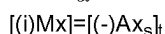
"р₁" вказує степінь насичення підсилюючими молекулами $[E_x]$ у % від молекули-носія загальної формули (I/a),

"р₂" вказує степінь насичення зв'язуючими молекулами $[(-)C_{x_j}]$ винятково аніонного характеру у % від молекули-носія загальної формули (I/a),

"р₃" вказує степінь насичення підсилюючими молекулами $[C_{x_{ск}}-E_{x_{ек}}]$, які зв'язуються зі зв'язуючими молекулами у % від молекули-носія загальної формули (I/a),

і на основі вищесказаного у схематичній формулі (V) "р₁+р₂+р₃">0 та ≤100, і серед "р₁, р₂ та р₃" величина щонайменше двох з них більша за 0; окрім цього, у даному полікатіонному біокон'югаті молекули Ех у $[E_x]$ та молекули $(-)C_{x_j}$ у $[(-)C_{x_j}]$ необов'язково ідентичні з тими Ех та Сх молекулами, які трапляються у $[C_{x_{ск}}-E_{x_{ек}}]$, дивергенція яких позначається "х" і буде згадуватися пізніше в прикладах прийнятим чином вибраних підсилюючих молекул, окрім цього, "r" та "m" мають теж значення що й у загальній формулі (I).

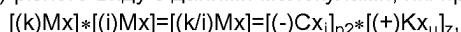
У випадку, коли підсилюючі молекули $[(-)A_{x_s}]$ аніонного характеру, які можуть бути або ідентичними або (дві або більше, тобто "х") різного виду, безпосередньо кон'югуються іонними зв'язками з вільними α-аміногрупами даних молекул, які представляють молекули-носії загальної формули (I/a), тоді:



і нові полікатіонні біокон'югати виражаються загальною формулою (VI):



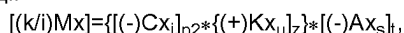
У випадку, коли підсилюючі молекули $[(+K)_{x_u}]$ катіонного характеру, які можуть бути або ідентичними або (дві або більше, тобто "х") різного виду, кон'югуються іонними зв'язками опосередковано через зв'язуючі молекули $[(-)C_{x_j}]$ винятково аніонного характеру, які можуть бути або ідентичними або (дві або більше, тобто "х") різного виду з даними молекулами, які представляють кон'югати загальної формули (III), тоді:



і нові полікатіонні біокон'югати виражаються загальною формулою (VII):



У випадку, коли додаткові підсилюючі молекули $[(-)A_{x_s}]$ аніонного характеру, які можуть бути або ідентичними або (дві або більше, тобто "х") різного виду, кон'югуються безпосередньо іонними зв'язками з вільними α-аміногрупами даних молекул, які представляють полікатіонні біокон'югати загальної формули (VII), тоді:



і нові полікатіонні біокон'югати виражаються схематичною формулою (VIII):

5

10

15

20

$$[(k/i)Mx] = [Ex]_{p1} * [(-)Ax]_{st} \text{ або } [Cx_{ck} - Ex_{ek}]_{p3} * [(-)Ax]_{st} \text{ або } [Ex]_{p1} + [Cx_{ck} - Ex_{ek}]_{p3} * [(-)Ax]_{st},$$

і нові полікатіонні біокон'югати виражаються загальною формулою (IX) або схематичною формулою (IX/a):

25



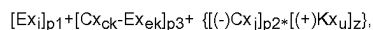
35

40

50

60

65



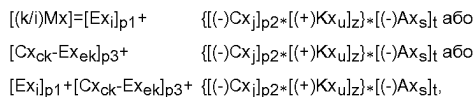
і полікатіонні біокон'югати виражаються загальною формулою (X) або схематичною формулою (X/a):

5



35

У випадку, коли додаткові підсилюючі молекули $[(-)A x_s]$ аніонного характеру, які можуть бути або ідентичними або (дві або більше, тобто "х") різного виду, кон'югуються безпосередньо іонними зв'язками з вільними α -аміногрупами даних молекул, які представляють полікатіонні біокон'югати загальної формули (X), тоді:



і полікатіонні біокон'югати виражаються загальною формулою (XI) або схематичною формулою (XI/a);

45



65

5

10

(XI/a)

15

у якій: „

20 "(-)Ax" у $[(-)Ax_s]_z$ позначає підсилюючі молекули (-)Ax різного виду ("x") аніонного характеру, кон'юговані іонними зв'язками безпосередньо з даними молекулами, які представляють молекули-носії загальної формули (I/a), і

"s" вказує чи є ідентичними ($s=1$) аніонні (-)Ax/полікатионні молекули, кон'юговані іонними зв'язками з даною полікатионною молекулою-носієм або чи вони є різного виду з числом "s" ($s=2, 3, \dots$ "x" виду), і

25 "(+)Kx" у $[(+)(Kx_u)_z]$ позначає підсилюючі молекули (+)Kx різного ("x") виду катіонного характеру, що кон'югуються іонними зв'язками опосередковано через зв'язуючі молекули аніонного характеру $[(-)Cx_j]$ різного ("x") виду з даними молекулами, які представляють молекули-носії загальної формули (I/a), тобто, по суті з кон'югатом загальної формули (III), і

"u" вказує чи є ідентичними ($u=1$) катіони (+)Kx і/або полікатиони, кон'юговані іонними зв'язками з даною сполукою загальної формули (III) або чи є вони різного виду з числом "u" ($u=2, 3, \dots$ "x" виду), і, окрім цього,

30 "t" вказує ступінь насичення підсилюючими молекулами $[(-)Ax_s]$ у % від молекули-носія загальної формули (I/a), і

"z" вказує ступінь насичення підсилюючими молекулами $[(+)(Kx_u)_z]$ у % від полікатионного біокон'югату загальної формули (I) або від молекули-носія загальної формули (I/a), які опосередковано кон'югуються через зв'язуючі молекули $[(-)Cx_j]$ аніонного характеру, і

35 "t" у загальній формулі (VI), і

"z" у загальній формулі (VII), і

"t"+"z" у схематичній формулі (VIII), і

"t"+"p₁" або "t"+"p₃" або "t"+"p₁"+"p₃" у загальній формулі (IX) і у схематичній формулі (IX/a), і

40 "z"+"p₁" або "z"+"p₃" або "z"+"p₁"+"p₃" у загальній формулі (X) і у схематичній формулі (X/a), і

"t"+"z"+"p₁" або "t"+"z"+"p₃" або "t"+"z"+"p₁"+"p₃" у загальній формулі (XI) і у схематичній формулі (XI/a), і величина кожної з цих сум >0 та ≤ 100 ; окрім цього, згідно з цими NH₂-групами, які не насичуються "t" і/або "z" і/або "p₁" і/або "p₃" будуть залишатися вільними, завдяки чому визначається відношення між вільними (невтягнутими у хімічні зв'язки) та зв'язуючими NH₂-групами, яке у свою чергу впливає на заряд та на катіонний характер полікатионних біокон'югатів, тоді як "z" вказує ступінь насичення молекул-носіїв катіонними підсилюючими молекулами $[(+)(Kx_u)_z]$, які кон'югуються опосередковано через зв'язуючі молекули $[(-)Cx_j]$, тому "z"="p₂", окрім цього

"r" та "m" і "[(k)Mx]" мають те ж значення, що й у загальній формулі (I),

"[Ex]_{p1}" має те ж значення, що й у загальній формулі (II),

50 "[(-)Cx]_{p2}" має те ж значення, що й у загальній формулі (III),

"[Cx_{ck}-Ex_{ek}]_{p3}" має те ж значення, що й у загальній формулі (IV).

Новизна полікатионних біокон'югатів загальної формули (I), що є об'єктом представленого винаходу, полягає у тому, що існують ізополіпептиди, які мають вільні α-аміногрупи як свої полікатионні молекули-носії, синтез яких здійснюється шляхом зв'язування мономерів діаміномонотетракарбонової кислоти, що утворюють ці ізополіпептиди не своїми аміногрупами у α-позиціях, а своїми аміногрупами у решті (β-, γ-, δ-, ε і т.д.) позиціях, і спосіб, який використовується для одержання цих молекул-носіїв розкритий в [описі патенту НУ 202553 В з пріоритетом від 21.10.1987, названий: "Спосіб для приготування ізополіпептидів із діаміномонотетракарбонових кислот та з лікарських препаратів, які їх містять та з рослинного захисного агенту, який містить поліізолизин"], окрім цього у [статті Szokan et al.: "Structure Determination and Synthesis of Lysine Isopeptides Influencing on Cell Proliferation" (Biopolymers, J. Wiley & Sons, Inc. 42:305-318, 1997)].

60 З даними молекулами, які представляють молекули-носії загальної формули (I/a) у нових полікатионних біокон'югатах загальної формули (I), одержаних згідно з винаходом, практично будь-яка органічна і/або неорганічна молекула, яка має функціональні групи, що відповідають за конфігурацію, може зв'язуватися як прийнятним чином вибрана підсилююча молекула у відповідності зі способом, відображеним загальною формулою (II), (III), (IV), (VI), (VII), (IX), (X), (XI) і схематичною формулою (V), (VIII), (IX/a), (X/a), (XI/a). Всі ці підсилюючі молекули можуть необов'язальним способом сприятливо вибиратися з групи сполук,

приведених нижче:

- гормони та гормонні антагоністи різного виду (стероїд, протеїн пептид, і т.д.; і активні фрагменти пептидних гормонів та їх похідних;
- насичені та ненасичені жирні кислоти, холестероли, фосфоліпіди (фосфогліцериди, сфінгомеліни, і т.д.) та їх похідні;
- нуклеїнові кислоти/антисенсні нуклеотиди;
- моносахариди, олігосахариди та полісахариди і їх похідні;
- вітаміни та їх похідні;
- відомі протипухлинні лікарські препарати та активні речовини і їх похідні;
- амінокислоти, олігопептиди, поліпептиди, додаткові глікопротеїни та лілопротеїни, їх фрагменти та їх похідні.

Нові полікатіонні біокон'югати загальної формули (I), одержані згідно з описаним у винаході способом, містять молекули-носії загальної формули (I/a) і дані молекули, які представляють ці молекули-носії, кон'югуються хімічними (ковалентними і/або іонними) зв'язками з підсилюючими молекулами, які прийнятним чином вибрані згідно з передбачуваним ефектом (наприклад антипроліферативними, антимікробними, генотоксичними, які покращують якість діагностичного магнітно-резонансного зображення, і т.д.), і ці підсилюючі молекули можуть бути або ідентичними або (дві або більше, тобто "х") різного виду, і завдяки придатності до застосування багатьох підсилюючих молекул у даному полікатіонному біокон'югаті загальної формули (I), множина прямих і/або опосередкованих ефектів може отримуватися одночасно. Декілька прикладів для сполук, що можуть сприятливо застосовуватися для цієї цілі приводяться нижче.

Сполуки, які містять частину безпосередньо підсилюючих молекул з необмежуваним характером

- сполуки, які мають антипроліферативні ефекти, наприклад: цитостатичні, які використовуються у клінічній практиці, додаткові цитокіни, які впливають на поділ та диференціацію клітин (наприклад різні фактори росту, а також антитіла, одержані проти рецепторів цих факторів, інтерферони і т.д.), додаткові пептиди/протеїни, які інгібують формацію нових кров'яних судин навколо клітин пухлини (ангіостатини, ендостатини), додаткові нуклеїнові кислоти/антисенсні олігонуклеотиди, які впливають антипроліферативними ефектами на злоякісно видозмінені клітини;

- сполуки, які мають антимікробні ефекти, наприклад антивірусний, антибактеріальний, протигрибковий, антипротозойний, і т.д. сполуки, які використовують у клінічній практиці, крім того нуклеїнові кислоти/комплексні антисенсні олігонуклеотиди, які інгібують реплікацію мікробів;

- нуклеїнові кислоти, виділені або синтезовані з метою передавання гена, які прийнятні для лікування генетичних хвороб (наприклад фіброзно-кістозної дегенерації);

- сполуки, які покращують якість діагностичного магнітно-резонансного зображення, наприклад парамагнітні іони металу та комплекси, які містять іони металу такого виду, особливо молекулярні комплекси іону гадоліну (Gd) (наприклад сіль димеглуміну Gd-диетилен-триамін-пентаацетатної кислоти);

- сполуки, які мають імунномодулянтні ефекти (наприклад інтерлейкіни, пухлинні некротичні фактори, і т.д.), які контролюють дану функцію імунної системи; та

- чисельні прийнятним чином вибрані сполуки з рештою ефектів не визначених тут, що можуть використовуватися з певними цілями як підсилюючі молекули.

Сполуки, які містять частину опосередкованих підсилюючих молекул, які покращують або підвищують вибірковість з необмежуваним характером:

- у зв'язку з антипроліферативними ефектами, наприклад моноклонові антитіла, які мають особливі схожості з поверхнею антигену даної клітини пухлини, а також антитіла або будь-яка сполука, яка має схожості з такого виду рецепторами (наприклад рецептор трансферину або рецептор фолату серед вітамінів і т.д.), які присутні у більшій пропорції на поверхні клітин пухлини ніж на нормальних (незлоякісно видозмінених) клітинах;

- окрім цього, у зв'язку з антипроліферативними та будь-якими іншими ефектами, спрямованими на будь-яку сполуку, яка має особливі схожості з певним рецептором, який трапляється виключно тільки на поверхні даної нормальної клітини (цей рецептор не існує як результат патологічного процесу), а саме, наприклад рецептори поверхні клітини азіалоглікопротеїну клітин печінки (з якими особливим чином зв'язується термінальна галактоза макромолекул) або з будь-якою іншою сполукою, яка зв'язує рецептори, які присутні у більшій пропорції на поверхні даних клітин-мішеней;

- у головних сполуках, які можуть зв'язуватися з даною клітиною-мішенню (наприклад мікробами або інфікованими мікробами клітинами, і т.д.) для досягання опосередкованого підсилюючого ефекту.

Сполуки, які містять частину безпосередніх та одночасно опосередкованих підсилюючих молекул з необмежуваним характером.

- у зв'язку з антипроліферативними ефектами, наприклад, гормони, гормонні антагоністи та їх похідні, особливо серед поліпептидних гормонів, людського гормону хоріогонадотропіну, які мають антипроліферативні ефекти, окрім цього, антитіла, отримані проти рецепторів факторів росту різного виду, які присутні у більшій пропорції на поверхні даної клітини пухлини, ніж на решті клітинах і одночасно впливають антипроліферативними ефектами на дані злоякісно видозмінені клітини, більше того на імунотоксини, які отримуються проти даної клітини пухлини;

- у зв'язку з цим антимікробні ефекти, наприклад, нейтралізуючі антитіла, які отримуються проти даних мікробів (наприклад вірусів, бактерій, грибків, і т.д.), окрім того, імунотоксини, які отримуються проти даного мікроба.

Нові полікатіонні біокон'югати загальної формули (I), одержані згідно з винаходом, містять молекули-носії

загальної формули (I/a) та дані молекули, які представляють ці молекули-носії, кон'югуються з підсилюючими молекулами, які можуть бути або ідентичними або (дві або більше, тобто "х") різного виду, що прийнятим чином вибрані згідно з вищезазначеними прикладами і кон'югація цих підсилюючих молекул позначається $[Ex_i]_{p1}$ і/або $[...-Ex_{ek}]_{p3}$, яка вказує на те, що молекули зв'язуються ковалентними зв'язками, окрім цього, $[(+)Ax_s]_t$, які мають аніонний характер і/або $[(+)Kx_u]_z$, які мають катіонний характер позначають молекули, що зв'язуються іонними зв'язками.

Нові полікатіонні біокон'югати загальної формули (I), одержані згідно з винаходом, містять молекули-носії загальної формули (I/a) і дані молекули, які представляють ці молекули-носії, кон'югуються з підсилюючими молекулами, які можуть бути або ідентичними або (дві або більше, тобто "х") різного виду, що прийнятим чином вибрані згідно з вищезазначеними прикладами, і підсилюючі молекули можуть кон'югуватися безпосередньо і/або опосередковано через зв'язуючі молекули, а останні, позначені $[Cx_{ok}...]_{p3}$ для ковалентних зв'язків та $[(-)Cx]_{p2}$ для іонних зв'язків, можуть зв'язувати підсилюючі молекули відповідно ковалентним або іонним чином, і ці зв'язуючі молекули можуть прийнятим чином вибиратися з необмежуваним характером з бікарбонових кислот, трикарбонових кислот, карбогідратів або амінокислот, або подовжувачів пептидного ланцюга.

Нові полікатіонні біокон'югати загальної формули (I), одержані згідно з винаходом, містять молекули-носії загальної формули (I/a) і дані молекули, які представляють ці молекули-носії, кон'югуються з підсилюючими молекулами, які можуть бути або ідентичними або (дві або більше, тобто "х") різного виду, що прийнятим чином вибираються згідно з вищезазначеними прикладами, і кон'югація підсилюючих молекул ковалентними і/або іонними хімічними зв'язками має місце безпосередньо і/або опосередковано у визначеній пропорції, переважно для досягнення насичення від 10 до 100%.

Переважні молекули, які представляють молекули-носії загальної формули (I/a) у нових полікатіонних біокон'югатах загальної формули (I), згідно з винаходом включають ці 60-120 членні, нерацемічні поліізо-L-лізини, тобто полі(ε)-L-лізин-водень-броміди, які самі по собі мають деякі антипроліферативні та антивірусні ефекти, як це розкривається у [описі патенту HU 202553 B з пріоритетом в Угорщині від 21 жовтня 1987р.].

Об'єктом даного винаходу є виявлення того, що кожен з нових полікатіонних біокон'югатів загальної формули (I), одержаних згідно зі способом, описаним у представленому винаході, містить молекули-носії загальної формули (I/a) і ці молекули-носії (які самі по собі мають деякі антипроліферативні ефекти) кон'югуються хімічними зв'язками зі сполуками, які мають антипроліферативні ефекти (деякі сполуки, прийнятим чином вибрані для цієї цілі, приводяться вище серед безпосередніх підсилюючих молекул), а біокон'югати, отримані таким чином, успішно застосовували для лікування злоякісностей, які розвиваються в організмах ссавців (надалі:- пухлини), in se, або комбінуються з відомими способами інгібування пухлин, прийнятих у клінічній практиці.

Додаткові підсилюючі молекули, які позначаються покращенням відповідним чином вибраної селективності, що детально розкрито вище (серед безпосередніх підсилюючих молекул), зв'язані з біокон'югатами, одержаними згідно з винаходом, підвищують концентрацію активних речовин у пухлинах, завдяки чому можуть послаблюватися небажані побічні ефекти і, таким чином, ефективність лікування може надалі підвищуватися.

Кон'югати, подібні до тих нових полікатіонних біокон'югатів, що мають антипроліферативний ефект, згідно з представленим винаходом вже одержані раніше. Статті з цієї тематики також опубліковані, серед яких ми хотіли б послатися на деякі з приведених нижче:

- Bofdanov-A.A Jr., Martin-C, Bogdanova-A.V. et al.: An adduct of cis-diammine-dichloroplatinum(II) and poly(ethylene glycol)poly(L-lysine)-succinate: synthesis and cytotoxic properties; Bioconjug-Chem. 1996Jan-Feb, 7(1): 144-9.

- Di-Stefano-G., Busi-C, Derenzini-M. et al.: Conjugation of 5-fluoro-2'-deoxyundine with lactosaminated poly-L-lysine to reduce extrahepatic toxicity in the treatment of hepatocarcinomas; Ital-J-Gastroenterol-Hepatol. 1998 Apr; 30(2): 173-7,

- Paprocka-M., Boratynski-J., Dus-D. et al.: Conjugation of the monoclonal antibody 17-1A with the nitroacridine compound C921 with the poly-L-lysine as an intermediate agent; Arch-Immunol-Ther-Exp-Warsz. 1997; 45(4): 343-9.

- Salazar-A.M., Levy-H.B., Ondra-S. et al.: Long-term treatment of malignant gliomas with intramuscularly administered polyinosinic-polycytidylic acid stabilized with polylysine and carboxymethylcellulose; an open pilot study; Neurosurgery. 1996 Jun; 38(6): 1096-103; discussion 1103-4.

Інше виявлення, яке міститься у даному винаході, є ознака молекул-носіїв загальної формули (I/a) у нових полікатіонних біокон'югатах загальної формули (I), що є полікатіонами, згідно з якою вони відповідають за доставку, а також за введення у клітини-мішені, прийнятим чином вибраних нуклеїнових кислот поліаніонного характеру, як підсилюючих молекул, зв'язаних з ними іонними зв'язками, тобто, для передавання генів, використовуючи той ефект, що кон'югуючи ковалентними зв'язками додаткові підсилюючі молекули, деталі яких вказано вище, які позначаються покращенням відповідним чином вибраної селективності, нові полікатіонні біокон'югати вибірково зв'язуються з клітинами-мішенями або у по суті вищій пропорції по відношенню до них ніж до клітин іншого типу.

Кон'югати, подібні до тих нових полікатіонних біокон'югатів, які згідно з винаходом здатні до передавання генів, вже одержані раніше. Статті з цієї тематики опубліковані у науковій літературі, серед яких ми хотіли б послатися на деякі публікації, як наприклад, на нижчеприведені:

- Erbacher-P., Roche-A.C, Monsigny-M., Midoux-P.: The reduction of the positive charges of polylysine by partial gluconoylation increases the transfection efficiency of polylysine/DNA complexes; Biochim.

Biophys.Acta. 1997Feb21; 1324(1): 27-36.

- Ferkol-T., Perales-J.C., Mularo-F., Hanson-R.W.. Receptor-mediated gene transfer into macrophages; Proc-Natl-Acad-Sci-USA. 1996 Jan 9; 93(1): 101-5.

- Kollen-W., Erbacher-P., Midoux-P. et al.: Glycosylated polylysines. Nonviral vectors for gene transfer into cystic fibrosis airway epithelial cells; Chest. 1997 Jun; 111 (6 suppl): 95S-96S.

- Liang-W.W., Shi-X., Deshpande-D. et al.: Oligonucleotide targeting to alveolar macrophages by mannose receptor-mediated endocytosis; Biochim-Biophys-Acta. 1996 Mar 13; 1279(2): 227-34.

- Schneider-H., Huse-K., Birkenmeier-G. et al.: Gene transfer mediated by alpha2-macroglobulin; Nucleic-Acids-Res. 1996 Get 1; 24(19): 3873-4.

- Schwarzenberger-P., Spence-S.E., Gooya-J.M. et al.: Targeted gene transfer to human hematopoietic progenitor cell lines through the c-kit receptor; Blood. 1996 Jan 15; 87(2): 472-8.

- Sosnowski-B.A., Gonzalez-A.M., Chandler-L.A. et al.: Targeting DNA to cells with basic fibroblast growth factor (FGF2); J-Biol-Chem. 1996 Dec 27; 271(52): 33647-53.

- Stewart-A.J., Pichon-C., Meunier-L. et al.: Enhanced biological activity of antisense oligonucleotides complexed with glycosylated poly-L-lysine; Mot-Pharmacol. 1996 Dec; 50(6): 1487-94.

Більше того, нові полікатіонні біокон'югати, які придатні для передавання генів у випадку додаткової кон'югації зі сполуками, які мають антипроліферативні ефекти (прийнятим чином вибрані сполуки, виділені серед безпосередніх підсилюючих молекул), придатні для більш ефективного лікування пухлин. Наукові

перевидання на цю тематику також опубліковані, серед яких ми посилаємося на деякі з приведених нижче:

- Cristiano-R.J., Roth-J.A.: Epidermal growth factor mediated DNA delivery into lung cancer cells via the epidermal growth factor receptor; Cancer-Gene-Ther. 1996 Jan-Feb; 3(1): 4-10.

- Foster-B.J., Kern-J.A.: HER2-targeted gene transfer; Hum-Gene-Ther. 1997 Apr 10; 8(6): 719-27.

- Ginobbi-P., Geiser-TA., Ombres-D., Citro-G.: Folic acid-polylysine carrier improves efficacy of c-myc antisense oligodeoxynucleotides on human melanoma (M14) cells; Anticancer-Res. 1997 Jan-Feb; 17(1 A): 29-35.

- Nguyen-D.M., Wiehle-S.A., Roth-J.A., Cristiano-R.J.: Gene delivery into malignant cells in vivo by a conjugated adenovirus/DNA complex; Cancer-Gene-Ther. 1997 May-Jun; 4(3): 183-90.

- Schachtschabel-U., Pavlinkova-G., Lou-D., Kohler-H.: Antibody-mediated gene delivery for B-cell lymphoma in vitro; Cancer-Gene-Ther. 1996 Nov-Dec; 3(6): 365-72.

- Shimizu-N., Chen-J., Gamou-S., Takayanagi-A.: Immunogene approach toward cancer therapy using erythrocyte growth factor receptor-mediated gene delivery; Cancer-Gene-Ther. 1996 Mar-Apr; 3(2): 113-20.

- Watanabe-N., Sato-Y., Yamauchi-N., Niitsu-Y.: Gene delivery into human cancer cells via transferrin receptor; Nippon-Rinsho. 1998 Mar; 56(3): 724-30.

Інші виявлення також належать до об'єкту представленого винаходу, а саме, що кожен із нових полікатіонних біокон'югатів загальної формули (I), одержаних згідно зі способом, описаним у винаході, містить молекули-носії загальної формули (I/a) і ці молекули-носії (які мають самі по собі деякі антивірусні ефекти) кон'югуються хімічним зв'язком з прийнятим чином вибраними сполуками, які мають антивірусні ефекти, як безпосередні підсилюючі молекули, і завдяки цьому підсилюють антивірусний ефект нових полікатіонних біокон'югатів

Нові полікатіонні біокон'югати, які отримуються способом, описаним у попередньому параграфі, окрім цього кон'юговані хімічним зв'язком з прийнятим чином вибраними сполуками, які покращують або підвищують селективність по відношенню до клітин-мішеней, які інфіковані вірусом (прийнятим чином вибрані сполуки, виділені серед опосередкованих підсилюючих молекул) є придатними для підвищення відносної концентрації нових полікатіонних біокон'югатів антивірусного характеру у клітинах, які інфікуються вірусом і завдяки цьому ефективність лікування буде підвищуватися, а побічні ефекти значно послаблюватися. Кон'югати, подібні до тих нових полікатіонних біокон'югатів з антивірусним ефектом, згідно з представленим винаходом вже були одержані раніше. Статті на цю тематику також були опубліковані, серед яких ми хотіли б послатися на деякі з нижче приведених:

- Di-Stefano-G., Colonna-F.P., Bongini-A. et al.: Ribavirin conjugated with lactosaminated poly-L-lysine: selective delivery to the liver and increased antiviral activity in mice with viral hepatitis; Biochem-Pharmacol. 1997 Aug 1; 54(3): 357-63.

- Fiume-L., Di-Stefano-G., Busi-C. et al.: Liver targeting of antiviral nucleoside analogues through the asialoglycoprotein receptor; J-Virat-Hepat. 1997; 4(6): 363-70.

- Fiume-L.; Di-Stefano-G.; Busi-C. et al.: Hepatotropic conjugate of adenine arabinoside monophosphate with lactosaminated poly-L-lysine. Synthesis of the earner and pharmacological properties of the conjugate, J-Hepatol. 1997 Feb; 26(2). 253-9.

- Nakazono-K., Ito-Y., Wu-C.H., Wu-G Y.: Inhibition of hepatitis B virus replication by targeted pretreatment of complexed antisense DNA in vitro; Hepatology 1996 Jun; 23(6) 1297-303.

Інше виявлення також належить до об'єкту представленого винаходу, а саме, що кожен з нових полікатіонних біокон'югатів загальної формули (I), одержаних згідно зі способом, описаним у винаході, містить молекули-носії загальної формули (I/a) і ці молекули-носії кон'югуються хімічним зв'язком зі сполуками, які мають різний вид антимікробних ефектів (прийнятим чином вибрані сполуки, виділені серед безпосередніх підсилюючих молекул) і завдяки цьому нові полікатіонні біокон'югати значно підсилюють антимікробні ефекти, які перевищують антивірусний характер, який описувався у трьох попередніх параграфах.

Нові полікатіонні біокон'югати, які отримуються способом, описаним у попередньому параграфі, окрім цього, кон'юговані хімічним зв'язком зі сполуками, які покращують або підсилюють селективність щодо клітин-мішеней,

які інфікуються різного виду мікробами (прийнятим чиним вибрані сполуки, виділені серед непрямих підсилюючих молекул) є прийнятними для підвищення відносної концентрації полікатіонних біокон'югатів антимікробного характеру у клітинах, які інфікуються даними мікробами і завдяки чому ефективність лікування буде підвищуватися а побічні ефекти значно послаблюватися.

Інше виявлення також належить до об'єкту представленого винаходу, а саме, що кожен із нових полікатіонних біокон'югатів загальної формули (I), одержаний згідно зі способом, описаним у винаході, містить молекули-носії загальної формули (I/a) і ці молекули-носії кон'югуються хімічним зв'язком з макромолекулярними парамагнітно-контрастними агентами, наприклад з комплексами молекули гадоліну та їхніми похідними (прийнятим чиним вибрані сполуки, виділені серед безпосередніх підсилюючих молекул) і завдяки цьому нові полікатіонні біокон'югати значно покращують якість діагностичного магнітно-резонансного зображення шляхом підвищення контрасту між різного виду органами, тканинами, а також різними патологічними змінами, наприклад пухлинами.

Нові полікатіонні біокон'югати, які отримуються способом, описаним у попередньому параграфі окрім цього, кон'юговані хімічним зв'язком зі сполуками, які покращують або підвищують селективність щодо різного виду органів-мішеней або різних патологічних змін (прийнятим чиним вибрані сполуки, виділені серед опосередкованих підсилюючих молекул) є прийнятними для значного підвищення відносної концентрації парамагнітно-контрастного характеру полікатіонних біокон'югатів у різного виду органів, тканинах, а також різних патологічних змінах, і завдяки цьому додатково підвищують якість магнітно-резонансного зображення.

Кон'югати, подібні до тих нових полікатіонних біокон'югатів парамагнітного характеру, згідно з представленим винаходом вже одержані раніше. Статті з цієї тематики також опубліковані, серед яких ми хотіли б послатися на деякі з нижчеприведених:

- Opsahl-LR., Uzgisir-E.E., Vera-D.R.: Tumor imaging with a macromolecular paramagnetic contrast agent: gadopentetate dimeglumine-polylysine; Acad-Radiol. 1995 Sep; 2(9): 762-7.

- Su-M.Y., Muhler-A., Lao-X., Nalciglu-O.: Tumor characterization with dynamic contrast-enhanced MRI using MR contrast agents of various molecular weights, Magn-Reson-Med. 1998 Feb; 39(2): 259-69.

- Vera-D.R., Buonocore-M.H., Wisner-E.R. et al.: A molecular receptor-binding contrast agent for magnetic resonance imaging of the liver; Acad-Radiol. 1995 Jun; 2(6): 497-506

- Vogl-T.J., Hoffmann-Y., Juergens-M. et al.: Experimented Evaluierung der kontrastmittelverstärkten, hochauflösenden MR-Angiographie am Tiermodell. Gd-DTPA gegenüber Gd-DTPA-Polylysine; Radiologie. 1996 Mar; 36(3): 254-62.

Інше виявлення також належить до об'єкту представленого винаходу, а саме що кожний із нових полікатіонних біокон'югатів загальної формули (I), одержаний згідно зі способом, описаним у винаході, містить молекули-носії загальної формули (I/a) і ці молекули-носії як полікатіони роблять полікатіонні біокон'югати придатними для введення в організм свавця через трансдермальну доставку шляхом іонтофорезу.

Нові полікатіонні біокон'югати, які доставляються крізь шкіру, проявляють свої ефекти головним чиним у різному нашаруванні шкіри та у підшкірних тканинах на ділянці іонтофорезу, і деяка їх кількість діє систематично. Ці види дій залежать від розміру молекули, фізико-хімічного характеру та типу прийнятим чиним вибраної безпосередньої і/або опосередкованої підсилюючої молекули полікатіонних біокон'югатів, а також від природи прикладеного електричного поля.

Концентрація нових полікатіонних біокон'югатів, які отримуються згідно з терапевтичними цілями (наприклад антипроліферативні або антивірусні ефекти, і т.д.) і, які містять прийнятим чиним вибрані та вищевизначені безпосередні і/або опосередковані підсилюючі молекули, підвищується в місці трансдермального застосування і завдяки цьому локальна ефективність лікування буде значно підвищуватися, а побічні ефекти послаблюватися.

Якщо ціллю є досягнення систематичного ефекту через трансдермальне застосування, то перевага буде проявлятися у постійному неінвазивному прийманні полікатіонних біокон'югатів, які оминають шлунково-кишкову систему. Кон'югати, подібні до тих нових полікатіонних біокон'югатів, які придатні до трансдермального застосування, згідно з представленим винаходом, вже отримані раніше. Статті з цієї тематики також опубліковані, серед яких ми хотіли б послатися на деякі з нижчеприведених:

- Turner-N.G., Ferry-L., Price-M. et al.: Iontophoresis of poly-L-lysine: the role of molecular weight?; Pharm-Res. 1997 Oct; 14(10): 1322-31.

- Vanbever-R., Prausnitz-MR., Preat-V.: Macromolecules as novel transdermal transport enhancers for skin electroporation; Pharm-Res. 1997 May; 14(5): 638-44.

Інше виявлення також належить до об'єкту представленого винаходу, а саме, що кожен із нових полікатіонних біокон'югатів загальної формули (I), отриманих згідно зі способом, описаним у винаході, містить молекули-носії загальної формули (I/a) і ці молекули-носії кон'югуються з вищевиділеними безпосередніми і/або опосередкованими підсилюючими молекулами, які прийнятим чиним вибрані з даною терапевтичною ціллю (наприклад антипроліферативні або антивірусні ефекти або генна терапія, і т.д.), і ці нові полікатіонні біокон'югати слід розміщувати у катіонних ліпосомах, і завдяки цьому ефективність лікування буде підвищуватися, а побічні ефекти значно послаблюватися. Кон'югати, подібні до тих нових полікатіонних біокон'югатів, які прийнятні для введення у катіонні ліпосоми, згідно з представленим винаходом вже отримані раніше. Статті з цієї тематики також опубліковані, серед яких ми б хотіли послатися на деякі з нижчеприведених:

- Gao-X., Huang-L.: Potentiation of cationic liposome-mediated gene delivery by polycations; Biochemistry. 1996 Jan 23; 35(3): 1027-36.

- Lee-R.J., Huang-L.: Folate-targeted, anionic liposome-entrapped polylysine-condensed DNA for tumor cell-specific gene transfer; J-Biol-Chem. 1996 Apr 5; 271(14): 8481-7.

- Mack-K.D., Walzem-R.L, Lehmann-Bruinsma-K. et al.: Polylysine enhances cationic liposome-mediated transfection of the hepatoblastoma cell line Hep G2; Biotechnol-Appl-Biochem. 1996 Jun; 23 (Pt 3): 217-20.

- Saldeen-J., Curiel-D.T., Eizirik-D.L et al.: Efficient gene transfer to dispersed human pancreatic islet cells in vitro using adenovirus-polylysine/DNA complexes or polycationic liposomes; Diabetes. 1996 Sep; 45(9): 1197-203.

- Vitiello-L, Chonn-A., Wasserman-J.D. et al.: Condensation of plasmid DNA with polylysine improves liposome-mediated gene transfer into established and primary muscle cells; Gene-Ther. 1996 May; 3(5): 396-404.

- Zelphati-O., Szoka-F.C Jr.: Mechanism of oligonucleotide release from cationic liposomes; Proc-Natl-Acad-Sci-U-S-A. 1996 Oct 15; 93(21): 11493-8

Біологічно ефективні кон'югати, які описані у наукових оглядах по медицині та процитовані вище, містять молекули-носії, які утворюються з мономерів діаміно-монокарбонової кислоти, а саме лізинів, що зв'язуються між собою пептидними зв'язками через аміногрупи у α -позиціях, тому як результат їх синтезу формується полі-(α)-L-лізин і ці факти опосередковано підтверджують будь-яким чином виявлення представленого винаходу.

На основі всіх вищезазначених аспектів, новизна винаходу полягає у тому, що кожен з полікатионних біокон'югатів загальної формули (I), одержаних згідно з винаходом, містить молекули-носії загальної формули (I/a) і ці молекули-носії утворюються з мономерів діаміномонокарбонової кислоти, які зв'язуються пептидними зв'язками сформованими через аміногрупи у (β -, γ -, δ -, ϵ і т.д.) позиціях, які відповідають величині "m" і не через змінні групи у α -позиції, і тому як результат синтезу формуються β -, γ -, δ -, ϵ і т.д. поліпептиди, які структурно повністю відрізняються від тих поліпептидів, що описані у процитованих наукових оглядах.

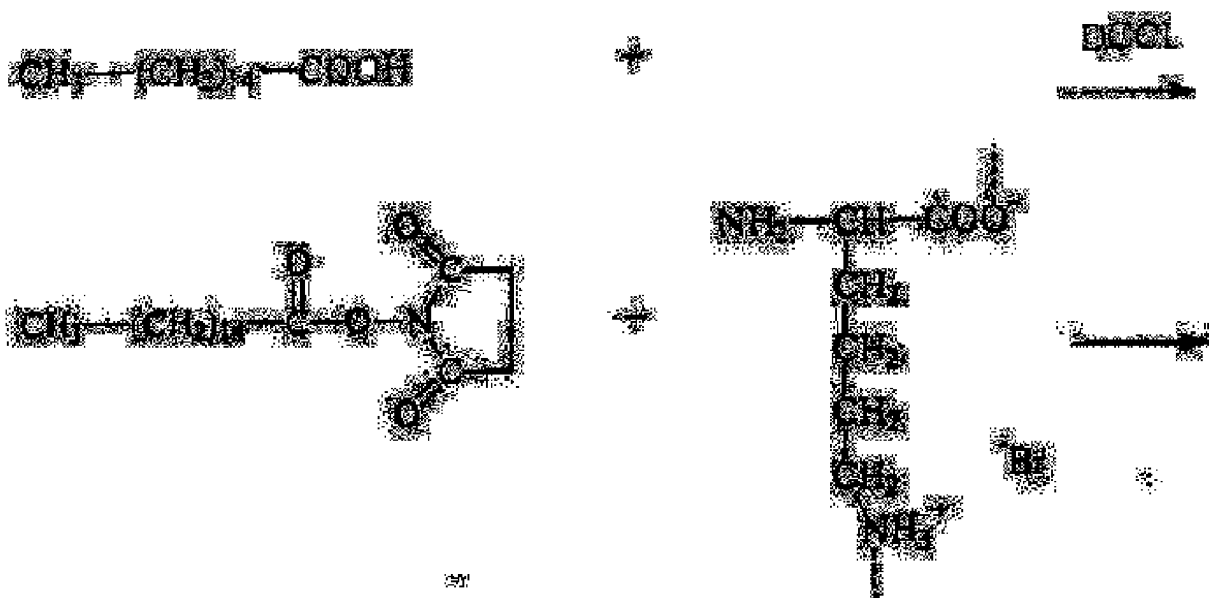
Біологічний характер нових полікатионних біокон'югатів загальної формули (I) відповідно буде змінюватися. Наприклад, вони більш стійкі проти протеолітичних ензимів, окрім цього молекули-носії загальної формули (I/a) самі по собі мають антипроліферативну антивірусну активність і як наслідок біологічна ефективність нових полікатионних біокон'югатів загальної формули (I) переважно послаблюється. Нові полікатионні біокон'югати загальної формули (I) згідно з винаходом визначаються як фармацевтичні препарати, що придатні пероральним, парентеральним або трансдермальним чином для систематичного або місцевого використання.

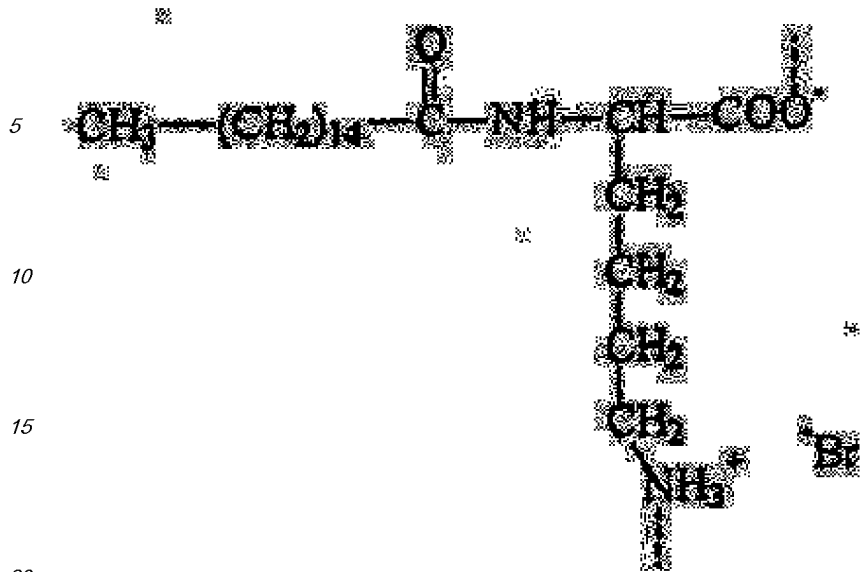
Переважні речовини, які представляють нові полікатионні біокон'югати загальної формули (I), згідно з винаходом є тими біокон'югатами, у яких молекули-носії загальної формули (I/a) є полі-(ϵ)-L-лізинами, тоді як одержання деяких, які представляють їх, ілюструється наступними приведеними нижче прикладами:

Приклад 1

Приготування пальмітоїл-полі-(ϵ)-L-лізин-водень-броміду

Схема реакції:





Формулою пальмітоїл-полі-(ε)-L-лізин-водень-броміду згідно із загальною формулою (II) нових полікатионних біокон'югатів винаходу є:



у якій:

"m"=3, "r"=99±2,



"i"=1, тобто тільки один єдиний вид підсилюючих молекул зв'язується хімічним зв'язком з молекулою носієм і "r"=12±2%.

а) Полі-(ε)-L-лізин-водень-бромід (середнє значення $M_w=12700\pm200$, особливе обертання площини поляризації світла $=[\alpha]_D^{25}=+32,4^\circ$, степінь полімеризації: $R=99\pm2$) як молекула-носії загальної формули (I/a) згідно з винаходом синтезувався наступним способом описаним у [Прикладі 1i) в описі Угорського патенту HU 202553 B].

б) одержання пальмітоїл-N-гідрокси-сукциниміду потребувало реакції пальмітоїляції: 1,28г (5мілімоль) пальмітоїлової кислоти та 0,58г (5мілімоль) N-гідрокси-сукциниміду розчинялися у 12мл абсолютного тетрагидрофурану і до цього розчину додавалося 1,03г (5мілімоль) дициклогексилкарбоміду, потім суміш розмішувалась протягом 4 годин при 0 °С, потім залишалась нерухомою протягом 12 годин при +4 °С і дициклогексилкарбамід, який випав в осад, що утворився протягом процесу, фільтрувався в скляному фільтрі у вакуолі і промивався три рази тетрагидрофураном, чистий розчин, отриманий таким чином випаровувався до сухого стану, твердий осад розчинявся у 100мл етилацетату, і останній промивався три рази 5% розчином бікарбонату натрію потім три рази водою, що надавало в результаті 1,08г кінцевого продукту пальмітоїл-N-гідрокси-сукциниміду у білій кристалічній формі. Його чистота перевірялась тонкошаровою хроматографією та нерозчинним залишком.

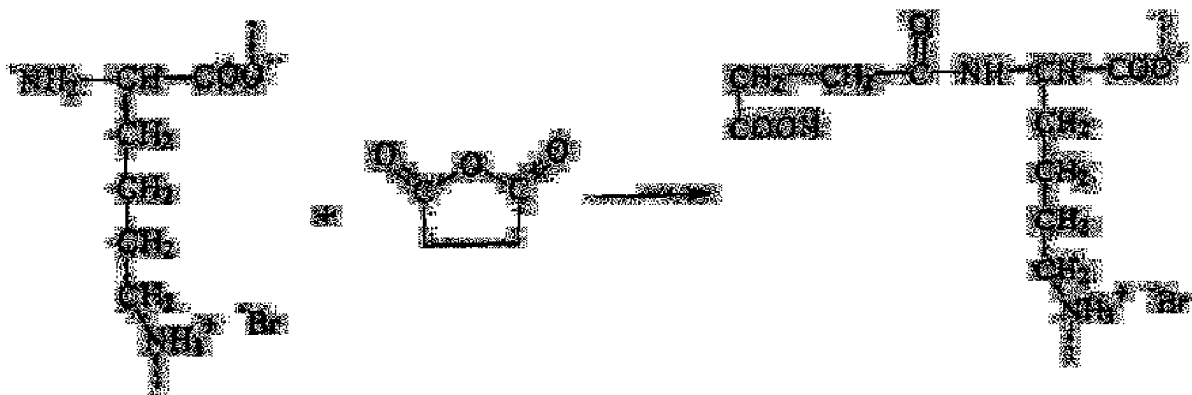
с) 250мг полі(ε)-L-лізин-водень-броміду, одержаних згідно зі способом описаним у Прикладі 1а) розчинялися у 1,5мл води, рН розчину встановлювався рівним 8 шляхом додавання 1N NaOH при інтенсивному перемішуванні, потім розчин очищався додаванням 1,5мл тетрагидрофурану та 0,5мл диметилформаміду і після додавання 50мг бікарбонату натрію при інтенсивному перемішуванні, 28мг свіжо приготованого згідно з Прикладом 1b) пальмітоїл-N-гідрокси-сукциниміду і розчиненого у 0,2мл суміші тетрагидрофуран/диметилформамід з пропорцією 6:1 додавалися до реакційної суміші, після 4 годин інтенсивного розмішування, в той час як рН утримувався рівним 8 шляхом додавання по краплі до розчину 5N гідроксиду натрію і потім залишався нерухомим протягом 12 годин при +4 °С. Слідуючи цьому, додавалося по краплі 0,1мл азеотропного розчину броміду водню, потім реакційна суміш розливалася з надлишком (20мл) тетрагидрофурану, осад промивався тетрагидрофураном три-чотири рази доки не ставав порошкоподібним, потім останній промивався два рази диетиловим ефіром і потім просушувався; кінцевий продукт пальмітоїл-полі(ε)-L-лізин-водень-броміду отримувався цим способом. Кількість добутого продукту становила 245мг. Вільні аміногрупи продукту перевірялися аналізом тринітробензолсульфонові кислоти, згідно з яким степінь заміщення становила $12 \pm 2\%$. Збільшуючи кількість пальмітоїл-N-гідрокси-сукцинимідного реагенту,

ступінь заміщення також зростає і досягає необхідного % рівня.

Приклад 2

Одержання гемісукциніл-полі-(ε)-L-лізин-водень-броміду

Схема реакції:



Формулою солі гідроброміду гемісукциніл-полі-(ε)-L-лізину згідно із загальною формулою (III) нових сполук винаходу є:



у якій:

"m"=3, "r"=99±2;



"j"=1; тобто, тільки один єдиний вид зв'язуючих молекул зв'язується ковалентними зв'язками з молекулою-носієм та "p₂"=20±2%.

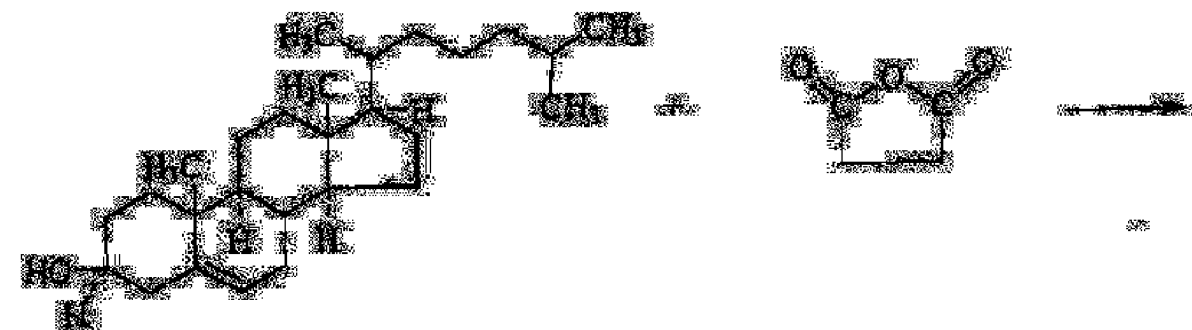
а) Полі-(ε)-L-лізин-водень-бромід, будучи молекулою-носієм загальної формули (I/a) винаходу, синтезувався згідно з Прикладом 1а) представленої заявки на патент.

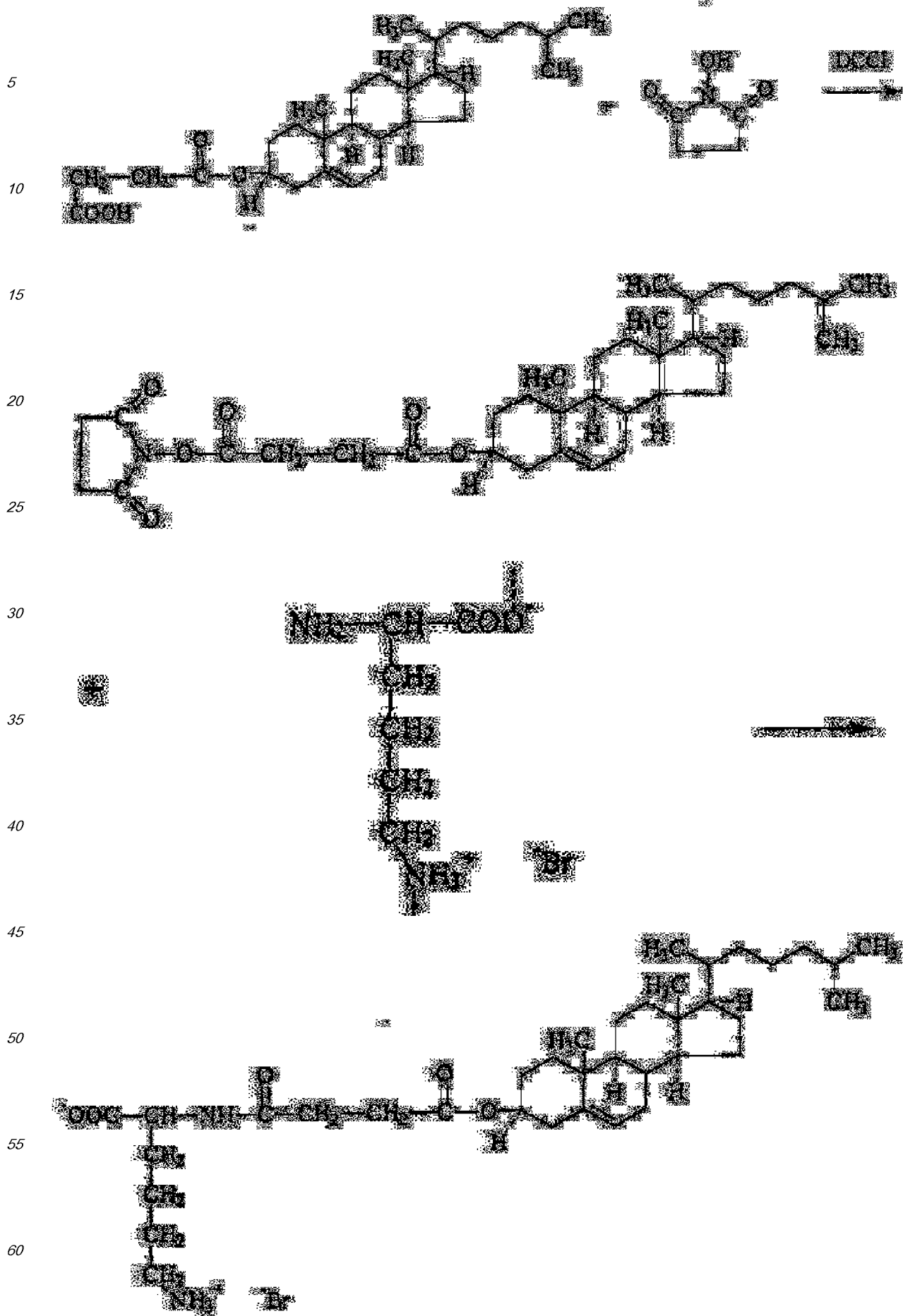
б) 60мг полі-(ε)-L-лізин-водень-броміду, одержані згідно з Прикладом 1а) розчинялися у 2мл води, а рН розчину встановлювався рівним 8 шляхом додавання 1N гідроксиду натрію при інтенсивному розмішуванні, потім через приблизно 40 хвилин 30мг свіжо приготованого сукцинового ангідриду додавалися порціями у розчин, тоді як утримування рН рівним 8 досягалося додаванням додатково по краплі 5N NaOH після розмішування протягом 40 хвилин, і в кінці реакції рН суміші знижувався до 4,5 за допомогою 6N соляної кислоти, потім він поміщався у діалізний мішок та потім діалізувався водою протягом 48 годин при температурі +4°C шляхом чотириразової зміни води, кінцевий продукт солі гемісукциніл-полі-(ε)-L-лізин-водень-броміду відділявся холодним сушінням. Кількість отриманого продукту становила 46мг. Вільні аміногрупи продукту перевірялися аналізом тринітробензолсульфонової кислоти, згідно з яким ступінь заміщення становила 20%. Збільшуючи кількість сукцинової кислоти, ступінь заміщення також зростала і досягала властивого необхідного % рівня.

Приклад 3

Одержання холестерол-гемісукциніл-полі-(ε)-L-лізин-водень-броміду

Схема реакції:





Формулою солі гідроброміду холестерол-гемісукциніл-полі-(ε)-L-лізину згідно загальною формулою (IV) нових полікатионних біокон'югатів винаходу є:



у якій:

"m"=3, "r"=99±2



"E"=холестерол;

"ek"="ск"=1, тобто тільки один єдиний вид підсилюючих та зв'язуючих молекул зв'язується ковалентними зв'язками з молекулою-носієм, і

"p₃"=15±2%.

а) Полі-(ε)-L-лізин-водень-бромід як молекула-носіє загальної формули (I/a) винаходу синтезувався згідно з Прикладом 1а) представленої заявки на патент.

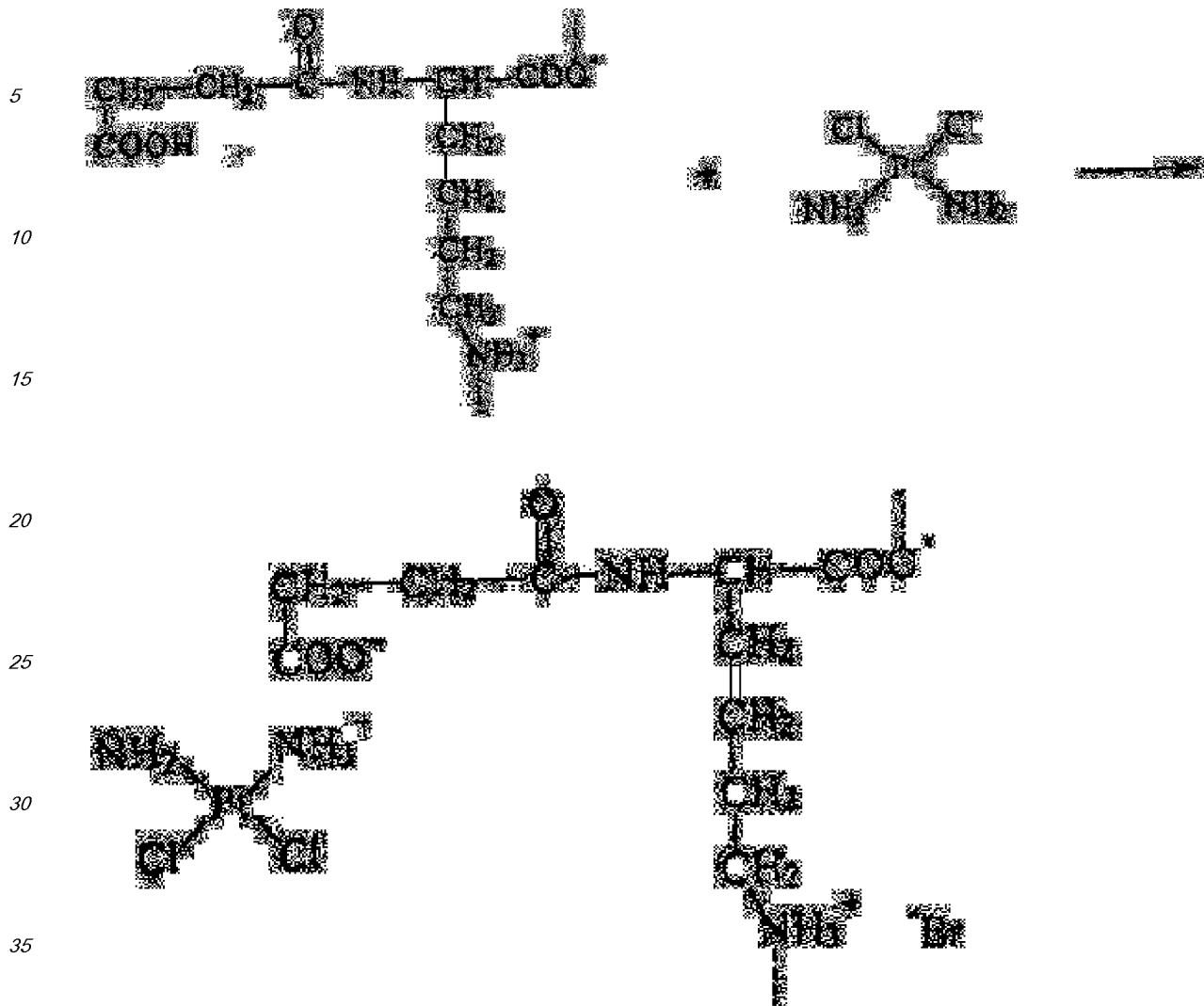
б) одержання холестерол-гемісукцинат-N-гідрокси-сукцинимідого ефіру, необхідного для кон'югації 0,98г (2мілімоля) комерційно доступного (напр. у Сигма) холестерол-гемісукцинату та 0,23г (2мілімоля) N-гідрокси-сукциниміду розчинялися у 10мл абсолютного тетрагідрофурану, потім додавалося 0,41г (2мілімоля) дициклогексилкарбаміду і суміш розмішувалась при 0°C протягом 4 годин, потім залишалася нерухомою протягом 12 годин, і таким чином утворений осад дициклогексилкарбаміду фільтрувався скляним фільтром у вакуолі, промивався три рази тетрагідрофураном, і таким чином отриманий чистий розчин випарювався до сухого стану, твердий осад розчинявся у 50мл етилацетату, і останній промивався три рази 5% розчином бікарбонату натрію, потім три рази водою. Потім він просушувався додаванням натрієвого сульфатсукцинату після промивання етилацетатом та випарювання розчину. Кінцевий продукт-ефір холестерол-гемісукцинат-N-гідрокси-сукцинимід отримувався у вигляді білого кристалічного матеріалу. Кількість отриманої речовини становила 0,73г. Чистота перевірялась тонкошаровою хроматографією та нерозчинним залишком.

в) 240мг солі полі-(ε)-L-лізин-водень-броміду, синтезованої згідно з Прикладом 3а) розчинялися у 4,8мл води і рН розчину встановлювався рівним 8 за допомогою 1N гідроксиду натрію при інтенсивному розмішуванні та додаванням 1,6мл тетрагідрофурану отримувався чистий розчин, потім у нього наливалося 200мг бікарбонату натрію при інтенсивному розмішуванні, додаванням 50мг ефіру холестерол-гемісукцинат-N-гідрокси-сукциниміду свіжо приготованого згідно з Прикладом 3б), розчиненим у 2,4мл тетрагідрофурану, і розчин інтенсивно розмішувався при кімнатній температурі протягом 4 годин, в той час як рН залишався рівним 8 шляхом додавання по краплі у розчин 5N гідроксиду натрію. Потім він залишався нерухомим протягом 12 годин при +4°C, потім 0,3мл азеотропного броміду водню додавалися по краплі і реакційна суміш розливалася з надлишком (30мл) тетрагідрофурану. Після цього осад три-чотири рази промивався тетрагідрофураном доки не ставав порошкоподібним. Останній два рази промивався діетиловим ефіром, просушувався і цим способом отримувався кінцевий продукт-сіль холестерол-гемісукцинил-полі-(ε)-L-лізин-водень-броміду з кількістю отриманої речовини, що становила 275г. Вільні аміногрупи продукту перевірялися аналізом тринітробензолсульфонової кислоти, згідно з яким степінь заміщення становила 15±2%. Збільшуючи кількість ефіру холестерол-гемісукцинат-N-гідрокси-сукциниміду, степінь заміщення також збільшувалась і досягала властивого необхідного % рівня.

Приклад 4

Одержання полі-(ε)-L-лізин-цисплатин-водень-броміду

Схема реакції:



Формулою полі-(ε)-L-лізін-цисплатин-водень-броміду згідно з новими полікатионними біокон'югатами загальної формули (VII) винаходу є:

(VII)



у якій

"m"=3, "r"=99±2,



"(+)"К" = цисплатин,

"u"="j"=1; тобто, тільки один єдиний вид підсилюючих та зв'язуючих молекул, які відповідно зв'язуються іонними зв'язками з молекулою-носієм, і

"u"="p₂"=80±2%.

10мг цисплатину (Platidiam[®], manufacturer: Lachema, Czech Rep) розчинялися у 3мл води і до цього розчину додавалося 23мг солі гемюкциніл-полі-(ε)-L-лізін-водень-броміду з 80% сукциніляцією, одержаної згідно з Прикладом 1 представленої заявки на патент, розчин залишався нерухомим протягом 48 годин при +4 °С, потім він поміщався у діалізний мішок і діалізувався водою протягом 48 годин при температурі +4 °С шляхом чотириразової зміни води, кінцевий продукт полі-(ε)-L-лізін-цисплатин-водень-броміду потім відділявся холодним просушуванням. Кількість отриманої речовини становила 15мг. Pt-вміст (тобто, вміст цисплатину)

продукту аналізувався спектроскопією атомного поглинання, згідно з якою масове відношення Pt/Br=16, молярне відношення =6,5, Pt-вміст=2,7мг/г; кількість цисплатину у молекулі полі-(ε)-L-лізин-цисплатин-водень-броміду була пропорційною степені сукциніляції гемісукциніл-полі-(ε)-L-лізин-водень-броміду.

Біологічні випробування

Пухлинний інгібувальний ефект полікатіонних біокон'югатів, який є частиною об'єкта винаходу вивчався, *in vitro*, на культурах клітин пухлини та *in vivo* на трансплантантах пухлинах гризунів. Інгібувальний ефект *in vitro* на проліферації клітин та інгібувальний ефект росту пухлин *in vivo* різних полікатіонних біокон'югатів, одержаних згідно з винаходом, порівнювався з невилікуваним зразком.

Біологічні експерименти проводилися зі сполуками, що були приготовані згідно з прикладами №1, 2, 3 та 4 винаходу, а саме

- палмітоїл-полі-(ε)-L-лізин-водень-бромід,
- гемісукциніл-полі-(ε)-L-лізин-водень-бромід,
- холестерол-гемісукциніл-полі-(ε)-L-лізин-водень-бромід,
- полі-(ε)-L-лізин-цисплатин-водень-бромід.

Експерименти *in vitro*

Експерименти *in vitro* проводилися з палмітоїл-полі-(ε)-L-лізин-водень-бромідом, гемісукциніл-полі-(ε)-L-лізин-водень-бромідом та полі-(ε)-L-лізин-цисплатин-водень-бромідом.

Клітинні лінії, які використовувались в експериментах:

- Лімфоцитна клітинна лінія мишачої лейкемії P388, виділена Arthur D. Little Inc., Cambridge, Mass., USA, встановлена *in vitro* в Національному Інституті Онкології, Будапешт, Угорщина [Cancer Treat. Rep. 1986; 70: 279-284];

- людська клітинна лінія раку молочної залози MCF-7, виділена з Американської Колекції Типів Культур;
- людська клітинна лінія раку простати PC3, виділена з Американської Колекції Типів Культур;

Способи, які використовувались в експериментах *in vitro*:

1. Клоногенний аналіз:

Клітини MCF-7 або PC3 поміщалися в чашки Петрі, потім в адекватному середовищі та при адекватних умовах вирощувались клітини із періодичними розчиненнями різних полікатіонних біокон'югатів, одержаних згідно з винаходом. Колонії, які складають як мінімум 30 клітин, потім підраховувались і отримані з трьох паралельних чашок Петрі величини осереднювались. Відносна ефективність клонування підраховувалась беручи контрольні величини за 100 процентів [Cancer Detection and Prevention, 20(2): 146-152, 1996].

2. Інгібування проліферації:

- Аналіз сульфородаміну В (SRB): приблизно від однієї до двох тисяч клітин поміщалися у кожну лунку спеціального маленького пластикового лотка (мікролункові планшети). Клітини вирощувались в адекватному середовищі та при адекватних умовах і після прилипання до поверхні піддавались обробці серійними розчинами різних полікатіонних біокон'югатів, приготованих згідно з винаходом. В кінці експерименту клітини переводилися в осад, забарвлювались SRB і оптична густина, яка прямо пропорційна клітинній проліферації, зчитувалась у мікропланшетному рідері CLS 962 ELISA. Відносна інгібування проліферації підраховувалась беручи контрольні величини за 100 процентів [Cancer Detection and Prevention, 20(2)- 146-152, 1996]

- Спосіб підрахунку клітин з камерою типу Нойбауера: в культурах суспензії клітин з експоненціальним ростом, які знаходилися в адекватному середовищі та при адекватних умовах, піддавались обробці серійними розчинами різних полікатіонних біокон'югатів, одержаних згідно з винаходом і після 24 і 48 годин обробки клітини забарвлювались голубим трипаном, оброблені та контрольні клітини підраховувались у модифікованій геміцитометричній камері типу Нойбауера. Відносна інгібування проліферації підраховувалося, беручи контрольні величини за 100 процентів.

Експерименти *in vivo*

Експерименти *in vivo* проводилися з палмітоїл-полі-(ε)-L-лізин-водень-бромідом та з холестерол-гемісукциніл-полі-(ε)-L-лізин-водень-бромідом як монотерапія і разом з Cytoxan® (Bristol-Myers) як комбінована терапія, а сполуки призначалися у програмах єдиної або повторної дозувальної терапії, і вони застосовувались внутрішньовенно та внутрішньочеревним чином.

Інгібувальний ефект полікатіонних біокон'югатів росту пухлини вивчався на наступних трансплантантах пухлинах гризунів:

- лімфатичні клітини лейкемії P-388, виділені Cambridge, Mass, USA, трансплантувалися *i.p.* та *s.c.* в тварин: вроджені самці мишей BDF1, які важать 22-24г, обумовлені патогенними вільними (SPF) розмноженнями;
- саркома S-180, виділена Chester Beatty I., London, трансплантувалася *s.c.* тварин: вроджені самці мишей BDF1, які важать 22-24г, обумовлені патогенними вільними (SPF) розмноженнями.

Результати біологічних експериментів

Експерименти *in vitro*

На культурах клітин пухлини *in vitro* - палмітоїл-полі-(ε)-L-лізин-водень-бромід, холестерол-гемісукциніл-полі-(ε)-L-лізин-водень-бромід та полі-(ε)-L-лізин-цисплатин-водень-бромід впливали інгібуванням, яке залежить від дози, на формацію колонії та на клітинну проліферацію, найбільш ефективно інгібування показане палмітоїл-полі-(ε)-L-лізин-водень-бромідом та полі-(ε)-L-лізин-цисплатин-водень-бромідом.

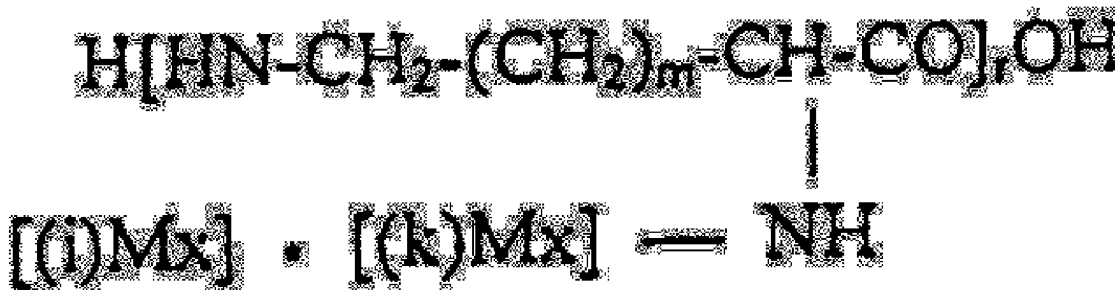
Експерименти *in vivo*

На основі об'ємів середньої пухлини та кривих росту пухлини ми спостерігали значні інгібувальні ефекти палмітоїл-полі-(ε)-L-лізин-водень-броміду та холестерол-гемісукциніл-полі-(ε)-L-лізин-водень-броміду на

трансплантантих пухлинах гризунів, окрім цього, комбіноване лікування палмітоїл-полі-(ε)-L-лізін-водень-бромідом плюс Cytoхар® значним чином інгібувало ріст пухлини та значно збільшувало період життя експериментальних тварин, яким прищепили пухлину, порівняно з невилікуваним зразком, а також до тварин, які лікувалися тільки Cytoхар®.

Формула винаходу

1. Полікатионний біокон'югат, який відрізняється тим, що ізополіпептидні полікатионні молекули-носії, які мають вільні α-аміногрупи та одну або більшу кількість підсилюючих молекул, і/або підсилюючу молекулу із зв'язуючими молекулами, у яких полікатионний біокон'югат має загальну формулу (I):



(I),

у якій:

"r" є середньою величиною, що знаходиться між 20-400 і означає кількість мономерів діаміномонакарбонової ацильної групи;

"m" = 0, 1, 2, 3, ... 20;

"M" означає підсилюючі молекули і/або зв'язуючі молекули, які мають відповідні функціональні групи для кон'югації з молекулою-носієм;

"x" показує те, що типи підсилюючих молекул і/або зв'язуючих молекул "M" в окремому полікатионному біокон'югаті можуть бути однакового (x дорівнює 1) або різного (x більший за 1) виду, а "x" може бути: 0, 1, 2, ...10, вказуючи кількість різних груп молекул, кон'югованих з молекулами-носіями;

"(k)" означає підсилюючі молекули і/або зв'язуючі молекули, зв'язані ковалентними (=k) зв'язками з молекулою-носієм;

і підсилюючі молекули можуть зв'язуватися:

- безпосередньо

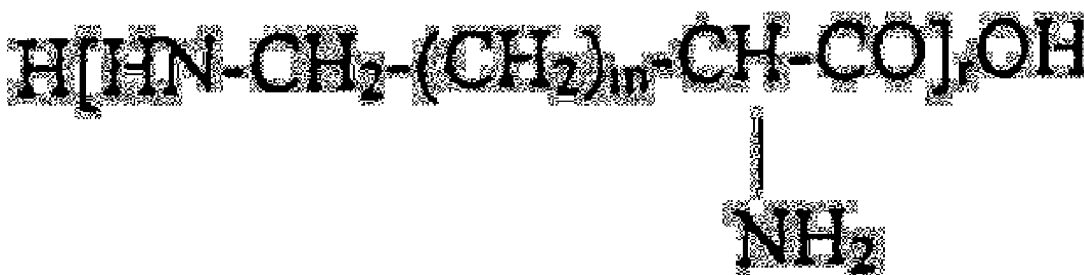
- і/або опосередковано через зв'язуючу молекулу [(k)Mx]

з молекулою-носієм,

за умови, що обидва [(k)Mx] та [(i)Mx] присутні в одному й тому ж самому полікатионному біокон'югаті [(k)Mx] • [(i)Mx], позначеному [(k/i)Mx],

і серед [(k)Mx] та [(i)Mx] принаймні в одному з них величина "x" відмінна від 0 в одному й тому ж полікатионному біокон'югаті.

2. Полікатионний біокон'югат загальної формули (I) за п. 1, який відрізняється тим, що в ізополіпептидних полікатионних молекулах-носіях мономерні діаміномонакарбонової ацильної групи мають однакову конфігурацію (або D-, або L-), а окремі мономерні не зв'язані між собою своїми аміногрупами в α-положеннях, але зв'язані цими групами в інших (в β-, γ-, δ-, ε- ... ζ) положеннях згідно з величиною "m", таким чином надаючи вільні α-аміногрупи молекулам-носіям, які таким чином мають загальну формулу (I/a):



(I/a)

(вільна α-аміногрупа),

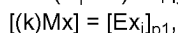
у якій "r" та "m" мають те ж саме значення, що й у загальній формулі (I).

3. Полікатионний біокон'югат загальної формули (I) за п. 1, який відрізняється тим, що молекули [(k)Mx] і/або

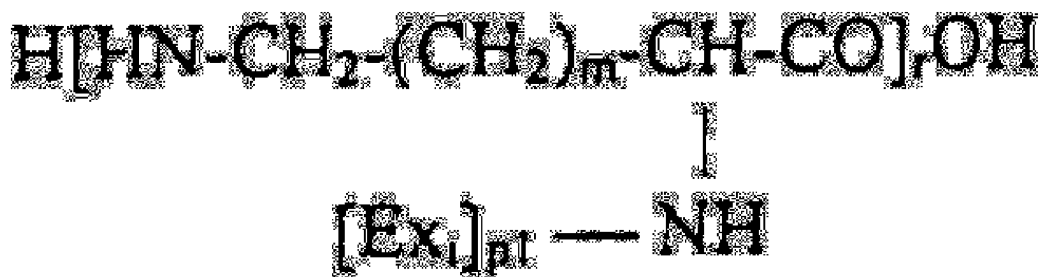
[(i)Mx], які можуть бути або однакового ($x = 1$), або різного виду ($x > 1$), кон'юговані ковалентними і/або іонними зв'язками з даним представником молекул-носіїв загальної формули (I/a).

4. Полікатионний біокон'югат загальної формули (I) за п. 3, який відрізняється тим, що кон'югація молекул [(k)Mx] і/або [(i)Mx] з наданим представником молекул-носіїв загальної формули (I/a) ковалентними і/або іонними зв'язками відбувається безпосередньо і/або опосередковано у певній пропорції, переважно для досягнення ступеня насичення, більшого ніж 0 і меншого ніж 100 %.

5. Полікатионний біокон'югат загальної формули (I) за п. 1, який відрізняється тим, що він містить біокон'югати, у яких наданий представник молекул-носіїв загальної формули (I/a), кон'юговані безпосередньо ковалентними зв'язками з підсилюючими молекулами $[Ex_i]_{p1}$, які можуть бути або однакового ($x_i = 1$), або різного ($x_i > 1$) виду і у цих біокон'югатах:



а полікатионний біокон'югат має загальну формулу (II):



(II),

у якій:

"E" означає усі підсилюючі молекули, кон'юговані ковалентними зв'язками безпосередньо з молекулою-носієм загальної формули (I/a), і

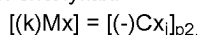
" x_i " показує, що підсилюючі молекули "E", кон'юговані з молекулою-носієм, є однакового

($x_i = 1$) або різного виду за значенням " x_i " ($x_i > 1$);

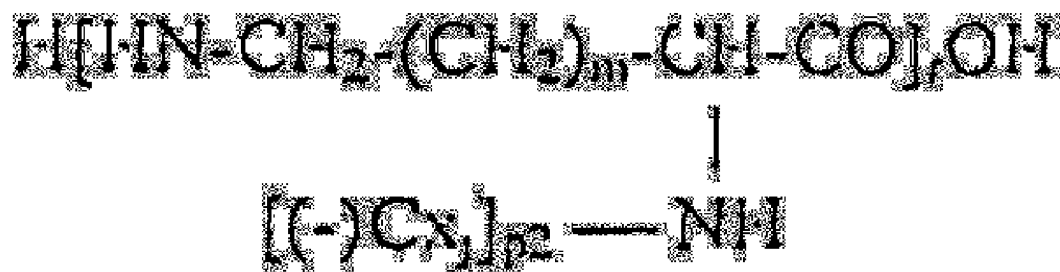
" p_1 " означає ступінь насичення у % молекули-носія підсилюючими молекулами $[Ex_i]$, величина якого більша ніж 0 і менша ніж 100 %, завдяки чому визначається відношення між вільними NH_2 -групами, не залученими у хімічні зв'язки, та зв'язаними NH_2 -групами, яке таким чином впливає на катионний характер полікатионних біокон'югатів; і

"r" та "m" мають те ж саме значення, що й у загальній формулі (I).

6. Молекула-носіїв загальної формули (I/a) за п. 2, яка відрізняється тим, що її наданий представник кон'югований ковалентними зв'язками зі зв'язуючими молекулами $[(-)Cx_j]_{p2}$ аніонного характеру, які можуть бути або однакового ($x_j = 1$), або різного ($x_j > 1$) виду, а зв'язуючі молекули є дикарбоновими кислотами, трикарбоновими кислотами, карбогідратами або амінокислотами, або подовжувачами пептидного ланцюга, і у цих сполуках:



а кон'югати мають загальну формулу (III):



(III),

у якій:

"(-)C" означає усі зв'язуючі молекули виключно аніонного характеру, кон'юговані ковалентними зв'язками з наданим представником молекули-носія загальної формули (I/a),

" x_j " означає, що зв'язуючі молекули "(-)C", кон'юговані з молекулою-носієм, є однакового ($x_j = 1$) або різного виду за значенням " x_j " ($x_j > 1$),

" p_2 " означає ступінь насичення у % молекули-носія зв'язуючими молекулами $[(-)Cx_j]$, величина якого більша ніж 0 і менша ніж 100 %, завдяки чому визначається відношення між вільними NH_2 -групами, не залученими у хімічні зв'язки,

та зв'язаними NH_2 -групами, яке таким чином впливає на катіонний характер полікатіонних біокон'югатів; і

"r" та "m" мають те ж саме значення, що й у загальній формулі (I).

7. Кон'югат загальної формули (III) за п. 6, який відрізняється тим, що наданий представник молекули-носія загальної формули (I/a) внаслідок кон'югації ковалентними зв'язками зв'язуючих молекул $[(-)\text{Cx}]_{p2}$ аніонного характеру здатен утворювати полікатіонні біокон'югати, які мають додаткові можливості для встановлення іонних зв'язків з підсилюючими молекулами катіонного характеру.

8. Полікатіонний біокон'югат загальної формули (I) за п. 1, який відрізняється тим, що містить біокон'югати, у яких наданий представник молекули-носія загальної формули (I/a) опосередковано кон'югований з підсилюючими молекулами $[-\text{Ex}_{ek}]_{p3}$, які можуть бути або однакового ($x_{ek} = 1$), або різного ($x_{ek} > 1$) виду, через зв'язуючі молекули $[\text{Cx}_{ck}]_{p3}$, які можуть також бути однакового ($x_{ck} = 1$) або різного ($x_{ck} > 1$) виду, і у біокон'югатах обидва хімічні зв'язки між молекулою-носієм та $[\text{Cx}_{ck}]$, а також між $[\text{Cx}_{ck}]$ та $[\text{Ex}_{ek}]$ є ковалентними, і у цих біокон'югатах:

$$[(k)\text{Mx}] = [\text{Cx}_{ck} - \text{Ex}_{ek}]_{p3},$$

і полікатіонні біокон'югати мають загальну формулу (IV):



(IV),

у якій:

"C" та "E" означають усі підсилюючі молекули, кон'юговані ковалентними зв'язками

опосередковано через зв'язуючі молекули Cx_{ck} , що також кон'юговані

ковалентними зв'язками з молекулами-носіями загальної формули (I/a), і

" x_{ck} " вказує, чи є зв'язуючі молекули " $\text{Cx}-$ ", кон'юговані з молекулою-носієм,

однакового ($x_{ck} = 1$) чи різного виду за значенням " x_{ck} " ($x_{ck} > 1$);

" x_{ek} " вказує, що підсилюючі молекули " $-\text{Ex}$ ", кон'юговані з молекулою-носієм

ковалентними зв'язками опосередковано через зв'язуючі молекули " $\text{Cx}_{ck}-$ ", є

однакового ($x_{ek} = 1$) чи різного виду за значенням " x_{ek} " ($x_{ek} > 1$);

" p_3 " означає ступінь насичення у % молекули-носія підсилюючими молекулами

$[\text{Cx}_{ck} - \text{Ex}_{ek}]$, які зв'язані зі зв'язуючими молекулами, величина якого більша ніж 0 та

менша ніж 100, завдяки чому визначається відношення між вільними NH_2 -

групами, не залученими у хімічні зв'язки, та зв'язаними NH_2 -групами,

яке таким чином впливає на катіонний характер полікатіонних біокон'югатів; і

"r" та "m" мають те ж саме значення, що й у загальній формулі (I).

9. Полікатіонний біокон'югат загальної формули (I) за п. 1, який відрізняється тим, що містить біокон'югати, у яких наданий представник молекул-носіїв загальної формули (I/a) кон'югований ковалентними зв'язками з

a) підсилюючими молекулами $[\text{Ex}_i]$ і/або

b) зв'язуючими молекулами $[(-)\text{Cx}_j]$ аніонного характеру, і/або

c) опосередковано кон'югованими підсилюючими молекулами $[\text{Cx}_{ck} - \text{Ex}_{ek}]$, які можуть бути або однакового (x_i і/або x_j , і/або x_{ck} , і/або $x_{ek} = 1$), або різного виду (x_i і/або x_j , і/або x_{ck} , і/або $x_{ek} > 1$), за умови, що серед $[\text{Ex}_i]$ і/або $[(-)\text{Cx}_j]$, і/або $[\text{Cx}_{ck} - \text{Ex}_{ek}]$ типів молекул принаймні два присутні в біокон'югаті, і варіанти $[(k)\text{Mx}]$ у цих біокон'югатах є такими:

$$[(k)\text{Mx}] = [\text{Ex}_i]_{p1} + [(-)\text{Cx}_j]_{p2} \text{ або}$$

$$[(k)\text{Mx}] = [\text{Ex}_i]_{p1} + [\text{Cx}_{ck} - \text{Ex}_{ek}]_{p3}, \text{ або}$$

$$[(k)\text{Mx}] = [\text{Cx}_{ck} - \text{Ex}_{ek}]_{p3} + [(-)\text{Cx}_j]_{p2}, \text{ або}$$

$$[(k)\text{Mx}] = [\text{Ex}_i]_{p1} + [\text{Cx}_{ck} - \text{Ex}_{ek}]_{p3} + [(-)\text{Cx}_j]_{p2},$$

а полікатіонні біокон'югати мають схематичну формулу (V):



(вільна NH_2 -аміногрупа)

(V),

у якій:

" $[\text{Ex}_i]_{p1}$ " має те ж значення, що й у загальній формулі (II),

"[(-)C_{xj}]_{p2}" має те ж значення, що й у загальній формулі (III),

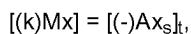
"[C_{xck}-E_{xek}]_{p3}" має те ж значення, що й у загальній формулі (IV),

"m" має те ж значення, що й у загальній формулі (I),

а величина "p₁" + "p₂" + "p₃" більша ніж 0 та менша ніж 100, і принаймні дві з величин "p₁", "p₂" та "p₃" більші ніж 0; окрім цього, у даному полікатіонному біокон'югаті молекули E_x у [E_{xj}] та молекули (-)C_{xj} у [(-)C_{xj}] необов'язково ідентичні з молекулами E_x та C_x, які містяться у [C_{xck}-E_{xek}], дивергенція яких позначена "x_i / x_j / x_{ck} / x_{ek}".

10. Полікатіонний біокон'югат загальної формули (I) за п. 1, який відрізняється тим, що він містить біокон'югати, у яких наданий представник молекул-носіїв загальної формули (I/a) безпосередньо кон'югований виключно іонними зв'язками з підсилюючими молекулами

[-)A_{x_s}]_t аніонного характеру, які можуть бути або однакового (x_s = 1), або різного (x_s > 1) виду, і у цих біокон'югатах



і полікатіонні біокон'югати мають загальну формулу (VI):



у якій:

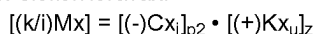
"(-)A" означає усі підсилюючі молекули аніонного характеру, кон'юговані іонними зв'язками безпосередньо з молекулами-носіями загальної формули (I/a), і

"x_s" вказує на те, що аніонні/поліаніонні підсилюючі молекули "(-)A", кон'юговані молекулою-носієм, однакового (x_s = 1) або різного виду за значенням "x_s" (x_s > 1),

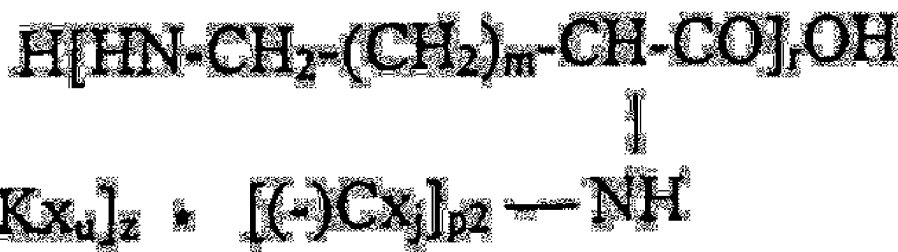
"t" означає ступінь насичення у % наданого представника молекул-носіїв підсилюючими молекулами [-)A_{x_s}]_t, величина якого більша ніж 0 та менша ніж 100, завдяки чому визначається відношення між вільними NH₂-групами, не залученими в хімічні зв'язки, і зв'язаними NH₂-групами, яке таким чином впливає на катіонний характер полікатіонних біокон'югатів; і

"r" та "m" мають те ж саме значення що й у загальній формулі (I).

11. Полікатіонний біокон'югат загальної формули (I) за п. 1, який відрізняється тим, що він містить кон'югати загальної формули (III) за п. 6, кон'юговані підсилюючими молекулами [(+)K_{x_u}]_z катіонного характеру, які можуть бути або однакового (x_u = 1), або різного (x_u > 1) виду, за допомогою іонних зв'язків через зв'язуючі молекули [(-)C_{xj}]_{p2} аніонного характеру, які можуть бути або однакового (x_j = 1), або різного (x_j > 1) виду, і у цих біокон'югатах:



а полікатіонні біокон'югати мають загальну формулу (VII):



(VII),

у якій:

"(+)"K" означає усі підсилюючі молекули катіонного характеру виду "x", кон'юговані опосередковано іонними зв'язками через зв'язуючі молекули [(-)C_{xj}]_{p2} з наданим представником сполук загальної формули (III), і

"x_u" вказує на те, що катіонні/полікатіонні підсилюючі молекули "(+)K_x", кон'юговані з наданою сполукою загальної формули (I), однакового (x_u = 1) або різного виду за значенням "x_u" (x_u > 1);

"z" означає ступінь насичення у % наданого представника кон'югатів загальної формули (III) підсилюючими молекулами [(+)K_{x_u}]_z, величина якого більша ніж 0 та менша ніж 100, завдяки чому визначається відношення між вільними NH₂-групами, не залученими в хімічні зв'язки, і зв'язаними NH₂-групами, яке таким чином впливає на катіонний характер полікатіонних біокон'югатів; і оскільки

молекули [(+)K_{x_u}]_z катіонного характеру можуть кон'югуватися виключно через зв'язуючі молекули [(-)C_{xj}]_{p2} аніонного характеру зі сполуками загальної формули (III), то

"p₂" = "z",

"[(-)C_{xj}]_{p2}" має те ж значення, що й у загальній формулі (III),

"r" та "m" мають те ж саме значення, що й у загальній формулі (I).

12. Полікатіонний біокон'югат загальної формули (I) за п. 1, який відрізняється тим, що він містить

біокон'югати, у яких з вільними NH_2 -аміногрупами наданого представника полікатионних кон'югатів загальної формули (IV) за п. 11 кон'юговані іонними зв'язками додаткові підсилюючі молекули $(-)\text{Ax}_{\text{sH}}$ аніонного характеру, які можуть бути або однакового ($x_{\text{s}} = 1$), або різного ($x_{\text{s}} > 1$) виду, і у цих біокон'югатах

і полікатіонні біокон'югати виражаються схематичною формулою (VIII):

" $[(-)C x_i]_{n2} \cdot [(+)K x_{ij}]_7$ " має те ж значення, що й у загальній формулі (VII),

"r" та "m" мають те ж саме значення, що й у загальній формулі (I).

$$[(k/i)Mx] = [Ex_i]_{n1} \cdot [(-)Ax_s]_t \text{ also}$$
$$[(k/i)Mx] = [Ex_i]_{p1} + [Cx_{ck}-Ex_{ek}]_{p3} \cdot [(-)Ax_s]_{t1}$$
$$\begin{array}{c} \text{H}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{OH} \\ | \\ \text{NH}_2-\text{NAC}=\text{O}, \quad \text{HOOC-PAA-} \\ || \\ \text{Na}^+ \end{array}$$

(XX)

"[(-)A χ_c]₊" має те ж значення, що й у загальній формулі (VI).

"[C_{x_{ck}}-E_{x_{ek}}]_{n3}" мають те ж значення, що й у загальній формулі (IV),

“ p_1+t ” або “ p_3+t ”

або " $p_1 + p_3 + t$ " $> 0 \quad j < 100$.

"p₁" і/або "p₃" > 0,

$$t^* \geq 0$$

14. Полікатіонний біокон'югат загальної формули (I) за п. 1, який відрізняється тим, що він містить полікатіонні біокон'югати схематичної формули (V), яка має зв'язуючі молекули $[(-)C_xH_y]$ аніонного характеру, які можуть бути або однакового ($x_j = 1$), або різного ($x_j > 1$) виду і кон'юговані іонними зв'язками з підсилюючими молекулами $[(+)K_{x_i}]$ катіонного характеру, які можуть бути або ($x_{ji} = 1$), або різного ($x_{ji} > 1$), і у цих біокон'югатах

$$[(k/i)Mx] = [Ex_i]_{n1} + \{[(-)Cx_i]_{n2} \cdot [(+)Kx_{ij}]_7\} \text{ або}$$
$$[(k/i)Mx] = [Cx_{ck} - Ex_{ek}]_{p3} + \{[(-)Cx_i]_{p2} \cdot [(+)Kx_u]_{p2}\}, \text{ або}$$
$$[(k/i)Mx] = [Ex_i]_{p1} + [Cx_{ck} - Ex_{ek}]_{p3} + \{[(-)Cx_i]_{p2} \cdot [(+)Kx_{ij}]_z\}$$

а полікатіонні біокон'югати мають загальну формулу (X)

$$\text{Ti}(\text{O}^{\text{H}})_2 \text{---} \text{CH}_2\text{---} (\text{CH}_2)_2 \text{---} \text{CH}_2\text{---} \text{COI} \text{---} \text{OH}$$

"[(-)C_x]_{n2}, [(+)K_x]_z" має те ж значення, що й у загальній формулі (VII),

"[Ex]_i" має те ж значення, що й у загальній формулі (II),

"[C_{x_{ck}}-E_{x_{ek}}]_{p3}" має те ж значення, що й у загальній формулі (IV),

"[(k/i)Mx]", "[(k)Mx]", "m", "r" мають ті ж значення, що й у загальній формулі (I),

"p₁+z" або "p₃+z", або "p₁ +p₃+z" > 0 і < 100,

"p₁" i/або "p₃" > 0,

$$z = p_2 > 0.$$

15. Полікатіонний біокон'югат загальної формули (I) за п. 1, який відрізняється тим, що він містить біокон'югати, у яких до вільних NH_2 -аміногруп полікатіонного біокон'югату загальної формули (X) за п. 14 як полікатіон кон'юговані іонними зв'язками додаткові підсилюючі молекули аніонного характеру $[(-)\text{Ax}]_s$, які можуть бути або однакового ($x_s = 1$), або різного ($x_s > 1$) виду, і у цих біокон'югатах

$$[(k/i)Mx] = [Ex_i]p_1 + \{[(-)Cx_i]_{p2} \cdot [(+)Kx_{ii}]_z\} \cdot [(-)Ax_s] \text{ або}$$
$$[(k/j)Mx] = [C_{x_{ek}} - Ex_{ek}]_{p3} + \{ [(-)C_{x_i}]_{p2} \cdot [(+)K_{x_{ij}}]_{p2} \} \cdot [(-)A_{x_{ek}}]_{p3}, \text{ а6о}$$
$$[(k/i)Mx] = [Ex_i]_{p1} + [Cx_{ck}-Ex_{ek}]_{p3} + \{[(-)Cx_i]_{p2} \cdot [(+)Kx_{u1}]_7 \cdot [(-)Ax_{st}]_{11}\}$$

а полікатіонні біокон'югати мають загальну формулу (XI)

5

у якій:

"[(-)Ax_{sl}]" має те ж значення, що й у загальній формулі (VI),

"[(-)Cx_j]_{p2} • [(+)Kx_{ulz}]" має те ж значення, що й у загальній формулі (VII),

"[Ex_i]_{p1}" має те ж значення, що й у загальній формулі (II),

10

"[Cx_{ck}-Ex_{ek}]_{p3}" має те ж значення, що й у загальній формулі (IV),

"[(k/i)Mx]", "[[(k)Mx]", "m", "r" мають ті ж значення, що й у загальній формулі (I),

"p₁" + "p₃" + "t" + "z", "p₁" + "t" + "z", або "p₃" + "t" + "z" > 0 і < 100 і серед яких

"p₁" і/або "p₃" принаймні одна > 0;

"t" > 0,

15

"z" = "p₂" > 0

16. Полікатіонний біокон'югат за п. 1, який відрізняється тим, що принаймні одна з підсилюючих молекул є цитостатиком та його похідним з антипроліферативним ефектом або сполукою з антипроліферативним ефектом.

17. Полікатіонний біокон'югат загальної формули (I) за п. 1, який відрізняється тим, що принаймні одна з підсилюючих молекул є моноклональним антитілом, поліклональним антитілом, його фрагментом і/або похідним, одержаним проти однієї або більшої кількості антигенних детермінант окремої ракової клітини або бактерії, або тканини.

20

18. Полікатіонний біокон'югат загальної формули (I) за п. 1, який відрізняється тим, що принаймні одна з підсилюючих молекул є імунотоксином.

19. Полікатіонний біокон'югат загальної формули (I) за п. 1, який відрізняється тим, що принаймні одна з підсилюючих молекул є сполукою з імуномодулюючим ефектом.

25

20. Полікатіонний біокон'югат загальної формули (I) за п. 1, який відрізняється тим, що принаймні одна з підсилюючих молекул є олігопептидом, поліпептидом, глікопротеїном, його фрагментом і/або похідним.

21. Полікатіонний біокон'югат загальної формули (I) за п. 1, який відрізняється тим, що принаймні одна з підсилюючих молекул є нуклеїновою кислотою і/або антисмисловим олігонуклеотидом.

30

22. Полікатіонний біокон'югат загальної формули (I) за п. 1, який відрізняється тим, що принаймні одна з підсилюючих молекул є карбогідратом і/або його похідним.

23. Полікатіонні біокон'югати загальної формули (I) за п. 1, який відрізняється тим, що принаймні одна з підсилюючих молекул є ліпідом і/або його похідним.

24. Полікатіонний біокон'югат загальної формули (I) за п. 1, який відрізняється тим, що принаймні одна з підсилюючих молекул є гормоном, антагоністом гормонів і/або його похідним.

35

25. Полікатіонний біокон'югат загальної формули (I) за п. 1, який відрізняється тим, що принаймні одна з підсилюючих молекул є сполукою, яка має схожість з окремим поверхневим антигеном або молекулою цільової ракової клітини або бактерії, або тканини.

26. Полікатіонний біокон'югат загальної формули (I) за п. 1, який відрізняється тим, що принаймні одна з підсилюючих молекул є сполукою, яка має схожість з рецепторами, які присутні в значній пропорції на поверхні ракової клітини або бактерії, або тканини.

40

27. Полікатіонний біокон'югат загальної формули (I) за п. 1, який відрізняється тим, що принаймні одна з підсилюючих молекул вибрана серед вітамінів, вітамінних антагоністів та їх похідних.

28. Полікатіонний біокон'югат загальної формули (I) за п. 1, який відрізняється тим, що принаймні одна з підсилюючих молекул вибрана з групи антибактеріальних і/або антиінфекційних сполук і їх похідних, застосовуваних проти інфекцій в клінічній практиці.

45

29. Полікатіонний біокон'югат загальної формули (I) за п. 1, який відрізняється тим, що принаймні одна з підсилюючих молекул є парамагнітним контрастним матеріалом.

30. Полікатіонний біокон'югат загальної формули (I) за п. 1, який відрізняється тим, що принаймні одна з підсилюючих молекул є моноклональним антитілом, поліклональним антитілом і/або його фрагментом, і/або похідним, одержаним проти одного або більшої кількості антигенних детермінант окремого трансмембранного поверхневого рецептора для диференціації.

50

31. Полікатіонний біокон'югат загальної формули (I) за п. 1, який відрізняється тим, що принаймні одна з підсилюючих молекул є цитокином/лімфокином і/або їх похідними, і/або аналогами, і/або антагоністом.

55

32. Полікатіонний біокон'югат загальної формули (I) за п. 1 для використання в трансдермальному застосуванні через іонофорез.

33. Полікатіонний біокон'югат загальної формули (I) за п. 1 включений в ліпосоми.

34. Фармацевтичні композиції, які містять полікатіонні біокон'югати за будь-яким з пп. 1-33.

60

Офіційний бюлетень "Промислова власність". Книга 1 "Винаходи, корисні моделі, топографії інтегральних мікросхем", 2006, N 10, 15.10.2006. Державний департамент інтелектуальної власності Міністерства освіти і науки України.

65