

PŘÍHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **28.06.2000**
(32) Datum podání prioritní přihlášky: **29.06.1999**
(31) Číslo prioritní přihlášky: **1999/9902217**
(33) Země priority: **HU**
(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **12.06.2002**
(Věstník č. 6/2002)
(86) PCT číslo: **PCT/HU00/00061**
(87) PCT číslo zveřejnění: **WO01/00242**

(21) Číslo dokumentu:

2001 -4701

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

A 61 K 47/48

(71) Přihlašovatel:
SZEGŐ Péter, Budapest, HU;

(72) Původce:
Szegő Péter, Budapest, HU;

(74) Zástupce:
PATENTSERVIS PRAHA a.s., Jivenská 1273, Praha 4, 14000;

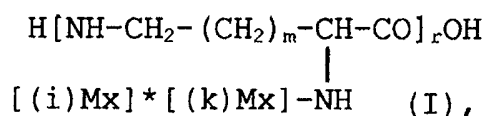
(54) Název přihlášky vynálezu:

Polykationtové biokonjugáty pro transport aktivních látek

(57) Anotace:

Řešení se týká polykationtových biokonjugátů, které obsahují molekuly isopolypeptidového polykationtového nosiče s volnými α -aminovými skupinami, které jsou konjugovány chemickými vazbami s vhodně vybranými molekulami, které mohou být buď identické nebo mohou být různých, dvou nebo více, tj. "x", druhů, nesoucí funkční skupiny vhodné nebo konjugaci, a tyto polykationtové biokonjugáty syntetizované tímto způsobem mohou být popsány obecným vzorcem v němž "r" znamená střední hodnotu mezi 20 a 400, "m" znamená číslo 0, 1, 2, 3, ..., k, "[k]Mx" znamená molekuly zesilovače a/nebo spojovací molekuly konjugované kovalentními. = k, vazbami s molekulou isopolypeptidového polykationtového nosiče, a "[i]Mx" znamená molekuly zesilovače konjugované iontovými, = i, vazbami s molekulou isopolypeptidového polykationtového nosiče, při čemž uvedené molekuly zesilovače a spojovací molekuly, které mají příslušné funkční skupiny pro konjugaci, mohou být buď identické nebo mohou být různých, dvou nebo více, tj. "x", druhů, a molekuly zesilovače mohou být konjugovány přímo a/nebo nepřímo spojovací molekulou. Tyto polykationty jsou schopny transportovat aktivní látky různých typů v savčím organismu, tj. fungují jako nosiče molekul, a jsou tedy schopny zvyšovat biologickou účinnost transportovaných molekul a tak například příznivě ovlivňovat inhibici proliferaci maligních buněk nebo mít antimikrobiální účinek

nebo jsou vhodné pro transport genů.



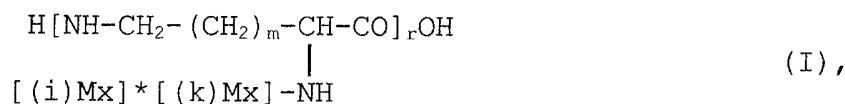
Polykationtové biokonjugáty pro transport aktivních látek

Oblast techniky

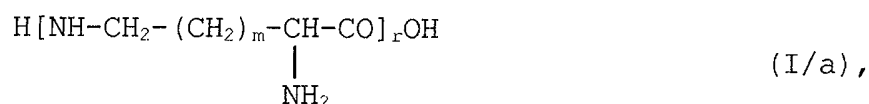
Předmětem předloženého vynálezu jsou polykationtové biokonjugáty, které jsou vhodné pro transport aktivních látek různých typů v savčím organismu, tj. fungují jako nosiče.

Podstata vynálezu

Nové polykationtové biokonjugáty se připravují kondenzováním [(k)Mx] a/nebo [(i)Mx] molekul, které nesou funkční skupiny pro konjugaci - které mohou být buď jednoho nebo mohou být různých (dvou nebo více, tj. "x") druhů - s daným představitelem isopolypeptidových polykationtů, který má volné α -aminové skupiny, jako molekulami nosiče, chemickými vazbami. Tyto biokonjugáty syntetizované tímto způsobem lze popsat obecným vzorcem I



a v polykationtových biokonjugátech existují molekuly isopolypeptidového polykationtového nosiče (zde dále molekuly nosiče), které mají volné α -aminové skupiny, které lze popsat obecným vzorcem I/a



(volná α -aminová skupina)

a v každé molekule nosiče obecného vzorce I/a existují monomery stejné konfigurace (tj. buď D- nebo L-), jednotlivé monomery nejsou spolu navázány svými aminovými skupinami v α -polohách, ale aminovými skupinami v jiných (tj. v β -, γ -, δ -, ϵ - atd.)

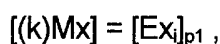
polohách podle hodnoty "m" a jejich struktury se proto odlišují od struktur polypeptidů vystavených obvyklými α -amino-peptidovými vazbami, které se obecně vyskytují v savcích organismech,

příčemž

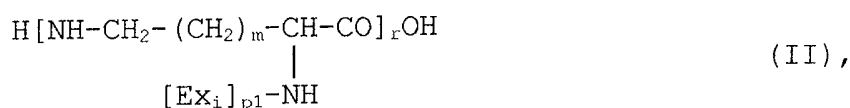
- "r" znamená střední hodnotu mezi 20 a 400,
- "m" znamená číslo 0, 1, 2, 3, k,
- "[(k)Mx]" znamená molekuly zesilovače a/nebo spojovací molekuly konjugované kovalentními (= k) vazbami s molekulou isopolypeptidového polykationtového nosiče, a
- "[(i)Mx]" znamená molekuly zesilovače konjugované iontovými (= i) vazbami s molekulou isopolypeptidového polykationtového nosiče, při čemž uvedené molekuly zesilovače a spojovací molekuly, které mají příslušné funkční skupiny pro konjugaci, mohou být buď identické nebo mohou být různých (dvou nebo více, tj. "x") druhů, a molekuly zesilovače mohou být konjugovány:
 - přímo a/nebo
 - nepřímo spojovací molekulou,

a dále výskyt napojení [(k)Mx] a [(i)Mx] ve stejném polykationtovém biokonjugátu je symbolizován [(k/i)Mx]. Na základě tohoto obecného vzorce I nových polykationtových biokonjugátů podle vynálezu mohou být odvozeny další molekuly obecných vzorců II, III, IV, VI, VII, IX, X a XI a schematických obecných vzorců V, VIII, IX/a, X/a a XI/a.

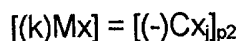
V případě [Ex] molekul zesilovače - které mohou být buď identické nebo mohou být různých (dvou nebo více, tj. "x") druhů, jsou přímo konjugovány s daným představitelem molekul nosiče obecného vzorce I/a kovalentními vazbami, tedy



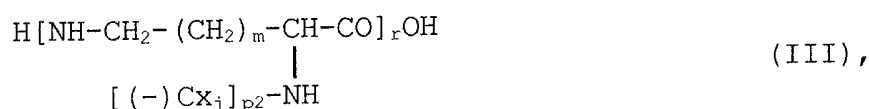
a nové polykationtové biokonjugáty jsou popsány obecným vzorcem II



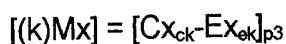
V případě $[(-)\text{Cx}_j]$ spojovacích molekul výlučně aniontového charakteru - které mohou být buď identické nebo mohou být různých (dvou nebo více, tj. "x") druhů - jsou konjugovány s daným představitelem molekul nosiče obecného vzorce I/a kovalentními vazbami, objevuje se další možnost vzniku iontových vazeb s kationty - které mohou být buď identické nebo mohou být různých (dvou nebo více, tj. "x") druhů - potom:



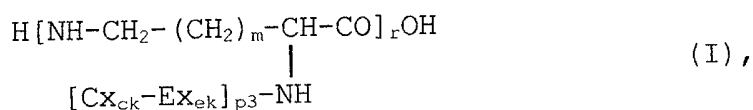
a tyto nové konjugáty jsou popsány obecným vzorcem III



V případě $[\text{Ex}_{ck}]$ molekul zesilovače - které mohou být buď identické nebo mohou být různých (dvou nebo více, tj. "x") druhů - jsou nepřímo konjugovány kovalentními vazbami s daným představitelem molekul nosiče obecného vzorce I/a $[\text{Cx}_{ck}]$ spojovacími molekulami - které mohou být buď identické nebo mohou být různých (dvou nebo více, tj. "x") druhů - potom:



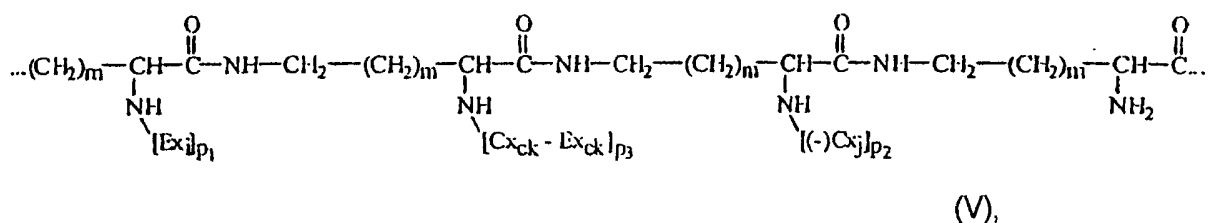
a tyto nové polykationtové biokonjugáty jsou popsány obecným vzorcem IV



V případě, že $[Ex_i]$ a/nebo $[Cx_{ck}-Ex_{ek}]$ molekul zesilovače a/nebo $[(-)Cx_j]$ spojovacích molekul aniontového charakteru je také konjugováno s daným představitelem molekul nosiče obecného vzorce I/a a dále z hodnot " p_1 ", " p_2 " a " p_3 " alespoň dvě jsou větší než 0, potom

$$[(k)Mx] = [Ex_i]_{p1} + [Cx_{ck}-Ex_{ek}]_{p3} + [(-)Cx_j]_{p2},$$

a tyto nové polykationtové biokonjugáty jsou popsány schematickým obecným vzorcem V



v němž

"Ex" v $[Ex_i]_{p1}$ znamená Ex molekul zesilovače různého ("x") druhu konjugovaných přímo s daným představitelem molekul nosiče obecného vzorce I/a kovalentními vazbami,

"i" znamená to, jestli Ex molekul zesilovače konjugovaných s danou molekulou nosiče kovalentními vazbami je identických ($i = 1$) nebo jestli jsou různého druhu počtu "i" ($i = 2, 3, \dots$ "x" druhů),

"(-)Cx" v $[(-)Cx_j]_{p2}$ znamená (-)Cx spojovacích molekul výlučně aniontového charakteru různých ("x") druhů konjugovaných s daným představitelem molekul nosiče obecného vzorce I/a kovalentními vazbami, aby se zajistila možnost vzniku iontových vazeb s kationty,

"j" znamená to, jestli (-)Cx spojovacích molekul konjugovaných s danou molekulou nosiče kovalentními vazbami je identických ($j = 1$) nebo jestli jsou různého druhu počtu "j" ($j = 2, 3, \dots$ "x"),

"Cx-Ex" v $[Cx_{ck} - Ex_{ek}]_{p3}$ znamená Ex molekul zesilovače různého ("x") druhu konjugovaných kovalentními vazbami nepřímou Cx spojovacími moleku-

lami různého ("x") druhu, a tyto Cx molekuly jsou také konjugovány kovalentními vazbami s daným představitelem molekul nosiče obecného vzorce I/a ,

- "ck" znamená to, jestli Cx spojovacích molekul konjugovaných s danou molekulou nosiče kovalentními vazbami je identických ($ck = 1$) nebo jestli jsou různého druhu počtu "ck" ($ck = 2, 3, \dots "x"$), a tyto Cx spojovací molekuly - prakticky závisující na struktuře Ex molekul zesilovače - mohou mít neutrální a/nebo aniontový a/nebo kationtový charakter,
- "ek" znamená to, jestli Ex molekul zesilovače konjugovaných s danou molekulou nosiče nepřímo Cx spojovacími molekulami kovalentními vazbami je identických ($ek = 1$), nebo jestli jsou různého druhu počtu "ek" ($ek = 2, 3, \dots "x"$),

Navíc stupeň nasycenosti v % daného představitele molekuly nosiče obecného vzorce I/a $[Ex]_{p1}$ a/nebo $[Cx_{ck}-Ex_{ek}]_{p3}$ molekulami zesilovače a/nebo $[(-)Cx]_{p2}$ spojovacími molekulami je dán různými hodnotami "p₁, p₂ a p₃", přičemž souhrnná hodnota "p₁ + p₂ + p₃" v daném polykationtovém biokonjugátu je > 0 a ≤ 100 , přičemž je stanoven poměr mezi volnými, nezahmutými v chemických vazbách, a vázanými NH₂-skupinami, který dále ovlivňuje náboj a kationtový charakter polykationtových biokonjugátů, a tedy

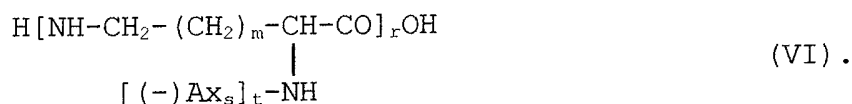
- "p₁" znamená stupeň nasycenosti v % molekuly nosiče obecného vzorce I/a $[Ex]$ molekulami zesilovače,
- "p₂" znamená stupeň nasycenosti v % molekuly nosiče obecného vzorce I/a $[(-)Cx]$ spojovacími molekulami s výlučně aniontovým charakterem,
- "p₃" znamená stupeň nasycenosti v % molekuly nosiče obecného vzorce I/a $[Cx_{ck}-Ex_{ek}]_{p3}$ molekulami zesilovače, které jsou vázány spojovacími molekulami, a na základě shora uvedeného ve schematickém obecném vzorci V platí, že "p₁" + "p₂" + "p₃" > 0 a ≤ 100 a z hodnot "p₁", "p₂" a "p₃" alespoň dvě jsou větší než 0, dále v daném polykationtovém biokonjugátu Ex molekul v $[Ex]$ a $(-)Cx$ molekul v $[(-)Cx]$ není nutně identických s Ex a Cx molekulami vyskytujícími se v $[Cx_{ck}-Ex_{ek}]$, přičemž tento

rozdíl je symbolizován "x" a bude o něm pojednáno v příkladech vhodně vybraných molekul zesilovače, a dále "r" a "m" znamenají stejně jako v obecném vzorci I.

V případě $[(-)Ax_s]$ molekul zesilovače aniontového charakteru - které mohou být buď identické nebo mohou být různých (dvou nebo více, tj. "x") druhů - jsou přímo konjugovány výlučně iontovými vazbami s volnými α -aminovými skupinami daného představitele molekul nosiče obecného vzorce I/a, potom

$$[(i)Mx] = [(-)Ax_s]_t$$

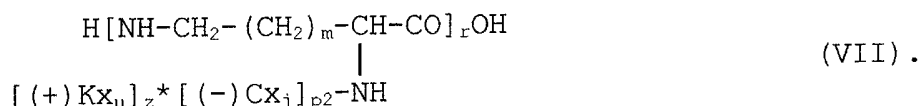
a tyto nové polykationtové biokonjugáty mohou být popsány obecným vzorcem VI



V případě $[(+)Kx_u]$ molekul zesilovače kationtového charakteru - které mohou být buď jednoho druhu nebo (dvou nebo více, tj. "x") různých druhů - jsou konjugovány nepřímou $[(-)Cx_j]$ spojovacími molekulami výlučně aniontového charakteru - které mohou být buď jednoho druhu nebo (dvou nebo více, tj. "x") různých druhů - iontovými vazbami s daným představitelem konjugátů obecného vzorce III, potom

$$[(k)Mx]^*[(i)Mx] = [(k/i)Mx] = [(-)Cx_j]_{p2}^*[(+)Kx_u]_z$$

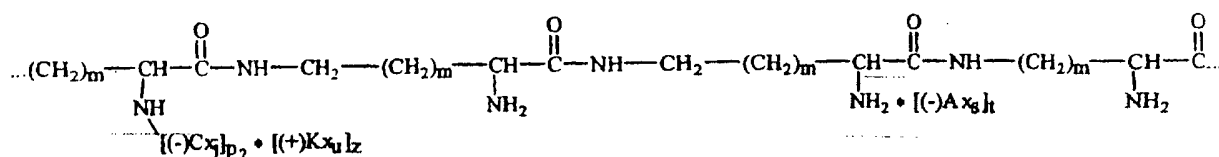
a tyto nové polykationtové biokonjugáty jsou popsány obecným vzorcem VII



V případě $[(-)Ax_s]$ molekul zesilovače aniontového charakteru - které mohou být identické nebo mohou být různých (dvou nebo více, tj. "x") druhů - jsou konjugovány přímo iontovými vazbami s volnými α -aminoskupinami daného představitele polykationtových biokonjugátů obecného vzorce VII, potom

$$[(k/i)Mx] = \{ [(-)Cx_i]_{p2} * [(+)Kx_u]_z \} * [(-)Ax_s]_t$$

a tyto nové polykationtové biokonjugáty jsou popsány schematickým obecným vzorcem VIII

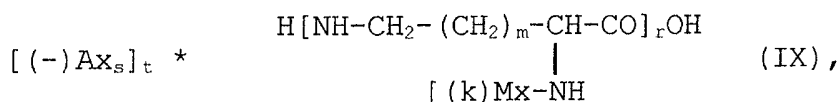


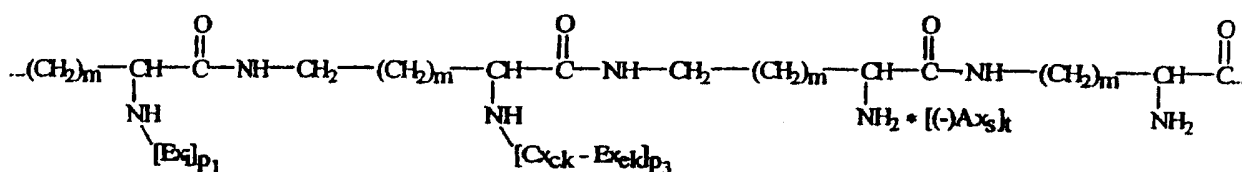
(VIII).

V případě $[(-)Ax_s]$ molekul zesilovače aniontového charakteru - které mohou být buď identické nebo mohou být různých (dvou nebo více, tj. "x") druhů - jsou konjugovány iontovými vazbami s volnými α -aminovými skupinami daného představitele polykationtových biokonjugátů obecného vzorce II nebo IV nebo schematického obecného vzorce V, potom

$$\begin{aligned} [(k/i)Mx] &= [Ex_i]_{pi} * [(-)Ax_s]_t \text{ nebo } [Cx_{ck} - Ex_{ek}]_{p3} * [(-)Ax_s]_t \\ &\text{nebo } [Ex_i]_{pi} + [Cx_{ck} - Ex_{ek}]_{p3} * [(-)Ax_s]_t \end{aligned}$$

a tyto polykationtové biokonjugáty jsou popsány obecným vzorcem IX nebo schematickým obecným vzorcem IX/a



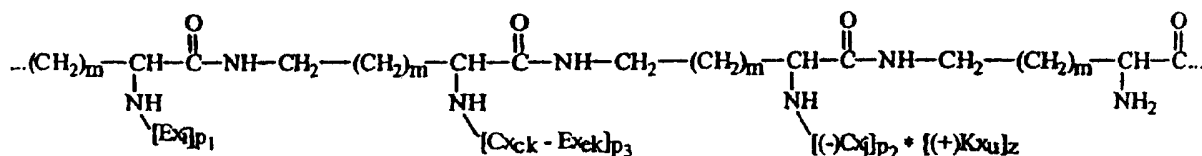
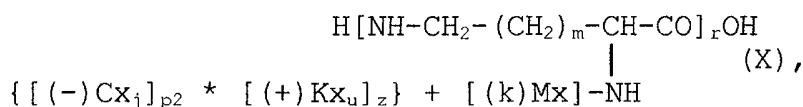


(IX/a).

V případě daného představitele polykationtových biokonjugátů schematického obecného vzorce V, v němž existuje $[(-)\text{Cx}_j]$ spojovacích molekul aniontového charakteru - které mohou být buď identické nebo mohou být různých (dvou nebo více, tj. "x") druhů - a tedy získávají částečně aniontový charakter, takže dalších $[(+)\text{Kx}_u]$ molekul zesilovače kationtového charakteru - které mohou být buď identické nebo mohou být různých (dvou nebo více, tj. "x") druhů - může být na ně konjugováno iontovými vazbami, potom

$$\begin{aligned} [(k/i)\text{Mx}] = & [\text{Ex}]_{p_1} + \{[(-)\text{Cx}_j]_{p_2} * [(+)\text{Kx}_u]_z\} \text{ nebo} \\ & [\text{C}_{ck} - \text{Ex}_{ek}]_{p_3} + \{[(-)\text{Cx}_j]_{p_2} * [(+)\text{Kx}_u]_z\} \text{ nebo} \\ & [\text{Ex}]_{p_1} + [\text{C}_{ck} - \text{Ex}_{ek}]_{p_3} + \{[(-)\text{Cx}_j]_{p_2} * [(+)\text{Kx}_u]_z\} \end{aligned}$$

a tyto polykationtové biokonjugáty jsou popsány obecným vzorcem X nebo schematickým obecným vzorcem X/a

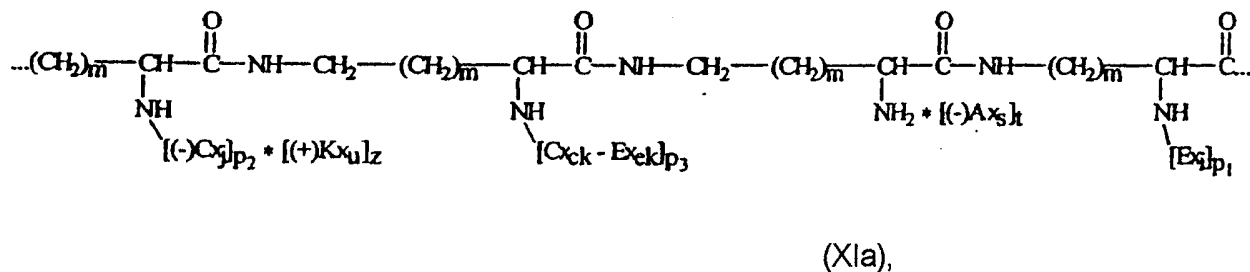
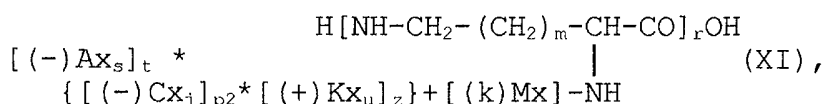


(X/a).

V případě dalších $[(-)Ax_s]$ molekul zesilovače aniontového charakteru - které mohou být buď identické nebo mohou být různých (dvou nebo více, tj. "x") druhů - které jsou konjugovány přímo iontovými vazbami s volnými α -amino-skupinami daného představitele polykationtových biokonjugátů obecného vzorce X, potom

$$[(k/i)Mx] = [Ex_i]_{p1} + \{[(-)Cx_j]_{p2} * [(+)Kx_u]_z\} * [(-)Ax_s]_t \text{ nebo} \\ [Cx_{ck} - Ex_{ek}]_{p3} + \{[(-)Cx_j]_{p2} * [(+)Kx_u]_z\} * [(-)Ax_s]_t \text{ nebo} \\ [Ex_i]_{p1} + [Cx_{ck} - Ex_{ek}]_{p3} + \{[(-)Cx_j]_{p2} * [(+)Kx_u]_z\} * [(-)Ax_s]_t$$

a tyto polykationtové biokonjugáty jsou popsány obecným vzorcem XI nebo schematickým obecným vzorcem XI/a



v nichž

"(-)Ax" v $[(-)Ax_s]_t$ znamená (-)Ax molekul zesilovače aniontového charakteru různých ("x") druhů, které jsou přímo konjugovány s daným představitelem molekul nosiče obecného vzorce I/a iontovými vazbami,

"s" znamená to, jestli (-)Ax aniontových/polyaniontových molekul konjugovaných s danou molekulou polykationtového nosiče iontovými vazbami je identických (s = 1) nebo jestli jsou různého druhu počtu "s" (s = 2, 3, ... "x" druhů),

"(+)"Kx" v $[(+)Kx_u]_z$ znamená (+)Kx molekul zesilovače různého ("x") druhu kationtového charakteru, které mohou být konjugovány nepřímo iontovými vazbami

- $[(-)Cx_i]$ spojovacími molekulami různých druhů ("x") aniontového charakteru s daným představitelem molekul nosiče obecného vzorce I/a, které jsou podstatné pro konjugát obecného vzorce III,
- "u" znamená to, jestli $(+)Kx$ kationtů a/nebo polykationtů konjugovaných s danou sloučeninou obecného vzorce III iontovými vazbami je identických ($u = 1$) nebo jestli jsou různého druhu počtu "u" ($u = 2, 3, \dots$ "x" druhů),
- "t" označuje stupeň nasycenosti v % molekuly nosiče obecného vzorce I/a $[(-)Ax_s]$ molekulami zachycovače,
- "z" znamená stupeň nasycenosti v % polykationtového biokonjugátu obecného vzorce I nebo molekuly nosiče obecného vzorce I/a $[(+)Kx_u]$ molekulami zesilovače, které jsou konjugovány nepřímo $[(-)Cx_i]$ spojovacími molekulami aniontového charakteru,
- "t" v obecném vzorci VI,
- "z" v obecném vzorci VII,
- "t"+"z" ve schematickém obecném vzorci VIII,
- "t"+"p₁" nebo "t"+"p₃" nebo "t"+"p₁"+"p₃" v obecném vzorci IX a ve schematickém obecném vzorci IX/a,
- "z"+"p₁" nebo "z"+"p₃" nebo "z"+"p₁"+"p₃" v obecném vzorci X a ve schematickém obecném vzorci X/a a
- "t"+"z"+"p₁" nebo "t"+"z"+"p₃" nebo "t"+"z"+"p₁"+"p₃" v obecném vzorci XI a ve schematickém obecném vzorci XI/a a hodnoty každého z těchto součtů jsou mezi >0 a ≤ 100 , a dále ty NH_2 skupiny, které nejsou nasyceny "t" a/nebo "z" a/nebo "p₁" a/nebo "p₃", zůstanou volné, přičemž je stanoven poměr mezi volnými (nezahmutými v chemických vazbách) a vázanými NH_2 -skupinami, který dále ovlivňuje náboj a kationtový charakter polykationtových biokonjugátů, přičemž "z" znamená stupeň nasycenosti molekul nosiče $[(+)Kx_u]$ molekulami kationtového zesilovače, které jsou konjugovány nepřímo $[(-)Cx_i]$ spojovacími molekulami, proto "z" = "p₂", dále
- "r", "m" a $[(k)Mx]$ znamenají stejně jako v obecném vzorci I,
- $[Ex]_{pi}$ znamená stejně jako v obecném vzorci II,
- $[(-)Cx_i]_{p2}$ znamená stejně jako v obecném vzorci III a

"[C_{xck}-E_{xek}]_{p3}" znamená stejně jako v obecném vzorci IV.

Stupeň novosti polykationtových biokonjugátů obecného vzorce I, předmětu předloženého vynálezu, spočívá v tom, že existují isopolypeptidy, které mají volné α -aminové skupiny jako molekuly polykationtového nosiče v nich, jejichž syntéza se provádí kondenzováním monomerů diamino-monokarboxylové kyseliny, kterou se vystaví tyto isopolypeptidy, nikoliv jejich aminovými skupinami v α -polohách, ale jejich aminovými skupinami v jiných (β -, γ -, δ -, ϵ - ... atd.) polohách; způsoby použité pro přípravu těchto molekul nosiče byly popsány v maďarském patentovém spisu 202 553 B s prioritou 21.10.1987, nazvaném "Process for preparation of isopolypeptides from diamino-monocarbonic acids and the drugs containing them, and a plant protection agent containing polyisolysin", a dále v práci Szókána a spol.: "Structure Determination and Synthesis of Lysine Isopeptides Influencing on Cell Proliferation" (*Biopolymers*, J. Willey & Sons, Inc., **1997**, 42, 305 až 318.).

S daným představitelem molekul nosiče obecného vzorce I/a v nových polykationtových biokonjugátech obecného vzorce I, připravených podle vynálezu, může být prakticky jakákoliv organická a/nebo anorganická molekula, která má funkční skupiny vhodné pro konjugaci, kondenzována jako vhodně vybraná molekula zesilovače v souladu se způsobem, jak je uvedeno v obecných vzorcích II, III, IV, VI, VII, IX, X a XI nebo na schematických vzorcích V, VIII, IX/a, X/a a XI/a. Všechny tyto molekuly zesilovače mohou být s výhodou vybrány - neomezujícím způsobem - ze skupin sloučenin, které jsou zde níže uvedeny:

- hormonů a antagonistů hormonů různého druhu (steroidů, proteinů, peptidů atd.) a aktivních fragmentů peptidových hormonů a jejich derivátů,
- nasycených a nenasycených mastných kyselin, cholesterolů, fosfolipidů (fosfoglyceridů, sfingomyelinů atd.) a jejich derivátů,
- nukleových kyselin/antimediátorových nukleotidů,
- monosacharidů, oligosacharidů a polysacharidů a jejich derivátů,
- vitaminů a jejich derivátů,
- známých protinádorových léčiv a aktivních látek a jejich derivátů a

- aminokyselin, oligopeptidů, polypeptidů, dalších glykoproteinů a lipoproteinů, jejich fragmentů a jejich derivátů.

Nové polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I připravené podle způsobu popsaného v tomto vynálezu obsahují molekuly nosiče obecného vzorce Ia a daný představitel těchto molekul nosiče je konjugován chemickými (kovalentními a/nebo iontovými) vazbami s molekulami zesilovače, které jsou vhodně vybrány, podle zamýšleného účinku (například mají antiproliferační účinek, antimikrobiální účinek, dodávají geny, zlepšují kvalitu diagnostického zobrazování magnetickou resonancí atd.), a tyto molekuly zesilovače mohou být buď identické nebo mohou být (dvou nebo více, tj. "x") různých druhů, a díky aplikovatelnosti více molekul zesilovače v daném polykationtovém biokonjugátu obecného vzorce I, lze současně získat násobné přímé a/nebo nepřímé účinky. Seznam několika příkladů sloučenin, které mohou být s výhodou aplikovány pro tento účel, je zde dále uveden.

Sloučeniny obsahující část molekul přímého zesilovače - s neomezuujícím charakterem:

- sloučeniny, které mají antiproliferační účinky, například cytostatika používaná v klinické praxi, dále cytokiny, které ovlivňují dělení a diferenciaci buněk (např. různé růstové faktory stejně jako protilátky produkované proti receptorům těchto faktorů, interferony atd.), dále peptidy/proteiny inhibující tvorbu nových krevních cév kolem nádorových buněk (angiostatiny, endostatiny), dále nukleové kyseliny/antimediátorové oligonukleotidy, které vykazují antiproliferační účinky na maligně transformované buňky,
- sloučeniny, které mají antimikrobiální účinky, například protivirové, antibakteriální, antimykotikální, antiprotozoální atd. sloučeniny, používané v klinické praxi, dále nukleové kyseliny/komplexované antimediátorové oligonukleotidy, které inhibují replikaci mikrobů,
- nukleové kyseliny izolované nebo syntetizované pro účel přenosu genu, které jsou vhodné pro léčení genetických onemocnění (například cystické fibrózy),

- sloučeniny zlepšující kvalitu diagnostického zobrazování magnetickou resonancí, například paramagnetické ionty kovů a komplexy obsahující ionty kovů tohoto druhu, zvláště molekulové komplexy gadoliniového (Gd) iontu (například dimegluminová sůl Gd-diethylen-triamin-pentaoctové kyseliny),
- sloučeniny, které mají imunomodulační účinky (například interleukiny, nádorové nekrotické faktory atd.), které regulují danou funkci imunního systému, a
- četné vhodně vybrané sloučeniny s dalšími účinky, zde nedefinované, které se mohou používat s určitými účely, jako molekuly zesilovače.

Sloučeniny obsahující část molekul nepřímého zesilovače, které vyvíjejí nebo zvyšují selektivitu - s neomezuujícím charakterem:

- ve vztahu k antiproliferačnímu účinku například: monoklonální protilátky, které mají specifické afinity na povrchový antigen dané nádorové buňky stejně jako protilátky nebo jakákoliv sloučenina, která má afinitu na tyto druhy receptorů (například transferinový receptor nebo folátový receptor mezi vitaminy atd.), které jsou přítomny ve větším poměru na povrchu nádorových buněk než na povrchu normálních (maligně netransformovaných) buněk,
- dále ve vztahu k antiproliferačním a jakýmkoliv dalším účinkům zacíleným na jakoukoliv sloučeninu, která má specifickou afinitu na jistý receptor vyskytující se výlučně na povrchu pouze dané normální buňky (tento receptor neexistuje jako výsledek patologického procesu), konkrétně například receptory asialoglykoproteinu na buněčném povrchu hepatických buněk (na který se specificky váže koncová galaktosa makromolekul) nebo receptory kondenzující jakoukoliv jinou sloučeninu, které jsou přítomny ve větším množství na povrchu daných cílových buněk,
- obecně sloučeniny, které se mohou vázat na danou cílovou buňku (například mikroby nebo buňky infikované mikroby atd.), aby se dosáhl nepřímý zvýšený účinek.

Sloučeniny obsahující část molekul přímého nebo současně nepřímého zesilovače s neomezuujícím charakterem:

- ve vztahu k antiproliferačním účinkům například: hormony, antagonisté hormonů a jejich deriváty, zvláště peptidové hormony a lidský choriogonadotropinový hormon, které mají antiproliferační účinky, dále protilátky produkované proti receptorům růstových faktorů různého druhu, které jsou přítomny ve větším poměru na povrchu dané nádorové buňky než na povrchu jiných buněk, a současně vykazují antiproliferační účinky na dané maligně transformované buňky, a dále imunotoxiny, které jsou produkovány proti dané nádorové buňce,
- ve vztahu k antimikrobiálním účinkům například: neutralizující protilátky, které jsou produkovány proti daným mikrobům (například virům, bakteriím, houbám atd.), a dále imunotoxiny, které jsou produkovány proti danému mikrobi.

Nové polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I připravené podle vynálezu obsahují molekuly nosiče obecného vzorce I/a a daný představitel těchto molekul nosiče je konjugován s molekulami zesilovače - které mohou být buď identické nebo mohou být různých (dvou nebo více, tj. "x") druhů - které jsou vhodně vybrány ze shora uvedených příkladů a konjugace těchto molekul zesilovače je symbolizována $[Ex_i]_{p1}$ a/nebo $[...-Ex_{ek}]_{p3}$, což ukazuje na to, že tyto molekuly jsou kondenzovány kovalentními vazbami, navíc $[(-)Ax_s]_t$ s aniontovým charakterem a/nebo $[(+)Kx_u]_z$ s kationtovým charakterem ukazují na molekuly, které jsou kondenzovány iontovými vazbami.

Nové polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I připravené podle vynálezu obsahují molekuly nosiče obecného vzorce I/a a daný představitel těchto molekul nosiče je konjugován s molekulami zesilovače - které mohou být buď identické nebo mohou být různých (dvou nebo více, tj. "x") druhů - které jsou vhodně vybrány ze shora uvedených příkladů molekuly zesilovače mohou být konjugovány přímo a/nebo nepřímo spojovacími molekulami, později uvedené mohou být kondenzovány s molekulami zesilovače kovalentně nebo iontově, což je symbolizováno $[Cx_{ck}...]_{p3}$ kovalentními a $[(-)Cx_j]_{p2}$ iontovými, a tyto spojovací molekuly mohou být vhodně vybrány - bez omezujícího charakteru - z prodlužovacích řetězců dikarboxylových kyselin, trikarboxylových kyselin, sacharidů, aminokyselin nebo peptidů.

Nové polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I připravené podle vynálezu obsahují molekuly nosiče obecného vzorce I/a a daný představitel těchto molekul nosiče je konjugován s molekulami zesilovače - které mohou být buď identické nebo mohou být různých (dvou nebo více, tj. "x") druhů - které jsou vhodně vybrány podle shora uvedených příkladů a ke konjugaci molekul zesilovače dochází kovalentními a/nebo iontovými chemickými vazbami přímo a/nebo nepřímo v stanoveném poměru s výhodou tak, aby se dosáhlo nasycení 10 až 100 %.

Mezi výhodné představitele molekul nosiče obecného vzorce I/a v nových polykationtových biokonjugátech obecného vzorce I podle vynálezu patří 60 až 120-členné neracemické polyiso-L-lysiny, tj. hydrobromidy poly(ϵ)-L-lysinu, které samy mají jisté antiproliferační a protivirové účinky, jak je popsáno v maďarském patentovém spisu 202 553 B s maďarskou prioritou 21. října 1987.

Předmětem tohoto vynálezu je dosažení toho, aby každý z nových polykationtových biokonjugátů obecného vzorce I, připravený způsobem popsaným v předloženém vynálezu, obsahoval molekuly nosiče obecného vzorce I/a a tyto molekuly nosiče (které samy mají jisté antiproliferační účinky) byly konjugovány chemickými vazbami se sloučeninami, které mají antiproliferační účinky (seznam některých sloučenin vhodně vybraných pro tento účel je uveden shora mezi molekulami přímého zesilovače) a takto získané biokonjugáty jsou úspěšně aplikovatelné pro léčení maligností vyvíjejících se v savčích organismech (dále: nádory) nebo se kombinují se způsoby inhibujícími nádory, které jsou přijaty v klinické praxi.

Další molekuly zesilovače, které vedou k vyvinutí příslušně zvolené selektivity, které byly speciálně shora popsány (mezi molekulami nepřímých zesilovačů), napojené na biokonjugáty připravené podle vynálezu, zvyšují koncentraci účinných látek v nádorech, přičemž se mohou zmenšit nechtěné vedlejší účinky a tedy lze dále zvýšit účinnost léčení.

Konjugáty podobné těmto novým polykationtovým biokonjugátům s antiproliferačním účinkem podle předloženého vynálezu již byly dříve připraveny. Byly o nich publikovány také práce, z nich některé jsou zde dále uvedeny:

- Bogdanov A. A., ml., Martin C., Bogdanova A. V. a spol.: "An adduct of cis-diamine-dichloroplatinum(II) and poly(ethylenglykol)poly(L-lysine)-succinate: synthesis and cytotoxic properties", *Bioconjug. Chem.* **1996(leden-únor)**, 7(1), 144 až 149.
- Di-Stefano G., Busi C., Derenzini M. a spol.: "Conjugation of 5-fluoro-2'-deoxyuridine with lactosaminated poly-L-lysine to reduce extrahepatic toxicity in the treatment of hepatocarcinomas", *Ital. J. Gastroenterol. Hepatol.* **1998(duben)**, 30(2), 173 až 177.
- Paprocka M., Boratynski J., Dus D. a spol.: "Conjugation of the monoclonal antibody 17-1A with nitroacridine compound C921 with poly-L-lysine as an intermediate agent", *Arch. Immunol. Ther. Exp. Warsz.* **1997**, 45(4), 343 až 349.
- Salazar A. M., Levy H. B., Ondra S. a spol.: "Long-term treatment of malignant gliomas with intramuscularly administered polyinosinic-polycytidylic acid stabilized with polylysine and carboxymethylcellulose: an open pilot study", *Neurosurgery* **1996(leden)**, 38(6), 1096 až 1104, diskuse 1103 až 1104.

Dalším poznáním obsaženým v předloženém vynálezu je znak molekul nosiče obecného vzorce I/a v nových polykationtových biokonjugátech obecného vzorce I, že jako polykationty jsou vhodné pro transport stejně jako pro zavedení do cílových molekul vhodně vybraných nukleových kyselin polyaniontového charakteru jako molekul zesilovače, navázaných na ně iontovými vazbami, tj. pro přenos genu, využitím účinku, že konjugováním dalších molekul zesilovače kovalentními vazbami - podrobnosti viz zde shora - vedoucím k vyvinutí příslušně zvolené selektivity, jsou nové polykationtové biomolekuly navázány selektivně na cílové buňky nebo v podstatně vyšším poměru na tyto cílové buňky než na buňky jiného typu.

Konjugáty, podobné těmto novým polykationtovým biokonjugátům, podle předloženého vynálezu, schopné přenosu genu, již byl dříve připraveny. Ve vědecké

literatuře byly o nich publikovány práce, z nichž některé jako příklady jsou zde dále uvedeny:

- Erbacher P., Roche A. C., Monsigny M., Midoux P.: "The reduction of the positive charges of polylysine by partial glukonylation increases the transfection efficiency of polylysine/DNA complexes", *Biochim. Biophys. Acta* **1997(21. února)**, 1324(1), 27 až 36.
- Ferkol T., Perales J. C., Mularo F., Hanson R. W.: "Receptor-mediated gene transfer into macrophages", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996(9. ledna)**, 93(1), 101 až 105.
- Kollen W., Erbacher, Midoux P. a spol.: "Glykosylated polylysines. Nonviral vectors for gene transfer into cystic fibrosis airway epithelial cells", *Chest*, **1997(leden)**, 111(6 Suppl.), 95S až 96S.
- Liang W. W., Shi X., Deshpande D. a spol.: "Oligonucleotide targeting to alveolar macrophages by mannose receptor-mediated endocytosis", *Biochim. Biophys. Acta* **1996(13. března)**, 1279(2), 227 až 234.
- Schneider H., Huse K., Birkenmeier G. a spol.: "Gene transfer mediated by alpha2-macroglobulin", *Nucleic Acids Res.* **1996(1. října)** 24(19), 3873 až 3874.
- Scharzenberger P., Spence S. E., Gooya J. M. a spol.: "Targeted gene transfer to human hematopoietic progenitor cell lines through the c-kit receptor", *Blood*, **1996(15. ledna)**, 87(2), 472 až 478.
- Sosnowski B. A., Gonzales A. M., Chandler L. A. a spol.: "Targeting DNA to cells with basic fibroblast growth factor (FGF2)", *J. Biol. Chem.* **1996(27. prosince)**, 271(52), 33647 až 33653.
- Stewart A. J., Pichon C., Meunier L. a spol.: "Enhanced biological activity of anti-sense oligonucleotides complexed with glycosylated poly-L-lysine", *Mol. Pharmacol.* **1996(prosinec)**, 50(6), 1487 až 1494.

Navíc nové polykationtové biokonjugáty, které jsou vhodné pro přenos genu v případě další konjugace se sloučeninami, které mají antiproliferační účinky (vhodně vybrané sloučeniny, molekuly přímých zesilovačů), jsou vhodné pro účinnější léčení nádorů. Byly o nich publikovány vědecké práce, z nichž jsou zde uvedeny následující:

- 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(leden-únor)**, 3(1), 4 až 10.
- Foster B. J., Kern J. A.: "HER2-targeted gene transfer", *Hum. Gene Ther.* **1997(10. dubna)**, 8(6), 719 až 727.
- Ginobbi P., Geiser T. A., Ombres D., Citro G.: "Folic acid-polylysine carrier improves efficiency of c-myc antisense oligodeoxynucleotide on human melanoma (M14) cells", *Anticancer Res.* **1997(leden-únor)**, 17(1A), 29 až 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(květen-červen)**, 4(3), 183 až 90.
- Schachtschabel U., Pavlinkova G., Lou D., Kohler H.: "Antibody-mediated gene delivery for B-cell lymphoma in vitro", *Cancer Gene Ther.* **1996(listopad-prosinec)**, 3(6), 365 až 372.
- 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(březen-duben)**, 3(2), 112 až 120.
- Watanabe N., Sato Y., Yamauchi N., Niitsu Y.: "Gene delivery into human cancer cells via transferrin receptor", *Nippon Rinsho*, **1998(březen)**, 56(3), 724 až 730.

Další poznatek také patří k předmětu předloženého vynálezu, konkrétně to, že každý z nových polykationtových biokonjugátů obecného vzorce I vyrobený podle způsobu popsaného v tomto vynálezu, obsahuje molekuly nosiče obecného vzorce I/a a tyto molekuly nosiče (které mají samy jisté protivirové účinky) jsou konjugovány chemickou vazbou s vhodně vybranými sloučeninami, které mají protivirové účinky, jako molekuly přímého zesilovače, a díky tomu zvyšují protivirový účinek těchto nových polykationtových biokonjugátů.

Nové polykationtové biokonjugáty, které se připravují způsobem popsaným v předchozím odstavci, konjugované dále chemickou vazbou s vhodně vybranými sloučeninami, které vyvíjejí nebo zvyšují selektivitu na cílové buňky, které jsou infikovány

virem (vhodně vybrané sloučeniny z molekul nepřímých zesilovačů) jsou vhodné pro zvýšení relativní koncentrace nových polykationtových biokonjugátů s protivirovým charakterem v buňkách, které jsou infikovány virem, a díky tomu účinnost léčení bude zvýšena a vedlejší účinky velice sníženy. Konjugáty podobné těmto novým polykationtovým biokonjugátům s protivirovým účinkem podle předloženého vynálezu již byly dříve popsány. Následují některé publikace, které o nich pojednávají a na které je zde odkazováno:

- Di Stefano G., Colonna F. P., Bongini A. a spol.: "Ribavarin conjugated with lactosaminated poly-L-lysine: selective delivery to the liver and increased antiviral activity in mice with viral hepatitis", *Biochem. Pharmacol.* **1997(1. srpna)**, 54(3), 357 až 363.
- Fiume L., Di Stefano G., Busi C. a spol.: "Liver targeting of antiviral nucleoside analogues through the asialoglycoprotein receptor", *J. Viral Hepat.* **1997**, 4(6), 363 až 370.
- Fiume L., Di Stefano G., Busi C. a spol.: "Hepatotropic conjugate of adenine arabinoside monophosphate with lactosaminated poly-L-lysine. Synthesis of the carrier and pharmacological properties of the conjugate", *J. Hepatol.* **1997(únor)**, 26(2), 253 až 259.
- Nakazano 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(leden)**, 23(6), 1297 až 1303.

Další poznatek také patří k předmětu předloženého vynálezu, konkrétně to, že každý z nových polykationtových biokonjugátů obecného vzorce I, vyrobený podle způsobu popsaného v tomto vynálezu, obsahuje molekuly nosiče obecného vzorce I/a a tyto molekuly nosiče jsou konjugovány chemickou vazbou se sloučeninami, které mají různé druhy antimikrobiálních účinků (vhodně vybrané sloučeniny z molekul přímých zesilovačů) a díky tomu tyto nové polykationtové biokonjugáty významně zvyšují antimikrobiální účinky převyšující protivirový charakter, který byl popsán v předcházejících třech odstavcích.

Nové polykationtové biokonjugáty, které se připravují způsobem popsáním v předchozím odstavci, konjugované dále chemickou vazbou se sloučeninami, které vyvíjejí nebo zvyšují selektivitu na cílové buňky, které jsou infikovány různými druhy mikrobů (vhodně vybrané sloučeniny z molekul nepřímých zesilovačů), jsou vhodné pro zvýšení relativní koncentrace polykationtových biokonjugátů s antimikrobiálním charakterem v buňkách, které jsou infikovány danými mikroby a díky tomu účinnost léčení bude zvýšena a vedlejší účinky velice sníženy.

Další poznatek také patří k předmětu předloženého vynálezu, konkrétně to, že každý z nových polykationtových biokonjugátů obecného vzorce I vyrobený podle způsobu popsaného v tomto vynálezu, obsahuje molekuly nosiče obecného vzorce I/a a tyto molekuly nosiče jsou konjugovány chemickou vazbou s makromolekulárními paramagnetickými kontrastními činidly, například komplexy molekul gadolinia, a jejich deriváty (vhodně vybrané sloučeniny z molekul přímých zesilovačů) a díky tomu tyto nové polykationtové biokonjugáty významně zvyšují kvalitu diagnostického zobrazení magnetickou resonancí zvýšením kontrastu mezi různými druhy orgánů, tkání stejně jako různými patologickými změnami, například nádory.

Nové polykationtové biokonjugáty, které se připravují způsobem popsáním v předchozím odstavci, konjugované dále chemickou vazbou se sloučeninami, které vyvíjejí nebo zvyšují selektivitu na různé druhy cílových orgánů nebo rozmanité patologické změny (vhodně vybrané sloučeniny z molekul nepřímých zesilovačů), jsou vhodné pro významné zvýšení relativní koncentrace polykationtových biokonjugátů s paramagnetickým kontrastním charakterem v různých druzích orgánů a tkání a rovněž i rozmanitých patologických změn a díky tomu dále zlepšují kvalitu zobrazení magnetickou resonancí.

Konjugáty podobné těmto novým polykationtovým biokonjugátům paramagnetického charakteru podle předloženého vynálezu již byly dříve připraveny. Následují některé publikace, které o nich pojednávají a na které je zde odkazováno:

- Opsahl L. R., Uzgiris E. E., Vera D. R.: "Tumor imaging with a macromolecular paramagnetic contrast agent: gadopentetate dimeglumine-polylysine", *Acad. Radiol.* **1995(září)**, 2(9), 762 až 767.
- Su M. Y., Muhler A., Lao X., Nalcioglu O.: "Tumor characterization with dynamic contrast-enhanced MRI using MR contrast agents of various molecular weights", *Magn. Reson. Med.* **1998(únor)**, 39(2), 259 až 269.
- Vera D. R., Buonocore M. H., Wisner E. R. a spol.: "A molecular receptor-binding contrast agent for magnetic resonance imaging of the liver", *Acta Radiol.* **1995(leden)**, 2(6), 497 až 506.
- Vogl T. J., Hoffmann Y., Juergens M. a spol.: "Experimentelle Evaluierung der kontrastmittelverstärkten, hochauflösenden MR-Agiographie am Tiernmodell. Gd-DTPA gegenüber Gd-DTPA A-Polylysin", *Radiologie* **1996(březen)**, 36(3), 254 až 262.

Další poznatek také patří k předmětu předloženého vynálezu, konkrétně to, že každý z nových polykationtových biokonjugátů obecného vzorce I vyrobený podle způsobu popsaného v tomto vynálezu obsahuje molekuly nosiče obecného vzorce I/a a tyto molekuly nosiče jako polykationty jsou vhodné pro to, aby se polykationtové biokonjugáty dostaly do savčího organismu transdermálním transportem iontoforézou.

Nové polykationtové biokonjugáty, které se transportují kůží, vykazují jejich účinky hlavně v různých vrstvách kůže a v podkožních tkáních, v oblasti iontoforézy a jistá jejich množství působí systémově. Tento druh působení závisí na molekulární velikosti, na fyzikálně-chemickém charakteru a na typu vhodně vybraných molekul přímých a/nebo nepřímých zesilovačů polykationtových biokonjugátů stejně jako na povaze aplikovaného elektrického pole.

Koncentrace těchto nových polykationtových biokonjugátů, které se připravují podle terapeutických cílů (například pro antiproliferační nebo protivirové účinky atd.) a které obsahují vhodně vybrané a shora uvedené molekuly přímých a/nebo nepřímých zesilovačů, se v místě transdermální aplikace zvýší a díky tomu bude velice zvýšena lokální účinnost léčení a vedlejší účinky budou sníženy. Jestliže cílem je dosáhnout

systémový účinek transdermální aplikací, výhodou bude představovat konstantní, neinvazivní podávání polykationtových biomolekul, které se vyhýbají gastro-intestinálnímu systému. Konjugáty, které jsou podobné novým polykationtovým biokonjugátům schopným transdermální aplikace podle předloženého vynálezu, již byly dříve připraveny. Následují některé publikace, které o nich pojednávají a na které je zde odkazováno:

- Turner N. G., Ferry L., Price M. a spol.: "Iontophoresis of poly-L-lysines: the role of molecular weight?", *Pharm. Res.* **1997(říjen)**, 14(10), 1322 až 1331.
- Vanbever R., Prausnitz M. R., Preat V.: "Macromolecules as novel transdermal transport enhancers for skin electroporation", *Pharm. Res.* **1997(květen)**, 14(5), 638 až 644.

Další poznatek také patří k předmětu předloženého vynálezu, konkrétně to, že každý z nových polykationtových biokonjugátů obecného vzorce I vyrobený podle způsobu popsaného v tomto vynálezu, obsahuje molekuly nosiče obecného vzorce I/a a tyto molekuly nosiče jsou konjugovány se shora uvedenými molekulami přímého a/nebo nepřímého zesilovače, které jsou vhodně vybrány podle daného terapeutického účelu (například antiproliferační nebo protivirové účinky nebo genová terapie atd.) a tyto nové polykationtové biokonjugáty se umístí do kationtových liposomů a díky tomu bude účinnost léčení zvýšena a vedlejší účinky budou velice sníženy. Konjugáty, které jsou podobné těmto novým polykationtovým biokonjugátům, které jsou vhodné pro umístění do kationtových liposomů podle předloženého vynálezu, již byly dříve připraveny. Následují některé publikace, které o nich pojednávají a na které je zde odkazováno:

- Gao X., Huang L.: "Potentiation of cationic liposome-mediated gene delivery by polycations", *Biochemistry*, **1996(23. ledna)**, 35(3), 1027 až 1036.
- Lee R. H., Huang L.: "Folate-targeted, anionic liposome-entrapped polylysine-condensed DNA for tumor cell-specific gene transfer", *J. Biol. Chem.* **1996(5. dubna)**, 271(14), 8481 až 8487.

- Mack K. D., Walzem R. L., Lehmann-Bruinsma K. a spol.: "Polylysine enhances cationic liposome-mediated transfection of the hepatoblastoma cell line Hep G2", *Biotechnol. Appl. Biochem.* **1996 (23. ledna)**, 23(Pt 3), 217 až 220.
- Saldeen J., Curiel D. T., Eizirik D. L. a spol.: "Efficient gene transfer to dispersed human pancreatic islet cells in vitro using adenovirus-polylysine/DNA complexes or polycationic liposomes", *Diabetes* **1996(září)**, 45(9), 1197 až 1203.
- Vitiello L., Chonn A., Wasserman J. D. a spol.: "Condensation of plasmid DNA with polylysine improves liposome-mediated gene transfer into established and primary muscle cells", *Gene Ther.* **1996(květen)**, 3(5), 396 až 404.
- Zelphati O., Szoka F. C. ml.: "Mechanism of oligonucleotide release from cationic liposomes" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996(15. října)**, 93(21), 11493 až 11498.

Biologicky účinné konjugáty, které byly popsány ve vědeckých souhrnných článcích z lékařství a které byly shora uvedeny, obsahují molekuly nosiče, které jsou vytvořeny z diamino-monouhličitanových monomerů, konkrétně lysinů, které jsou kondenzovány navzájem peptidovými vazbami aminovými skupinami v α -polohách, čímž se jako výsledek jejich syntézy vytvoří poly-(α)-L-lysin. Tyto skutečnosti každopádně podporují poznatky podle předloženého vynálezu.

Na základě shora uvedených aspektů - stupeň novosti tohoto vynálezu je obsažen v tom, že každý z nových polykationtových biokonjugátů obecného vzorce I, připravený podle vynálezu, obsahuje molekuly nosiče obecného vzorce I/a a tyto molekuly nosiče jsou sestaveny z diamino-monouhličitanových monomerů, které jsou kondenzovány peptidovými vazbami vytvořenými aminoskupinami v (β -, γ -, δ -, ϵ - ... atd.) polohách odpovídajících hodnotě "m" a nikoliv aminoskupinami v α -poloze a tedy jako výsledek syntézy se vytvoří β -, γ -, δ -, ϵ - ... atd. polypeptidy, které jsou strukturně zcela odlišné od těchto polypeptidů, které byly popsány v citovaných vědeckých souhrnných článcích. Biologické chování těchto nových polykationtových biokonjugátů obecného vzorce I bude tedy pozměněno. Například jsou odolnější vůči proteolytickým enzymům, dále pak molekuly nosiče obecného vzorce I/a samotné mají jinou antiproliferační a protivirovou aktivitu a jako důsledek je příznivě modifikována

biologická účinnost nových polykationtových biokonjugátů obecného vzorce I. Tyto nové polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I podle vynálezu jsou sestavovány jako farmaceutické přípravky, které jsou aplikovatelné perorálně, parenterálně nebo transdermálně pro systémové nebo místní použití.

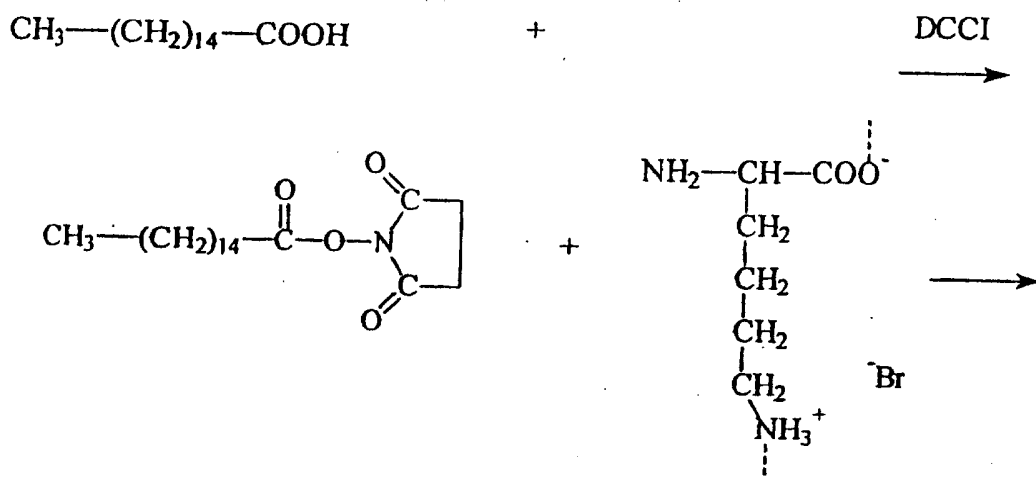
Výhodnými představiteli těchto nových polykationtových biokonjugátů obecného vzorce I podle předloženého vynálezu jsou ty biokonjugáty, v nichž molekuly nosiče obecného vzorce I/a znamenají poly-(ε)-L-lysiny. Příprava některých jejich představitelů je ilustrována následujícími příklady níže.

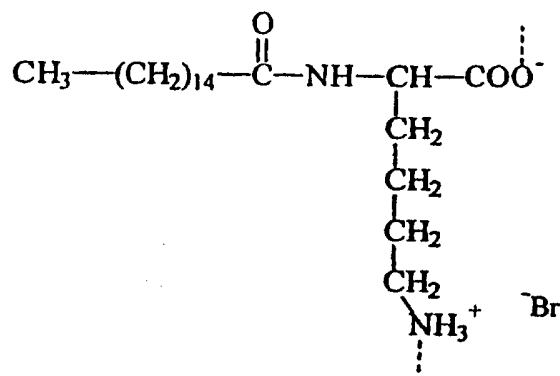
Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

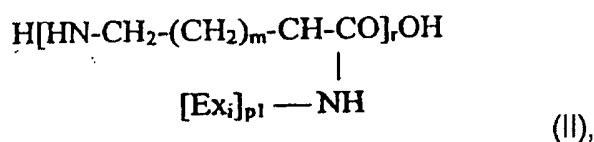
Příprava hydrogenbromidu palmitoyl-poly-(ε)-L-lysinu

Reakční schema:





Vzorec hydrogenbromidu palmitoyl-poly-(ε)-L-lysinu - podle nových polykationových biokonjugátů podle vynálezu obecného vzorce II - je



v němž

- "m" znamená číslo 3,
- "r" znamená číslo 99 ± 2 ,
- "E" znamená skupinu $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CO}-$,
- "i" znamená číslo 1, tj. pouze jeden druh molekul zesilovače je navázán chemickou vazbou na molekulu nosiče, a
- "p₁" znamená 12 ± 2 %.

- a) Hydrogenbromid poly-(ε)-L-lysinu (střední $M_w = 12\,700 \pm 200$, specifická optická rotace = $+32,4^\circ$, stupeň polymerace: $R = 99 \pm 2$) jako molekula nosiče podle vynálezu obecného vzorce I/a byl syntetizován podle způsobu popsaného v příkladu 1 i) maďarského patentového spisu č. 202 553 B.
- b) Příprava palmitoyl-N-hydroxy-sukcinimidu potřebného pro palmitoylační reakci: 1,28 g (5 mmolů) kyseliny palmitové a 0,58 g (5 mmolů) N-hydroxy-sukcinimidu se rozpustí ve 12 ml absolutního tetrahydrofuranu a k tomuto roztoku se přidá

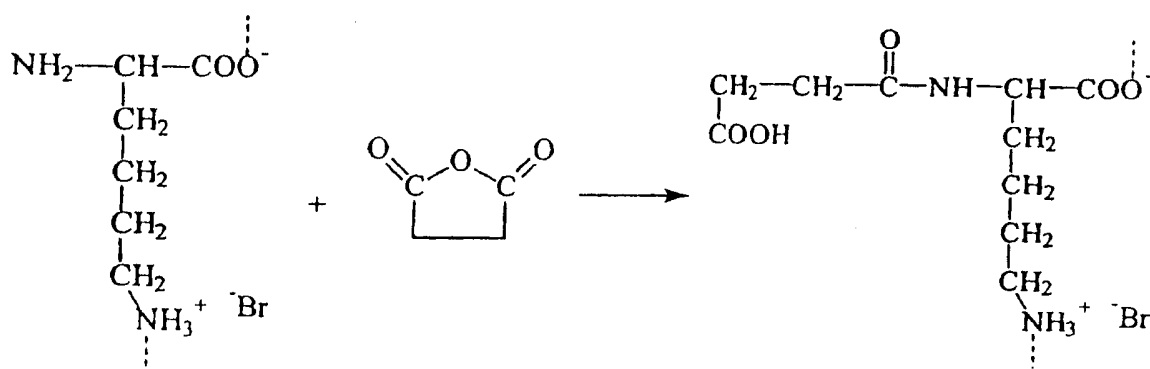
1,03 g (5 mmolů) dicyklohexylkarbodiimidu. Směs se pak míchá 4 hodiny za teploty 0 °C, potom se nechá stát 12 hodin při + 4 °C a vysrážený dicyklohexyl-karbamid, který se vytvořil během tohoto způsobu, se odfiltruje skleněnou fritou ve vakuu a třikrát se promyje tetrahydrofuranem; takto získaný čirý roztok se zahustí dosucha, pevný zbytek se rozpustí ve 100 ml ethylacetátu a poslední roztok se třikrát promyje 5% (hmotn.) roztokem hydrogenuhličitanu sodného a potom třikrát vodou, což vede ke konečnému produktu 1,08 g palmitoyl-N-hydroxy-sukcinimidu v bílé, krystalické formě. Jeho čistota byla zkontrolována TLC a IČ.

- c) 250 mg Hydrogenbromidu poly(ε)-L-lysinu, připraveného podle způsobu popsaného v příkladu 1a), se rozpustí v 1,5 ml vody a pH tohoto roztoku se přidáním 1N NaOH upraví na 8 za intenzivního míchání; potom se roztok vyčeří přidáním 1,5 ml tetrahydrofuranu a 0,5 ml dimethylformamidu; po přidání 50 mg hydrogenuhličitanu sodného za intenzivního míchání se k reakční směsi přidá 28 mg palmitoyl-N-hydroxy-sukcinimidu, čerstvě připraveného podle příkladu 1b), a rozpustí se ve směsi 0,2 ml tetrahydrofuranu s dimethylformamidem (6:1); následuje intenzivní míchání po dobu 4 hodin, přičemž se pH udržuje na hodnotě 8 přikapáváním 5N hydroxidu sodného k tomuto roztoku; směs se nechá stát 12 hodin při + 4 °C. Následuje přikapání 0,1 ml azeotropického roztoku bromovodíku, potom se reakční směs nalije do nadbytku (20 ml) tetrahydrofuranu a sraženina se čtyřikrát promyje tetrahydrofuranem dokud nezůstane práškovitá, potom se dvakrát promyje diethyletherem a následně se vysuší; tímto způsobem se získá konečný hydrogenbromid palmitoyl-poly-(ε)-L-lysinu. Výtěžek byl 245 mg. Volné aminové skupiny produkty byly zkontrolovány analýzou s trinitrobenzensulfonovou kyselinou, podle které byl stupeň substituce 12 ± 2 %. Zvýšením množství reakčního činidla palmitoyl-N-hydroxy-sukcinimidu se rovněž zvýšil stupeň substituce a dosáhl nutné hodnoty.

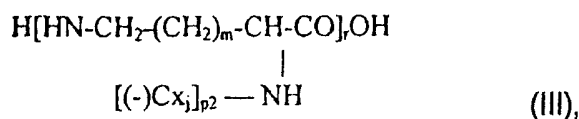
Příklad 2

Příprava hydrogenbromidu hemisukcinyl-poly-(ε)-L-lysinu

Reakční schema:



Vzorec hydrogenbromidu hemisukcinyl-poly-(ε)-L-lysinu - nových sloučenin podle vynálezu podle obecného vzorce III - je



v němž

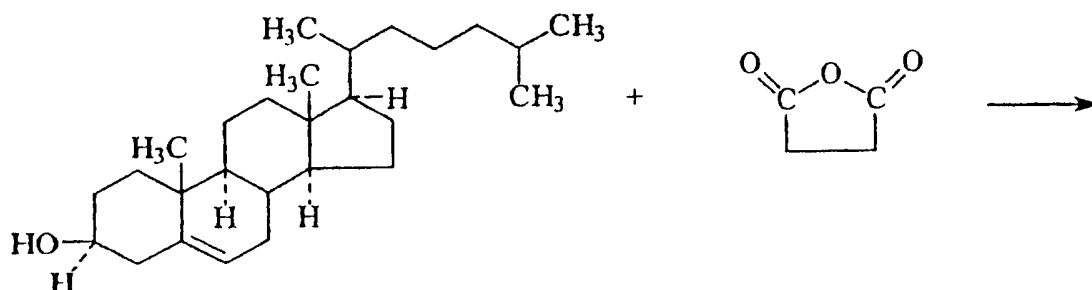
- "m" znamená číslo 3,
 "r" znamená číslo 99 ± 2 ,
 "(-)C" znamená skupinu $-\text{OC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$,
 "j" znamená číslo 1, tj. pouze jeden druh spojujících molekul je navázán kovalentními vazbami na molekulu nosiče, a
 "p₂" znamená $20 \pm 2 \%$.

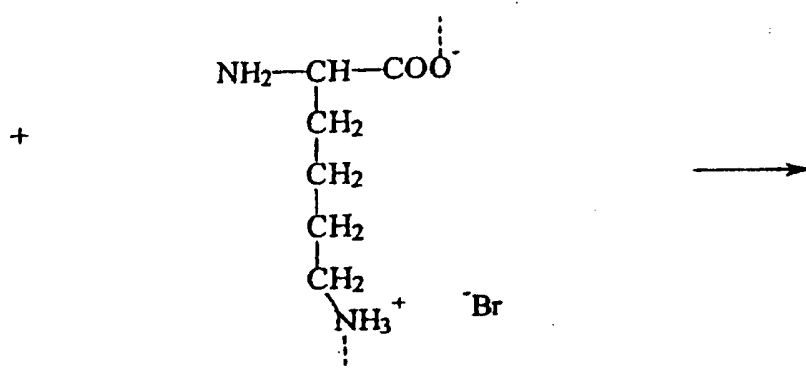
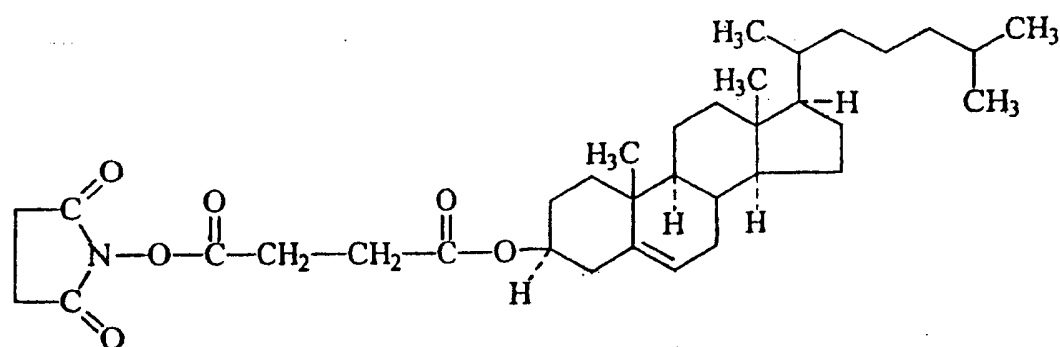
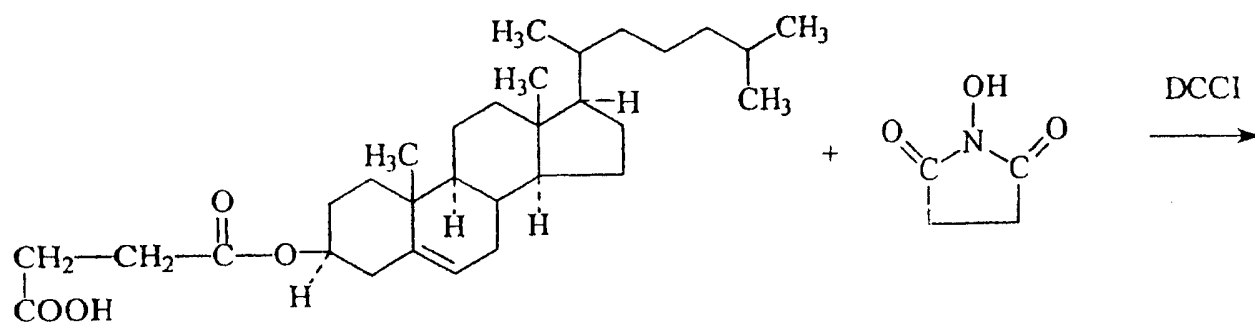
- a) Hydrogenbromid poly-(ϵ)-L-lysinu jako molekula nosiče obecného vzorce I/a podle vynálezu byl syntetizován podle způsobu popsaného v příkladu 1a) předložené patentové přihlášky.
- b) 60 mg Hydrogenbromidu poly(ϵ)-L-lysinu, připraveného podle způsobu popsaného v příkladu 1a), se rozpustí ve 2 ml vody, pH tohoto roztoku se přidáním 1N NaOH upraví na 8, za intenzivního míchání; potom se k tomuto roztoku po dávkách přidá 30 mg čerstvě připraveného anhydridu kyseliny jantarové během 40 minut, přičemž se pH udržuje na hodnotě 8 přikapáváním 5N hydroxidu sodného; následuje 40 minut míchání a pak se na konci reakci pH směsi přidáním 6M kyseliny chlorovodíkové sníží na 4,5; směs se naplní do dialyzačního sáčku a dialyzuje se proti vodě 48 hodin, potom při teplotě + 4 °C se zamění čtyřikrát vody; vysušením vymražením se izoluje konečný produkt, hydrogenbromidová sůl hemisukcinyl-poly-(ϵ)-L-lysinu. Výtěžek byl 46 mg. Volné aminové skupiny produktu byly zkontrolovány analýzou trinitrobenzensulfonovou kyselinou, podle které byl stupeň substituce 20 %. Zvýšením množství kyseliny jantarové se rovněž zvýšil stupeň substituce a dosáhl příslušné nutné hodnoty.

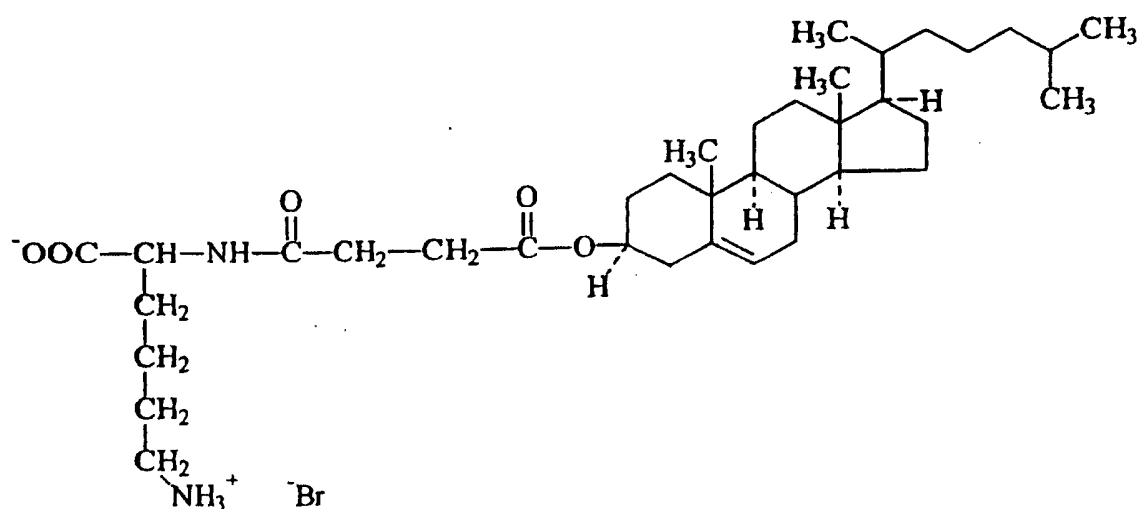
Příklad 3

Příprava hydrogenbromidu cholesteryl-hemisukcinyl-poly-(ϵ)-L-lysinu

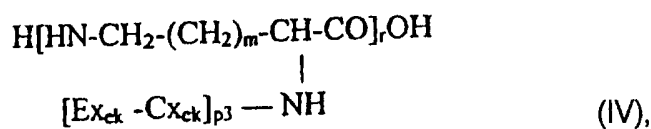
Reakční schema:







Vzorec hydrogenbromidové soli cholesteryl-hemisukcinyl-poly-(ε)-L-lysinu - nových polykationtových biokonjugátů obecného vzorce IV podle vynálezu - je



v němž

- "m" znamená číslo 3,
- "r" znamená číslo 99 ± 2 ,
- "C" znamená skupinu $-\text{OC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CO}-$,
- "E" znamená cholesterol,
- "ek" = "ck" znamená číslo 1, tj. pouze jeden druh zesilovače a spojujících molekul j e navázán kovalentními vazbami na molekulu nosiče, a
- "p₃" znamená $15 \pm 2 \%$.

- a) Hydrogenbromid poly-(ε)-L-lysinu jako molekula nosiče obecného vzorce I/a podle vynálezu byl syntetizován podle způsobu popsaného v příkladu 1a) předložené patentové přihlášky,

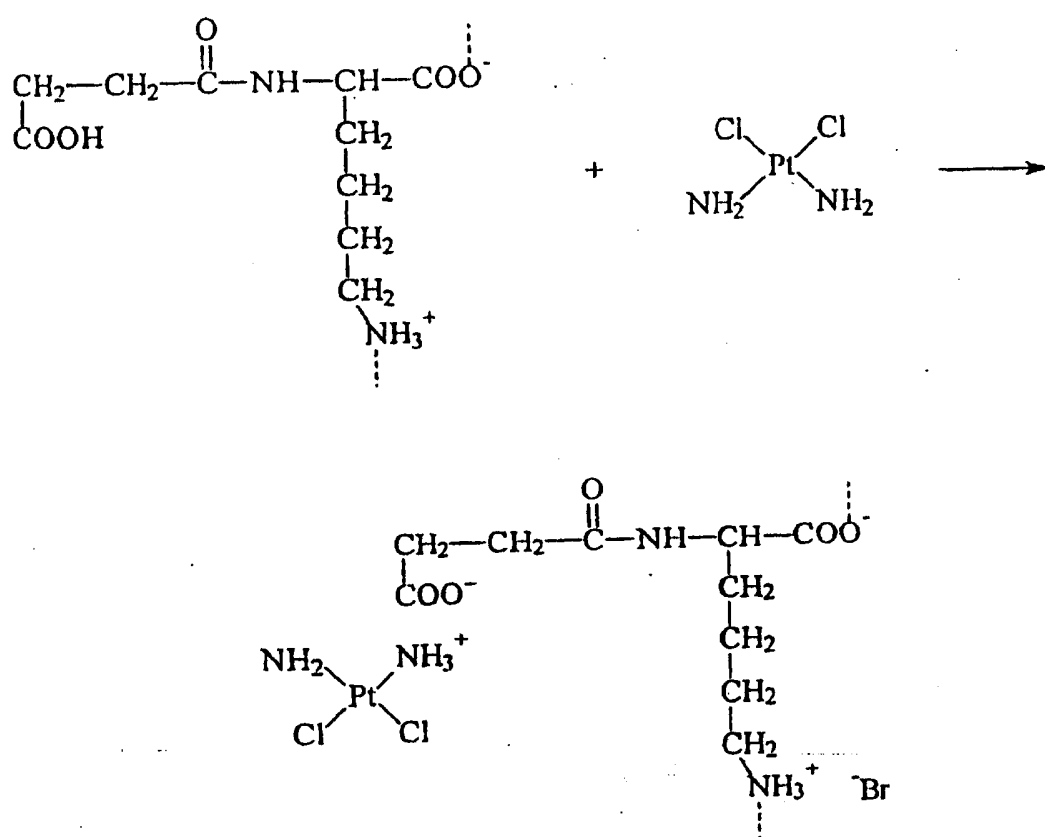
- b) Příprava cholesteryl-hemisukcinát-N-hydroxy-sukcinimidového esteru potřebného pro konjugaci: 0,98 g (2 mmoly) komerčně dostupného (např. od Sigma) cholesteryl-hemisukcinátu a 0,23 g (2 mmoly) N-hydroxy-sukcinimidu se rozpustí v 10 ml absolutního tetrahydrofuranu a k tomuto roztoku se přidá 0,41 g (2 mmoly) dicyklohexylkarbodiimidu. Směs se pak míchá 4 hodiny za teploty 0 °C, potom se nechá stát 12 hodin při + 4 °C a vysrážený dicyklohexyl-karbamid, který se vytvořil, se odfiltruje skleněnou fritou ve vakuu a třikrát se promyje tetrahydrofuranem; takto získaný čirý roztok se zahustí dosucha, pevný zbytek se rozpustí v 50 ml ethylacetátu a poslední roztok se třikrát promyje 5% (hmotn.) roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného a potom třikrát vodou. Vysuší se přidáním bezvodého síranu sodného. Následuje promytí ethylacetátem a zahuštění roztoku. Získá se tak konečný produkt cholesteryl-hemisukcinát-N-hydroxy-sukcinimidový ester jako bílý, krystalický materiál. Výtěžek byl 0,73 g. Čistota byla zkontrolována TLC a IČ.
- c) 240 mg hydrogenbromidu poly(ϵ)-L-lysinu, připraveného podle způsobu popsaného v příkladu 3a), se rozpustí ve 4,8 ml vody, pH tohoto roztoku se přidáním 1N NaOH upraví na 8, za intenzivního míchání; potom se roztok vyčeří přidáním 1,6 ml tetrahydrofuranu; po přidání 200 mg hydrogenuhlíčitanu sodného za intenzivního míchání se k reakční směsi přidá 50 mg cholesteryl-hemisukcinát-N-hydroxy-sukcinimidu, čerstvě připraveného podle příkladu 3b), a rozpustí se ve 2,4 ml tetrahydrofuranu; následuje intenzivní míchání po dobu 4 hodin za teploty místnosti, přičemž se pH udržuje na hodnotě 8 přikapáváním 5N hydroxidu sodného k tomuto roztoku; směs se nechá stát 12 hodin při + 4 °C. Následuje přikapání 0,3 ml azeotropického roztoku bromovodíku, potom se reakční směs nalije do nadbytku (30 ml) tetrahydrofuranu a sraženina se čtyřikrát promyje tetrahydrofuran dokud nezůstane práškovitá, potom se dvakrát promyje diethyletherem a následně se vysuší; tímto způsobem se získá konečný hydrogenbromid cholesteryl-hemisukcinát-poly-(ϵ)-L-lysinu. Výtěžek byl 275 mg. Volné aminové skupiny produkty byly zkontrolovány analýzou s trinitrobenzensulfonovou kyselinou, podle které byl stupeň substituce 15 ± 2 %. Zvýšením množství reakčního činidla cholesteryl-hemi-

sukcinát-N-hydroxy-sukcinimidu se rovněž zvýšil stupeň substituce a dosáhl nutné hodnoty.

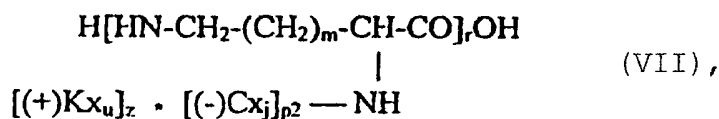
Příklad 4

Příprava hydrogenbromidu poly-(ε)-L-lysin-cisplatiny

Reakční schema:



Vzorec hydrogenbromidu poly-(ε)-L-lysin-cisplatiny - nových polykationtových biokonjugátů obecného vzorce VII - je



v němž

- "m" znamená číslo 3,
 "r" znamená číslo 99 ± 2 ,
 "(-)C" znamená skupinu $-\text{OC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COO}^-$,
 "(+)K" znamená cisplatinu,
 "u" = "j" znamená číslo 1, tj. pouze jeden druh molekul zesilovače a spojujících molekul je navázán iontovými vazbami na molekulu nosiče, a
 "u" = "p₂" znamená $80 \pm 2 \%$.

10 mg cisplatiny (Platidiam^(R), výrobce: Lachema, Česká republika) se rozpustí ve 3 ml vody. K tomuto roztoku se přidá 23 mg hydrogenbromidové soli hemisukcinyl-poly-(ε)-L-lysinu s 80% sukcinylací, který se připraví podle příkladu 1 předložené patentové přihlášky; tento roztok se nechá stát 48 hodin při 4 °C, potom se naplní do dialyzačního sáčku a dialyzuje se proti vodě 48 hodin při 4 °C, přičemž se voda čtyřikrát vymění. Konečný produkt hydrogenbromid poly-(ε)-L-lysin-cisplatiny se pak izoluje vysušením vymražením. Výtěžek byl 15 mg. Obsah platiny (tj. obsah cisplatiny) produktu byl vyhodnocen atomovou absorpční spektroskopií. Podle vyhodnocení poměr hmotnost Pt/Br byl 16, molární poměr 6,5, obsah platiny 2,7 mg/g; množství cis platiny v hydrogenbromidu poly-(ε)-L-lysin-cisplatiny byl úměrný stupni sukcinylace hydrogenbromidové soli hemisukcinyl-poly-(ε)-L-lysinu.

Biologická zkoumání

Byl studován účinek inhibování nádoru polykationtovými biokonjugáty, který je částí předmětu tohoto vynálezu, in vitro na kulturách nádorových buněk a in vivo na transplatovatelných nádorech hlodavců. In vitro inhibiční účinek na proliferaci buněk a in vivo inhibiční účinek různých polykationtových biokonjugátů připravených podle vynálezu na růst nádorů byl srovnán s neošetřenými kontrolami.

Byly provedeny biologické pokusy se sloučeninami, které byly připraveny podle příkladů 1, 2, 3 a 4 podle vynálezu, konkrétně s:

- hydrogenbromidem palmitoyl-poly-(ϵ)-L-lysinu,
- hydrogenbromidem hemisukcinyl-poly-(ϵ)-L-lysinu,
- hydrogenbromidem cholesteryl-hemisukcinyl-poly-(ϵ)-L-lysinu a
- hydrogenbromidem poly-(ϵ)-L-lysin-cisplatiny.

In vitro pokusy

Pokusy in vitro byly provedeny s hydrogenbromidem palmitoyl-poly-(ϵ)-L-lysinu, hydrogenbromidem hemisukcinyl-poly-(ϵ)-L-lysinu a hydrogenbromidem poly-(ϵ)-L-lysin-cisplatiny.

V těchto pokusech byly použity tyto buněčné linie:

- buněčná linie P388 myší lymfocytické leukemie, pocházející od Arthur D. Little Inc., Cambridge, Mass., USA, in vitro ošetřovaná v Národním onkologickém ústavu, Budapešť, Maďarsko (*Cancer Treat. Rep.* **1986**, 70, 279 až 284),
- buněčná linie MCF-7 lidské rakoviny prsu, pocházející z Americké sbírky typů kultur (ATCC) a
- buněčná linie PC3 lidské rakoviny prostaty, pocházející z Americké sbírky typů kultur (ATCC).

Při pokusech in vitro byly použity tyto způsoby:

1. Klonogenní test

Buňky MCF-7 a PC3 byly vysety na Petriho misky, potom byly ve vodném mediu a za příslušných podmínek a byly inkubovány se seriálovými ředěními různých polykationtových biokonjugátů připravených podle vynálezu. Kolonie, které sestávaly z minimálně 30 buněk, byly pak spočteny a získané hodnoty tří souběžných Petriho misek byly zprůměrovány. Byla vypočtena relativní účinnost klonování tak, že se

hodnoty kontroly berou jako 100 procent (*Cancer Detection and Prevention* 1996, 20(2), 146 až 152.).

2. Inhibice a proliferace

Test se sulforodaminem B (SRB): přibližně jeden až dva tisíce buněk bylo vloženo do každé jamky speciální malé misky z umělé hmoty (desky s mikrojamkami). Buňky byly inkubovány v příslušném mediu a za příslušných podmínek a po přilnutí k povrchu byly ošetřeny seriálovými ředěními různých polykationtových biokonjugátů připravených podle vynálezu. Na konci pokusu byly buňky fixovány, obarveny SRB a čtečkou mikrodesek CLS 962 ELISA byla zjištěna optická hustota, která je přímo úměrná proliferaci buněk. Relativní inhibice proliferace byla vypočtena tak, že se hodnoty kontroly berou jako 100 procent (*Cancer Detection and Prevention* 1996, 20(2), 146 až 152.).

Způsob počítání buněk s komůrkou Neubauerova typu: Suspenze kultur exponenciálně rostoucích buněk, které byly v příslušném mediu a za příslušných podmínek, byly ošetřeny seriálovými ředěními různých polykationtových biokonjugátů, které byly připraveny podle vynálezu. 24 a 48 hodin po ošetření byly buňky obarveny tripanovou modří a ošetřené a kontrolní buňky byly spočítány v modifikované hemocytometrové komůrce Neubauerova typu. Relativní inhibice proliferace byla vypočtena tak, že se hodnoty kontroly berou jako 100 procent.

Pokusy in vivo

Pokusy in vivo byly provedeny s hydrogenbromidem palmitoyl-poly-(ϵ)-L-lysinu a hydrogenbromidem cholesteryl-hemisukcinyl-poly-(ϵ)-L-lysinu jako monoterapie a společně s přípravkem Cytosan^(R) (Bristol-Myers) jako kombinační terapie. Sloučeniny byly podávány podle schématu jediné nebo opakované dávkové terapie a byly aplikovány intravenózně nebo intraperitoneálně.

Inhibiční účinek polykationtových biokonjugátů na růst nádorů byl studován na následujících transplantovatelných nádorech hlodavců

- buňky P-388 lymfatické leukemie, pocházející z Cambridge, Mass., USA, byly transplantovány i.p. a s.c. do těchto zvířat: myši samci BDF1 o hmotnosti 22 až 24 g, linie bez specifického patogenu (SPF),
- sarkom S-180, pocházející od Chester Beatty I., Londýn, byly transplantovány s.c. do těchto zvířat: myši samci BDF1 o hmotnosti 22 až 24 g, linie bez specifického patogenu (SPF).

Výsledky biologických pokusů

Pokusy in vitro

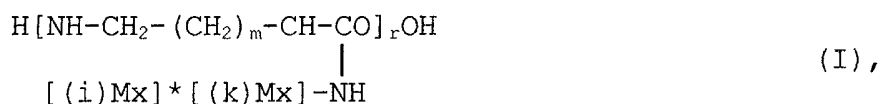
Na in vitro kulturách nádorových buněk hydrogenbromid palmitoyl-poly-(ϵ)-L-lysinu, hydrogenbromid cholesteryl-hemisukcinyln-poly-(ϵ)-L-lysinu a hydrogenbromid poly-(ϵ)-L-lysin-cisplatiny vykazují inhibici tvorby kolonií a proliferace buněk závislou na dávce. Nejúčinnější inhibici vykazoval hydrogenbromid palmitoyl-poly-(ϵ)-L-lysinu a hydrogenbromid poly-(ϵ)-L-lysin-cisplatiny.

Pokusy in vivo

Na základě středních objemů nádorů a křivek růstu nádorů byl pozorován významný inhibiční účinek hydrogenbromidu palmitoyl-poly-(ϵ)-L-lysinu a hydrogenbromidu cholesteryl-hemisukcinyln-poly-(ϵ)-L-lysinu na transplantovatelné nádory hlodavců. Dále pak kombinované léčení hydrogenbromidem palmitoyl-poly-(ϵ)-L-lysinu s přípravkem Cytosan(R) významně inhibovalo růst nádorů a významně zvýšilo dobu přežití pokusných zvířat s naočkovaným nádorem při srovnání s neošetřenou kontrolou stejně jako se zvířaty, které byly léčeny pouze přípravkem Cytosan^(R).

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Polykationtové biokonjugáty, vyznačující se tím, že každý z nich obsahuje molekuly isopolypeptidového polykationtového nosiče, které mají volné α -aminové skupiny, a tyto molekuly nosiče jsou konjugovány chemickými vazbami s vhodně vybranými molekulami, které mohou být buď identické nebo mohou být různých, dvou nebo více, tj. "x", druhů, nesoucí funkční skupiny vhodné pro konjugaci, a tyto polykationtové biokonjugáty syntetizované tímto způsobem mohou být popsány obecným vzorcem I



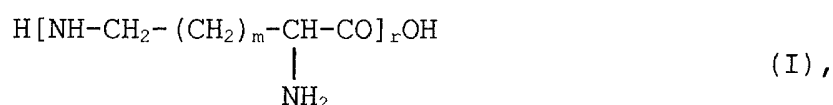
v němž

- "r" znamená střední hodnotu mezi 20 a 400,
- "m" znamená číslo 0, 1, 2, 3, k,
- "[(k)Mx]" znamená molekuly zesilovače a/nebo spojovací molekuly konjugované kovalentními, = k, vazbami s molekulou isopolypeptidového polykationtového nosiče, a
- "[(i)Mx]" znamená molekuly zesilovače konjugované iontovými, = i, vazbami s molekulou isopolypeptidového polykationtového nosiče, při čemž uvedené molekuly zesilovače a spojovací molekuly, které mají příslušné funkční skupiny pro konjugaci, mohou být buď identické nebo mohou být různých, dvou nebo více, tj. "x", druhů, a molekuly zesilovače mohou být konjugovány:
 - přímo a/nebo
 - nepřímo spojovací molekulou,

a dále výskyt napojení [(k)Mx] a [(i)Mx] ve stejném polykationtovém biokonjugátu je symbolizován [(k/i)Mx].

2. Polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I vyrobené podle nároku 1, vyznačující se tím, že v molekulách isopolypeptidového polykation-

tového nosiče existují monomery se stejnou konfigurací, tj. buď D- nebo L, a jednotlivé monomery nejsou spolu navázány svými jejich aminovými skupinami v α -polohách, ale aminovými skupinami v jiných, tj. v β -, γ -, δ -, ε - atd., polohách - podle hodnoty "m" - a tedy molekuly isopolypeptidového polykationtového nosiče, zde dále molekuly nosiče, které mají volnou α -aminovou skupinu, jsou sloučeniny obecného vzorce I/a



(volná α -aminová skupina)

v němž

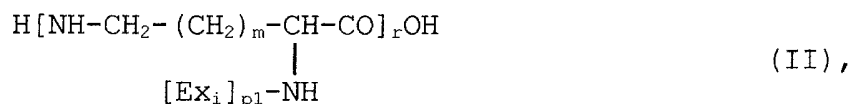
"r" a "m" znamenají stejně jako v obecném vzorci I.

3. Molekuly nosiče obecného vzorce I/a vyrobené podle nároku 2, v y z n a č u j í c í s e t í m, že jejich struktura se odlišuje od polypeptidů vystavěných obvyklými α -amino-peptidovými vazbami, normálně se vyskytujícími v savčím organismu, a díky jejich odlišné chemické struktuře, například ε -amino-peptidovými vazbami, vykazují také odlišné biologické vlastnosti.
4. Molekuly nosiče obecného vzorce I/a podle nároku 3, v y z n a č u j í c í s e t í m, že jsou odolnější vůči proteolytickým enzymům a jsou tedy zvláště výhodně aplikovatelné při transportu účinných látek různých typů v savčím organismu, tj. pro dosažení jejich funkcí nosiče.
5. Polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I připravené podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m, že vhodně vybrané [(k)Mx] a/nebo [(i)Mx] molekuly, které mohou být identické nebo mohou být různých, dvou nebo více, tj. "x", druhů, jsou konjugovány s daným představitelem molekul nosiče obecného vzorce I/a kovalentními a/nebo iontovými vazbami.

6. Polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I připravené podle nároku 5, vyznačující se tím, že konjugace molekul [(k)Mx] a/nebo [(i)Mx] molekul s daným představitelem molekul nosiče obecného vzorce I/a kovalentními a/nebo iontovými chemickými vazbami probíhá přímo a/nebo nepřímo v definovaném poměru, s výhodou tak, aby se dosáhlo nasycení 10 až 100 %.
7. Polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I připravené podle nároku 1, vyznačující se tím, že zahrnují ty biokonjugáty, v nichž daný představitel molekul nosiče obecného vzorce I/a je přímo konjugován kovalentními vazbami s [Ex_i] molekulami zesilovače, které mohou být buď identické nebo mohou být různých, dvou nebo více, tj. "x", druhů, v těchto biokonjugátech

$$[(k)Mx] = [Ex_i]_{p_1},$$

a polykationtové biokonjugáty jsou popsány obecným vzorcem II

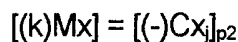


v němž

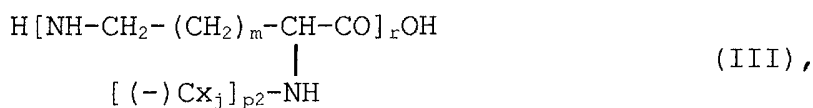
- "Ex" v [Ex_i]_{p₁} znamená Ex molekul zesilovače různého, "x", druhu konjugovaných přímo s daným představitelem molekul nosiče obecného vzorce I/a kovalentními vazbami,
- "i" znamená vto, jestli Ex molekul zesilovače konjugovaných s danou molekulou nosiče kovalentními vazbami je identických, i = 1, nebo jestli jsou různého druhu počtu "i", kde i = 2, 3, ... "x" druhů,
- "p₁" označuje stupeň nasycenosti v % molekuly nosiče obecného vzorce I/a s [Ex_i] molekulami zesilovače, jehož hodnota je > 0 a ≤ 100, přičemž je stanoven poměr mezi volnými, nezahrnutými v chemických vazbách, a vázanými NH₂-skupinami, který dále ovlivňuje náboj a kationtový charakter polykationtových biokonjugátů, a

"r" a "m" znamenají stejně jako v obecném vzorci I.

8. Molekuly nosiče obecného vzorce I/a připravené podle nároku 2, v y z n a č u - j í c í s e t í m, že jejich daný představitel je konjugován kovalentními vazbami s $[(-)C_x]$ spojovacími molekulami aniontového charakteru, které mohou být buď identické nebo mohou být různých, dvou nebo více, tj. "x", druhů, a tyto spojovací molekuly znamenají vhodně vybrané prodlužující řetězce dikarboxylových kyselin, trikarboxylových kyselin, sacharidů, aminokyselin nebo peptidů, v těchto sloučeninách



a tyto konjugáty jsou popsány obecným vzorcem III



v němž

"(-)Cx" $[(-)C_x]_{p2}$ znamená (-)Cx spojovacích molekul výlučně aniontového charakteru různých, "x", druhů navázaných s daným představitelem molekul nosiče obecného vzorce I/a kovalentními vazbami,

"j" znamená to, jestli (-)Cx spojovacích molekul, konjugovaných s danou molekulou nosiče molekulou kovalentními vazbami je identických, $i = 1$, nebo jestli jsou různého druhu počtu "i", kde $i = 2, 3, \dots$ "x" druhů,

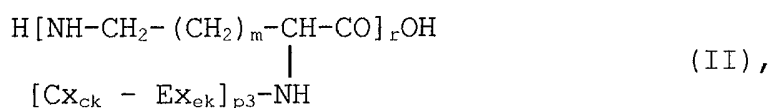
"p₂" označuje stupeň nasycenosti v % molekul nosiče obecného vzorce I/a $[(-)C_x]$ spojovacími molekulami výlučně aniontového charakteru, jehož hodnota je > 0 a ≤ 100 , přičemž je stanoven poměr mezi volnými, nezahmutými v chemických vazbách, a vázanými NH₂-skupinami, který dále ovlivňuje náboj a kationtový charakter polykationtových biokonjugátů, a

"r" a "m" znamenají stejně jako v obecném vzorci I.

9. Polykationtové biokonjugáty obecného vzorce III podle nároku 8, v y z n a č u - j í c í s e t í m, že molekuly nosiče obecného vzorce I/a kationtového charakteru, díky konjugaci $[(-)Cx_i]$ spojovacích molekul aniontového charakteru s nimi kovalentními vazbami se stávají schopné vytvořit takové polykationtové biokonjugáty, v nichž existují další možnosti získat iontové vazby s molekulami zesilovače kationtového charakteru.
10. Polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I podle nároku 1, v y z n a č u - j í c í s e t í m, že zahrnují ty biokonjugáty, v nichž daný představitel molekul nosiče obecného vzorce I/a je nepřímo konjugován s Ex molekulami zesilovače, které mohou být buď identické nebo mohou být různých, dvou nebo více, tj. "x", druhů, prostřednictvím Cx spojovacích molekul, které také být buď identické nebo mohou být různých, dvou nebo více, tj. "x", druhů, v těchto biokonjugátech jak chemické vazby mezi molekulou nosiče a Cx tak mezi Cx a Ex jsou kovalentní, v těchto biokonjugátech

$$[(k)Mx] = [Cx_{ck} - Ex_{ek}]_{p3}$$

a polykationtové biokonjugáty jsou popsány obecným vzorcem IV



v němž

"Cx-Ex" v $[Cx_{ck} - Ex_{ek}]_{p3}$ znamená Ex molekul zesilovače různého, "x", druhu konjugovaných kovalentními vazbami nepřímo Cx spojovacími molekulami různého, "x", druhu, které jsou také konjugovány kovalentními vazbami s daným představitelem molekul nosiče obecného vzorce I/a ,

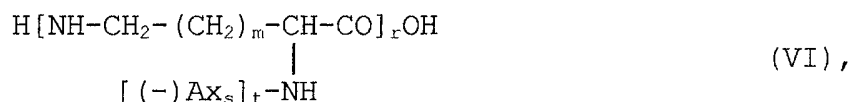
- "ck" znamená to, jestli Cx spojovacích molekul konjugovaných s danou molekulou nosiče kovalentními vazbami je identických, ck = 1, nebo jestli jsou různého druhu počtu "ck", kde ck = 2, 3, ... "x" druhů,
- "ek" znamená to, jestli Ex molekul zesilovače konjugovaných s danou molekulou nosiče nepřímo Cx spojovacími molekulami kovalentními vazbami je identických, ek = 1, nebo jestli jsou různého druhu počtu "ek", kde ek = 2, 3, ... "x" druhů,
- "p₃" označuje stupeň nasycenosti v % molekul nosiče [Ex_{ck}] molekulami zesilovače kondenzovanými s [Cx_{ck}] spojovacími molekulami, jehož hodnota je > 0 a ≤ 100, přičemž je stanoven poměr mezi volnými, nezahmutými v chemických vazbách, a vázanými NH₂-skupinami, který dále ovlivňuje náboj a kationtový charakter polykationtových biokonjugátů, a dále
- "r" a "m" znamenají stejně jako v obecném vzorci I.

11. Konjugáty obecného vzorce III podle nároku 8, v y z n a č u j í c í s e t í m, že [(-)Cx_j] spojovacích molekul různého, "x", druhu, vyskytujících se v nich jsou vhodně vybrané prodlužující řetězce dikarboxylových kyselin, trikarboxylových kyselin, sacharidů, aminokyselin nebo peptidů.
12. Polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnují ty biokonjugáty, v nichž daný představitel molekul nosiče obecného vzorce I/a je konjugován kovalentními vazbami
 - a) [Ex_j] molekulami zesilovače a/nebo
 - b) [(-)Cx_j] spojovacími molekulami aniontového charakteru a/nebo
 - c) [Cx_{ck} - Ex_{ek}] nepřímo kondenzovanými molekulami nosiče,
 které mohou být buď identické jendoho druhu nebo mohou být různých, dvou nebo více, tj. "x", druhů, s tím, že z [Ex_j] a/nebo [(-)Cx_j] a/nebo [Cx_{ck} - Ex_{ek}] typů molekul alespoň dvě jsou obsaženy v biokonjugátu, v těchto biokonjugátech:

13. Polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I podle nároku 1, v y z n a č u -
j í c í s e t í m, že zahrnují ty biokonjugáty, v nichž daný představitel molekul
nosiče obecného vzorce I/a je přímo konjugován výlučně iontovými vazbami s
(-)Ax molekulami zesilovače aniontového charakteru, které mohou být buď
identické nebo mohou být různých, dvou nebo více, tj. "x", druhů, v těchto bio-
konjugátech

$$[(i)Mx] = [(-)Ax_s]_t$$

a takto získané polykationtové biokonjugáty mohou být popsány obecným vzorcem VI



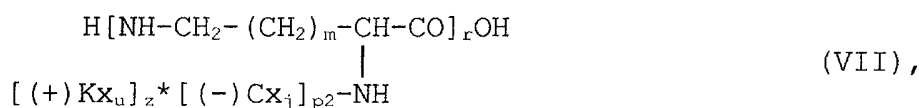
v němž

- "(-)Ax" v $[(i)Ax_s]_t$ znamená (-)Ax molekul zesilovače aniontového charakteru, které mohou být identické nebo mohou být různých, dvou nebo více, tj. "x", druhů, které jsou konjugovány s daným představitelem molekul nosiče obecného vzorce I/a iontovými vazbami,
- "s" znamená, jestli aniontové/polyaniontové molekuly konjugované s danou molekulou polykationtového nosiče iontovými vazbami jsou identické, $s = 1$, nebo jestli jsou různého druhu počtu "s", kde $s = 2, 3, \dots$ "x" druhů,
- "t" označuje stupeň nasycenosti v % daného představitele molekuly nosiče obecného vzorce I/a (-)Ax anionty, jehož hodnota je > 0 a ≤ 100 , přičemž je stanoven poměr mezi volnými, nezahrnutými v chemických vazbách, a vázanými NH_2 -skupinami, který dále ovlivňuje náboj a kationtový charakter polykationtových biokonjugátů, a
- "r" a "m" znamenají stejně jako v obecném vzorci I.

14. Polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I podle nároku 1, v y z n a č u - j í c í s e t í m, že zahrnují konjugáty obecného vzorce III, připravené podle nároku 8, a ty jsou konjugovány s $(+)Kx$ molekulami zesilovače kationtového charakteru, které mohou být buď jednoho druhu nebo, dvou nebo více, tj. "x", různých druhů, iontovými vazbami $(-)Cx$ spojovacích molekul aniontového charakteru, v těchto biokonjugátech

$$[(k/i)Mx] = [(-)Cx_j]_{p2} * [(+)Kx_u]_z$$

a polykationtové biokonjugáty jsou popsány obecným vzorcem VII



v němž

"(+)"Kx" v $[(+)Kx_u]_z$ znamená (+)Kx molekul zesilovače kationtového charakteru, které mohou být stejné nebo různých, dvou nebo více, tj. "x", druhů, které jsou konjugovány s daným představitelem konjugátů obecného vzorce III,

"u" znamená to, jestli kationty/polykationty konjugované s danou sloučeninou obecného vzorce III iontovými vazbami jsou identické, u = 1, nebo jestli jsou různého druhu počtu "u", kde u = 2, 3, ..., t.j. "x", druhů,

"z" znamená stupeň nasycenosti v % daného představitele sloučenin obecného vzorce III $[(+)Kx_u]$ kationty, jehož hodnota je > 0 a ≤ 100 , přičemž je stanoven poměr mezi volnými, nezahmutými v chemických vazbách, a vázanými NH_2 -skupinami, který dále ovlivňuje náboj a kationtový charakter polykationtových biokonjugátů, a jelikož $[(+)Kx_u]$ molekul kationtového charakteru může být výlučně konjugováno $[(-)Cx_j]$ spojovacími molekulami aniontového charakteru se sloučeninami obecného vzorce III,

"p₂" = "z", a dále

" $[(-)Cx_j]_{p2}$ " znamená stejně jako v obecném vzorci III a

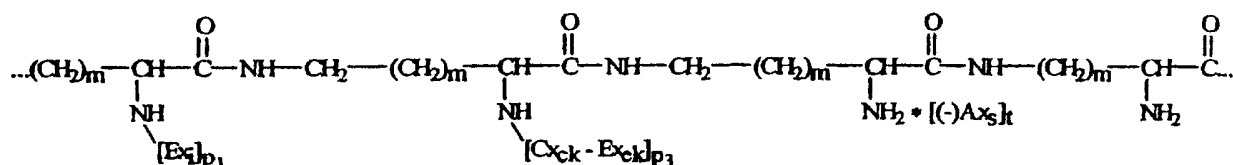
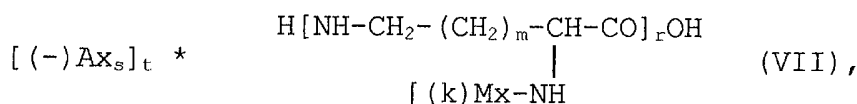
"r" a "m" znamenají stejně jako v obecném vzorci I.

15. Polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I podle nároku 1, v y z n a č u - j í c í s e t í m, že zahmují ty biokonjugáty, v nichž s volnými α -aminoskupinami daného představitele polykationtových biokonjugátů obecného vzorce VII, připravené podle nároku 14, jako s polykationtem, jsou konjugovány další

$$[(k/i)Mx] = [Ex_{i}]_{pi} * [(-)Ax_{s}]_t \text{ nebo } [Cx_{ck}-Ex_{ek}]_{p3} * [(-)Ax_{s}]_t$$

$$\text{nebo } * [Ex_{i}]_{pi} + [Cx_{ck}-Ex_{ek}]_{p3} * [(-)Ax_{s}]_t$$

a polykationtové biokonjugáty jsou popsány obecným vzorcem IX nebo schematickým obecným vzorcem IX/a



(IX/a)

v němž

"[(-)Ax_s]_t" znamená shodně jako v obecném vzorci VI,

"[Ex_i]_{p₁}" znamená shodně jako v obecném vzorci II,

"[Cx_{ck}-Ex_{ek}]_{p₃}" znamená shodně jako v obecném vzorci IV,

"[(k)Mx]" a "m" znamenají shodně jako v obecném vzorci I,

"p₁"+"p₂"+"t" je větší než nula nebo ≤ 100 a dále z

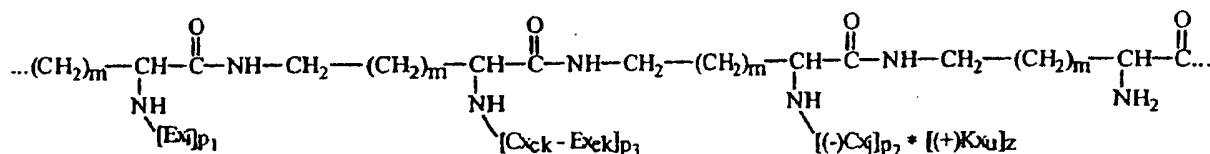
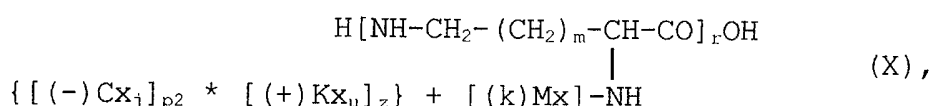
"p₁" a "p₃" alespoň jeden má hodnotu > 0 a

"t" > 0.

17. Polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I podle nároku 1, vyznačující se tím, že zahrnují ty biokonjugáty, které odpovídají polykationtovým biokonjugátům obecného schematického obecného vzorce V, připraveným podle nároku 12, včetně dalších těchto biokonjugátů, v nichž existují tyto spojovací molekuly aniontového charakteru [(-)Cx_j], které mohou být buď identické nebo mohou být různých, dvou nebo více "x" druhů, a tyto spojovací molekuly se konjugují s iontovými vazbami molekul zesilovače kationtového charakteru [(+)Kx_u], které mohou být buď identické nebo mohou být různých, dvou nebo více, tj. "x", druhů, v těchto biokonjugátech:

$$[(k/i)Mx] = [Ex]_{pi} + \{[(-)Cx]_{p2} * [(+)Kx_u]_z\} \text{ nebo } \\ [Cx_{ck}-Ex_{ek}]_{p3} + \{[(-)Cx]_{p2} * [(+)Kx_u]_z\} \text{ nebo } \\ [Ex]_{pi} + [Cx_{ck}-Ex_{ek}]_{p3} + \{[(-)Cx]_{p2} * [(+)Kx_u]_z\}$$

a polykationtové biokonjugáty jsou popsány obecným vzorcem X nebo schematickým obecným vzorcem X/a

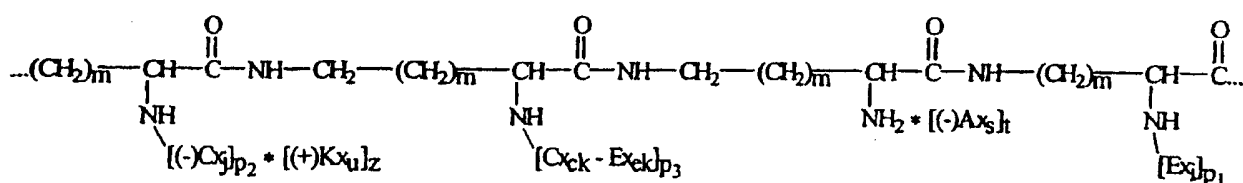
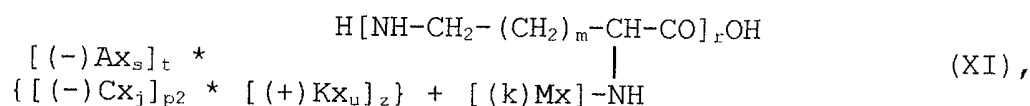


(X/a) .

18. Polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I podle nároku 1, v y z n a č u - j í c í s e t í m, že zahrnují ty biokonjugáty, v nichž s volnými α -amino-skupinami daného představitele polykationtových biokonjugátů obecného vzorce X nebo schematického obecného vzorce X/a, připravené podle nároku 17, jako polykationem, jsou konjugovány iontovými vazbami další molekuly zesilovače aniontového charakteru $[(-)Ax_s]$, které mohou buď být identické nebo mohou být různých, dvou nebo více, tj. "x", druhů, v těchto biokonjugátech:

$$[(k/i)Mx] = [Ex]_{pi} + \{[(-)Cx]_{p2} * [(+)Kx_u]_z\} * [(-)Ax_s]_t \text{ nebo } \\ [Cx_{ck}-Ex_{ek}]_{p3} + \{[(-)Cx]_{p2} * [(+)Kx_u]_z\} * [(-)Ax_s]_t \text{ nebo } \\ [Ex]_{pi} + [Cx_{ck}-Ex_{ek}]_{p3} + \{[(-)Cx]_{p2} * [(+)Kx_u]_z\} * [(-)Ax_s]_t$$

a polykationtové biokonjugáty jsou popsány obecným vzorcem XI nebo schematickým obecným vzorcem XI/a



(XIa)

19. Molekuly nosiče obecného vzorce I/a připravené podle nároku 2, které mají volné α -aminové skupiny, vyznačují se tím, že zahrnují hydrobromidové soli 60 až 120členných neracemických polyiso-L-lysinů, tj. hydrobromidů poly-(ϵ)-L-lysinu, které samy mají jisté protinádorové, antiproliferační a protivirové účinky.
20. Molekuly nosiče obecného vzorce I/a podle nároku 19, vyznačují se tím, že zvyšují antiproliferační a protivirové účinky molekul, které jsou na ně navázány.
21. Polykationtové biokonjugáty podle nároku 1, vyznačují se tím, že v případě molekul zesilovače konjugovaných s vhodnou vybranou molekulou nosiče obecného vzorce I/a samotné nemají očekávanou (např. antiproliferační) aktivitu, potom jako důsledek jejich konjugace zesílí původně existující biologická aktivita molekuly nosiče, například ty, které byly vyrobeny podle nároku 19.
22. Polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I připravené podle nároku 1, vyznačují se tím, že každý z nich obsahuje molekuly nosiče o-

obecného vzorce I/a a tyto vhodně zvolené molekuly nosiče jsou konjugovány způsobem, jak je uvedeno v obecných vzorcích II, III, IV, VI, VII, IX, X a XI nebo na schematických vzorcích V, VIII, IX/a, X/a a XII/a podle nároků 7, 8, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17 a 18, s prakticky žádnou organickou a/nebo anorganickou molekulou, která má funkční skupiny vhodné pro konjugaci, a tyto posledně uvedené mohou být racionálně vybrány - neomezujícím způsobem - ze skupin sloučenin, které jsou zde níže uvedeny:

- hormonů a antagonistů hormonů různého druhu (steroidů, proteinů, peptidů atd.) a aktivních fragmentů peptidových hormonů a jejich derivátů,
- nasycených a nenasycených mastných kyselin, cholesterolů, fosfolipidů (fosfoglyceridů, sfingomyelinů atd.) a jejich derivátů,
- nukleových kyselin/antimediátorových nukleotidů,
- monosacharidů, oligosacharidů a polysacharidů a jejich derivátů,
- vitaminů a jejich derivátů,
- známých protinádorových léčiv a aktivních látek a jejich derivátů a
- aminokyselin, oligopeptidů, polypeptidů, dalších glykoproteinů a lipoproteinů, jejich fragmentů a jejich derivátů.

23. Polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I připravené podle nároku 1, vyznačující se tím, že každý z nich obsahuje molekuly nosiče obecného vzorce Ia, které jsou konjugovány přímo a/nebo nepřímo kovalentní a/nebo iontovou vazbou s molekulami zesilovače, které mají přímý antiproliferační účinek, které mohou být buď identické nebo mohou být, dvou nebo více, tj. "x", různých druhů, a tyto polykationtové biokonjugáty jsou úspěšně aplikovatelné při léčení maligních nádorů vyskytujících se v organismech savců samotné, nebo v kombinaci se známými protinádorovými způsoby, přijatými v klinické praxi.
24. Polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I podle nároku 23, vyznačující se tím, že každý z nich obsahuje molekuly nosiče obecného vzorce

I/a, které jsou konjugovány s dalšími molekulami zesilovače, které mají nepřímý antiproliferační účinek, kterým je vyvinutá selektivita nebo zvýšená selektivita biokonjugátů na danou cílovou nádorovou buňku, při čemž zvyšují koncentraci biokonjugátů v nádorech a tak lze zmenšit nechtěné vedlejší účinky a účinnost léčení může být dále zvýšena.

25. Polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I podle nároků 23 a 24, v y - z n a č u j í s e t í m, že pro to, aby měly protinádorový účinek se daného představitele molekuly nosiče obecného vzorce I/a konjugují se sloučeninami vhodně vybranými z molekul, které mají přímou a/nebo nepřímou antiproliferační aktivitu, jak je zde neomezuujícími příklady ukázáno níže:

- sloučeniny, které mají antiproliferační účinky: cytostatika používaná v klinické praxi, dále cytokiny, které ovlivňují dělení a diferenciaci nádorových buněk (např. různé růstové faktory stejně jako protilátky produkované proti nim, interferony atd.), dále peptidy/proteiny inhibující tvorbu nových krevních cév kolem nádorových buněk (angiostatiny, endostatiny), další nukleové kyseliny/antimediátorové oligonukleotidy, které vykazují antiproliferační účinky na maligně transformované buňky,
- sloučeniny s nepřímým antiproliferačním účinkem, které vyvíjejí selektivitu nebo zvyšují selektivitu biokonjugátů na danou cílovou buňku: monoklonální protilátky, které mají specifické afinity na povrchový antigen dané nádorové buňky, stejně jako protilátky nebo jakékoliv sloučeniny, které mají afinitu na tyto druhy receptorů (například transferinový receptor nebo folátový receptor mezi vitaminy atd.), které jsou přítomny ve větším poměru na povrchu nádorových buněk než na povrchu normálních (nemaligně transformovaných) buněk,
- sloučeniny, které mají přímé a současně nepřímé antiproliferační účinky: hormony, antagonisté hormonů a jejich deriváty, zvláště polypeptidové hormony a lidský choriogonadotropinový hormon, které mají antiproliferační účinky, dále protilátky produkované proti receptorům růstových faktorů různého druhu, které jsou přítomny ve větším poměru na

povrchu nádorové buňky než na povrchu jiných buněk, a současně vykazují antiproliferační účinky na dané maligně transformované buňky, a dále imunotoxiny, které jsou produkovány proti dané nádorové buňce.

26. Polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I podle nároku 1, v y z n a č u - j í c í s e t í m, že na vhodně vybraného daného představitele molekul nosiče obecného vzorce I/a, jako na polykation, je iontovou vazbou navázána vhodně vybraná nukleová kyselina, která znamená polyanion, a takto syntetizovaný nový konjugát je vhodný pro přenos genu.
27. Polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I podle nároku 26, v y z n a č u - j í c í s e t í m, že kromě nukleové kyseliny kondenzované iontovými vazbami s daným představitelem sestávajícím z molekul nosiče obecného vzorce I/a, další molekuly, které mohou být buď identické nebo mohou být dvou nebo více "x" různých druhů, schopné navázání selektivně a/nebo semiselektivně na cílové buňky vybrané pro přenos genu, jako jsou specifické protilátky, hormony a molekuly vázající se pouze na receptory na povrchu cílových buněk, které se například vyskytují - díky nepatologickým změnám - výlučně na některých typech buněk, konkrétně asialoglykoproteinový receptor na játemích buňkách (na který se specificky navazují galaktosové zbytky v koncové poloze na makromolekulách) nebo ty molekuly, které se vážou na receptory, které se vyskytují častěji (ve více %) na daných cílových buňkách, jsou konjugovány kovalentními a/nebo iontovými vazbami, při čemž přenos cílového genu na buněčné úrovni se dosahuje těmito novými konjugáty.
28. Polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I podle nároku 26 a nároku 27, v y z n a č u j í c í s e t í m, že biokonjugáty, které jsou příslušné pro přenos genu, sestávající z vhodně izolovaných nebo syntetizovaných nukleových kyselin, komplexovaných antimediatorových oligonukleotidů, vykazují antiproliferační, antimikrobiální účinek, při čemž například se dosahuje inhibice virové

replikace, jsou dále schopny léčit genetická onemocnění, např. cystickou fibrózu.

29. Polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I podle nároku 1, v y z n a č u - j í c í s e t í m, že s vhodně vybranými danými representatnty sestávajícími z molekul nosiče obecného vzorce I/a, které samy mají jistou protivirovou aktivitu, se konjugují sloučeniny, které mají antimikrobiální účinky, např. protivirové, antibakteriální, antimykotické, antiprotozoální sloučeniny používané v klinické praxi, dále komplexní antimediatorové nukleové kyseliny inhibující replikaci virů, protilátky s neutralizujícím účinkem, při čemž se zvýší antimikrobiální účinek konjugovaných molekul.
30. Polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I podle nároku 29, v y z n a č u - j í c í s e t í m, že kromě sloučenin s antimikrobiální aktivitou, konjugovaných s daným představitelem molekul nosiče obecného vzorce I/a, jsou konjugovány další molekuly, které mohou být identické nebo mohou být dvou nebo více "x" různých druhů, schopné vázat se selektivně na mikroby, jako specifické protilátky, které se na ně vážou, při čemž se dále zvyšuje antimikrobiální účinek.
31. Polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I podle nároku 1, v y z n a č u - j í c í s e t í m, že daný představitel molekul nosiče obecného vzorce I/a, paramagnetický kontrastní materiál, například komplexní deriváty gadolinia, je konjugován pomocí chemických vazeb, přičemž se zlepší diagnostická hodnota zobrazení nukleární magnetickou resonancí, NMR, při srovnání se zobrazením pomocí nekonjugovaného paramagnetického kontrastního materiálu.
32. Polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I podle nároku 31, v y z n a č u - j í c í s e t í m, že kromě molekul paramagnetického kontrastního materiálu konjugovaného s daným představitelem zahrnujícím molekuly nosiče obecného vzorce I/a, dále zahrnují také vhodně vybrané molekuly, které mohou být

identické nebo mohou být dvou nebo více "x" různých druhů, také konjugované, které jsou schopny být selektivně obohaceny v orgánech, tkáních nebo v patologických změnách, např. nádorech, které jsou zkoumány, a zvýšení jejich relativní koncentrace v dané cílové oblasti dále zlepšuje kvalitu zobrazení.

33. Polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I podle nároků 31 a 32, vyznačující se tím, že molekuly zvyšující selektivitu, které jsou konjugovány s daným představitelem molekul nosiče obecného vzorce I/a, zahrnují protilátky, vázající se specificky na cílovou oblast, která má být zkoumána NMR, nebo závisející na povaze cílové oblasti, kterými jsou také lipofilní nebo hydrofilní látky.
34. Polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I podle nároku 1, vyznačující se tím, že jsou zaváděny do cílového organismu transdermálním způsobem iontoforézou.
35. Polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I podle nároku 1, vyznačující se tím, že jsou schopny být příslušně zahrnuty do liposomů.
36. Polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I podle nároku 1, vyznačující se tím, že regulační účinek molekul, které modifikují imunitní odpověď, například lymfokinů (interleukinů, interferonů atd.), které jsou konjugovány s daným představitelem molekul nosiče obecného vzorce I/a, jako složka shora uvedených polykationtových biokonjugátů, je vhodnější pro plné zobrazení.
37. Polykationtové biokonjugáty obecného vzorce I podle nároku 1, vyznačující se tím, že se sestavují na farmaceuticky přijatelné formy a takto získané farmaceutické přípravky se aplikují perorálně, parenterálně nebo transdermálně při systémovém nebo místním použití.

Zastupuje: