

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
3. April 2003 (03.04.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 03/026617 A2

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **A61K 9/127**

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP02/10653

(22) Internationales Anmeldedatum:
27. September 2002 (27.09.2002)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
101 48 065.2 28. September 2001 (28.09.2001) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US): **MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR
FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTEN E.V.**
[DE/DE]; Hofgartenstrasse 8, 80539 München (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **EIBL, Jörg** [DE/DE];
Heinrich-Deppe-Ring 22, 37120 Bovenden (DE).

(74) Anwalt: **WEICKMANN & WEICKMANN**; Postfach
860 820, 81635 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU,
SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,
DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT,
SE, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,
GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Erklärung gemäß Regel 4.17:

— *Erfindererklärung (Regel 4.17 Ziffer iv) nur für US*

Veröffentlicht:

— *ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu
veröffentlichen nach Erhalt des Berichts*

*Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.*

(54) Title: (ESTER)-LYSOLECITHINS IN LIPOSOMES

(54) Bezeichnung: (ESTER)-LYSOLECITHINE IN LIPOSOMEN

(57) Abstract: The present invention relates to novel liposome preparations, containing (ester)-lysolecithin compounds. Said liposomes are particularly suitable for the packaging of active ingredients.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft neue Liposomzubereitungen, welche (Ester)-Lysolecithinverbindungen enthalten. Die Liposomen sind insbesondere zur Verpackung von Wirkstoffen geeignet.



WO 03/026617 A2

(Ester)-Lysolecithine in Liposomen

Beschreibung

5

Die vorliegende Erfindung betrifft neue Liposomzubereitungen, welche (Ester)Lysolecithinverbindungen enthalten. Die Liposomen sind insbesondere zur Verpackung von Wirkstoffen geeignet.

10

Zahlreiche Wirkstoffe, die an sich eine gute Wirksamkeit gegenüber verschiedensten Erkrankungen aufweisen, können in der Praxis nicht oder nur bedingt eingesetzt werden. Dies beruht oftmals darauf, dass Verbindungen eine schlechte Löslichkeit in wässrigen Lösungen aufweisen, was sie für eine intravenöse (I.V.) Verabreichung oder auch für eine orale Verabreichung in Form von Trinklösungen ungeeignet macht. Weiterhin werden viele pharmazeutisch wirksame Verbindungen bei oraler Verabreichung im Körper oftmals nur schlecht oder überhaupt nicht resorbiert. Weiterhin weisen viele pharmazeutisch wirksame Verbindungen bei Verabreichung in freier Form, insbesondere bei systemischer Verabreichung beträchtliche Nebenwirkungen auf, sodass sie nicht über längere Zeit oder/und in hohen Dosen verabreicht werden können.

15

20

Es wurden deshalb zahlreiche Versuche unternommen, Wirkstoffe in geeigneter Form zu "verpacken", um die oben genannten Nachteile zu überwinden. Eine häufig verwendete Verpackungsmethode ist dabei die Verwendung von Liposomen.

25

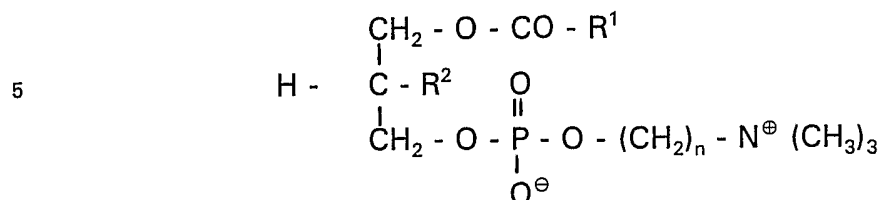
30

Trotzdem besteht, insbesondere auch aufgrund der Vielfältigkeit der einzukapselnden Wirkstoffe sowie der möglichen Verabreichungswege weiterhin ein großer Bedarf an Verpackungssystemen für therapeutisch wirksame Wirkstoffe.

- 2 -

Die Erfindung betrifft deshalb ein Liposom enthaltend

- a) 10 bis 50 Mol-% (Ester)-Lysolecithin der Formel I



in der

R^1 ein Kohlenwasserstoffrest mit 13 bis 23 C-Atomen ist,

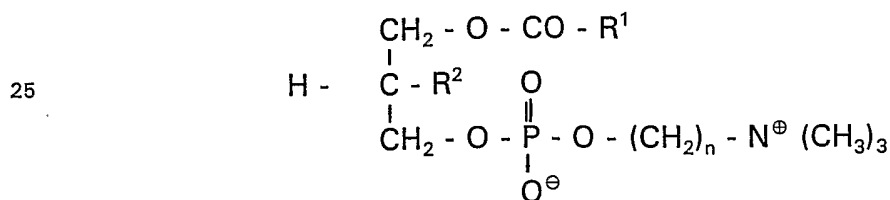
R^2 H, OH oder OR^3 darstellt, worin R^3 ein C_1 - C_3 -Alkyl- oder ein Allylrest ist, und

n 2, 3 oder 4 bedeutet

- b) 10 bis 50 Mol-% Cholesterin,
 c) 10 bis 50 Mol-% Lecithin und
 d) 5 bis 25 Mol-% eines negativen Ladungsträgers, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Phosphatidylmono-, -di-, -tri- und -tetraglycerinen und Cholesterinphosphomono- und -oligoglycerinen.

Die Erfindung betrifft deshalb ein Liposom enthaltend

- a) 10 bis 90 Mol-%, insbesondere 10 bis 50 Mol-% (Ester)-Lysolecithin der Formel I



in der

R^1 ein Kohlenwasserstoffrest mit 13 bis 23 C-Atomen ist,

R^2 H, OH oder OR^3 darstellt, worin R^3 ein C_1 - C_3 -Alkyl- oder ein Allylrest ist, und

n 2, 3 oder 4 bedeutet

- 3 -

- b) 0 bis 60 Mol-%, insbesondere 10 bis 50 Mol-% Cholesterin,
- c) 0 bis 50 Mol-%, insbesondere 10 bis 50 Mol-% Lecithin und
- d) 3 bis 50 Mol-%, insbesondere 5 bis 25 Mol-% eines negativen Ladungsträgers, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Phosphatidylmono-, -di-, -tri- und -tetraglycerinen, Cholesterinphosphomono- und -oligoglycerinen, Alkylphosphoglycerinen, Alkylphosphooligoglycerinen, Alkylphosphoglycolen, Alkylphosphopropandiolen-(1.3) oder/und Alkylphosphopropandiolen-(1.2).

Überraschenderweise wurde festgestellt, dass die erfindungsgemäßen Liposome mit der angegebenen Zusammensetzung hervorragende Eigenschaften als Wirkstoffträger aufweisen. Insbesondere konnte festgestellt werden, dass in den erfindungsgemäßen Liposomen verpackte Wirkstoffe eine deutlich überlegene Wirksamkeit gegenüber den entsprechenden freien Wirkstoffen aufweisen.

Weiterhin ist es möglich, verschiedenste Wirkstoffe auf einfache Weise, z.B. durch einfaches Zugeben oder Zumischen, in die erfindungsgemäßen Liposome einzubringen. Oftmals genügt einfaches Rühren zur Bildung von Liposomen mit eingekapseltem Wirkstoff, sodass drastische Verfahrensmaßnahmen nicht nötig sind. Weiterhin können die erfindungsgemäßen Liposome sterilfiltriert werden, z.B. durch Filter mit Porengrößen von 0,8 μm , 0,45 μm oder 0,2 μm . Die erfindungsgemäßen Liposome, insbesondere solche, die als Bestandteil c) ein Cholesterinphosphomono- oder -oligoglycerin enthalten, können auch hitzesterilisiert werden, insbesondere bei Temperaturen $> 70\text{ }^{\circ}\text{C}$, $> 80\text{ }^{\circ}\text{C}$, $> 90\text{ }^{\circ}\text{C}$ und bevorzugt $> 95\text{ }^{\circ}\text{C}$. Die erfindungsgemäßen Liposome sind also hitzestabil. Sie sind weiterhin auch über einen großen pH-Bereich, z.B. von pH 3 bis pH 9, bevorzugt von pH 2 bis pH 10 stabil.

- Die erfindungsgemäßen Liposome enthalten als Komponente a) ein Ester-Lysolecithin. Als Lysolecithine werden hierin auch Verbindungen bezeichnet, die keine freie OH-Gruppe aufweisen, sondern einen kurzkettigen, an den Sauerstoff gebundenen Kohlenwasserstoffrest, insbesondere einen C₁-C₃-Alkylrest oder Allylrest enthalten, da auch solche Verbindungen Lysolecithin-artige Eigenschaften aufweisen. In der Komponente a) kann der Kohlenwasserstoffrest R¹ 13 bis 23 C-Atome enthalten, bevorzugt sind insbesondere 15 bis 21 und stärker bevorzugt 16 bis 19 C-Atome. Besonders bevorzugt ist R¹ ein Alkylrest, insbesondere ein C₁₃-C₁₉-Alkylrest oder ein Alkenylrest, insbesondere ein C₁₅-C₂₃-Alkenylrest oder ein Alkadienylrest oder Alkatrienylrest, insbesondere ein C₁₅-C₂₃-Alkadienylrest oder C₁₅-C₂₃-Alkatrienylrest. Der Kohlenwasserstoffrest R¹ kann grundsätzlich gesättigt oder einfach oder mehrfach ungesättigt sein. Der Kohlenwasserstoffrest kann weiterhin verzweigt oder linear sein, wobei lineare Kohlenwasserstoffreste bevorzugt sind. Besonders bevorzugt ist R¹ ein Hexadecyl-, Heptadecyl-, Octadecyl-, Nonadecyl-, Eicosyl-, Hexadecenyl-, Heptadecenyl-, Octadecenyl-, Octadecadienyl-, Octadecatrienyl-, Nonadecenyl- oder Eicosenylrest.
- R² in der Formel 1 ist bevorzugt H, OH oder OCH₃, besonders bevorzugt H oder OH.

Der polare Bestandteil der Verbindungen der Formel I besteht bevorzugt aus Phosphocholin (PC), d.h. n ist bevorzugt = 2.

Die Menge an Ester-Lysolecithinverbindung der Formel I in den erfindungsgemäßen Liposomen beträgt 10 bis 50 Mol-%, bevorzugt 20 bis 45 Mol-% und am meisten bevorzugt 25 bis 40 Mol-%.

Die Menge an Ester-Lysolecithinverbindung der Formel I in den erfindungsgemäßen Liposomen beträgt 10 bis 90 Mol-%, insbesondere 15 bis 90

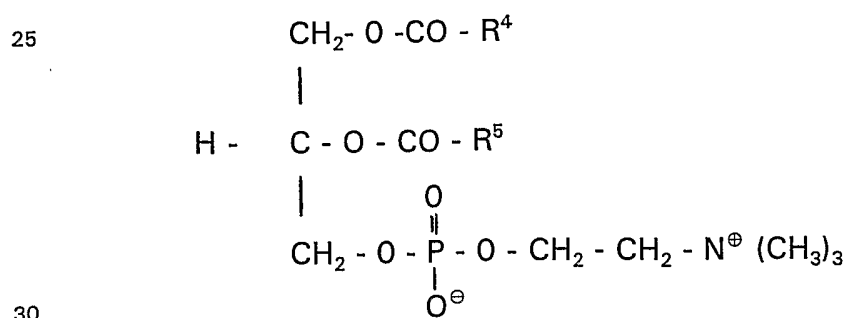
Mol-%, bevorzugt 10 bis 50 Mol-%, mehr bevorzugt 20 bis 45 Mol-% und am meisten bevorzugt 25 bis 40 Mol-%.

Als weiteren Bestandteil enthalten die erfindungsgemäßen Liposomen Cholesterin (Bestandteil b)). Unter Cholesterin, wie hierin verwendet, werden Cholesterin selbst sowie Cholesterinderivate verstanden. Geeignete Cholesterinderivate sind beispielsweise Cholesterinologlycerine oder Cholesterinphosphocholin, wobei Cholesterinderivate mit einer hydrophilen Gruppe zur Verbesserung der Löslichkeit in wässrigen Medien bevorzugt sind.

Die Menge an Cholesterin in den erfindungsgemäßen Liposomen beträgt bevorzugt 20 bis 45 Mol-%, insbesondere 25 bis 40 Mol-%.

Die Menge an Cholesterin in den erfindungsgemäßen Liposomen beträgt 0 bis 60 Mol-%, bevorzugt 10 bis 50 Mol-%, mehr bevorzugt 20 bis 45 Mol-%, insbesondere 25 bis 40 Mol-%.

Als weiterer Bestandteil c) enthalten die erfindungsgemäßen Liposome Lecithin. Lecithine sind Glycerophospholipide, die sich aus Fettsäuren, Glycerin, Phosphorsäure und Cholin durch Veresterung bilden. Lecithine werden oftmals auch als Phosphatidylcholine (PC) bezeichnet. Erfindungsgemäß werden bevorzugt Lecithine der Formel



- 6 -

worin R⁴ und R⁵ jeweils unabhängig einen Kohlenwasserstoffrest mit 12 bis 30 C-Atomen, insbesondere mit 14 bis 24 C-Atomen darstellen, eingesetzt. Die Reste R⁴ und R⁵ können linear oder verzweigt und gesättigt oder einfach oder mehrfach ungesättigt sein. Bevorzugt handelt es sich bei den Resten R⁴ und R⁵ um Fettsäurereste.

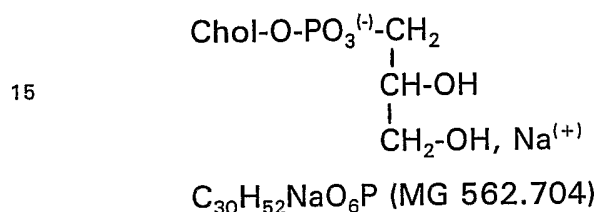
Die Menge an Bestandteil c) in den erfindungsgemäßen Liposomen beträgt bevorzugt 20 bis 45 Mol-%, besonders bevorzugt 25 bis 40 Mol-%.

Die Menge an Bestandteil c) in den erfindungsgemäßen Liposomen beträgt 0 bis 50 Mol-%, insbesondere 0 bis 40 Mol-% oder 10 bis 50 Mol-%, bevorzugt 20 bis 45 Mol-%, besonders bevorzugt 25 bis 40 Mol-%.

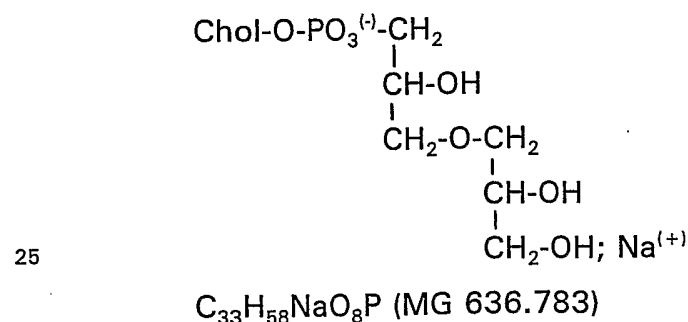
Als weitere Komponente enthalten die erfindungsgemäßen Liposomen schließlich noch einen negativen Ladungsträger. Dieser Ladungsträger wird insbesondere ausgewählt aus Phosphatidylmonoglycerinen und Phosphatidyloligoglycerinen sowie Cholesterinphosphomonomoglycerinen und Cholesterinphosphooligoglycerinen. Die Oligoglycerine weisen dabei bevorzugt 2 bis 4 Glycerinreste auf. Die Phosphatidyloligoglycerine sind, insbesondere in 1-sn- und 2-sn-Position mit Fettsäuren, welche gesättigt oder einfach oder mehrfach ungesättigt sein können und 12 bis 30 C-Atome, insbesondere 14 bis 26 C-Atome aufweisen können, verestert. Bevorzugt sind Phosphatidylglycerine mit Fettsäureresten, die eine cis-Doppelbindung aufweisen. Bevorzugt sind Phosphatidylglycerine, welche mindestens einen Oleylrest enthalten. Bevorzugte solche Verbindungen umfassen Dioleyle-Verbindungen, wie etwa Dioleyle-sn-glycero-3-phosphoglycerin, Dioleyle-sn-glycero-3-phosphodiglycerin, Dioleyle-sn-glycero-3-phosphotriglycerin sowie Dioleyle-sn-glycero-3-phosphotetraglycerin, welche bevorzugt als Na⁺-Salze eingesetzt werden. Es können auch Verbindungen mit zwei verschiedenen Resten, beispielsweise einem Oleylrest und einem Palmitoylrest eingesetzt werden. Die Ladung wird durch die am Phosphat vorhandenen negativen Ladungen begetragen.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform enthalten die erfindungs-
 gemäßen Liposome als Bestandteil d) ein Cholesterinphosphoglycerin oder
 ein Cholesterinphosphooligoglycerin, insbesondere mit 1 bis 4 Glycerin-
 resten. Überraschenderweise wurde festgestellt, dass unter Verwendung
 5 von Cholesterinphosphoglycerinen oder Cholesterinphosphooligoglycerinen
 Liposome erhalten werden können, die hitzestabil sind und somit hitze-
 sterilisiert werden können. Dies stellt einen beträchtlichen Vorteil gegen-
 über vielen anderen Liposomformulierungen dar, insbesondere im Hinblick
 auf eine mögliche intravenöse oder subkutane Verabreichung der Liposome.
 10 Als Cholesterinphosphoglycerinverbindungen besonders bevorzugt sind:

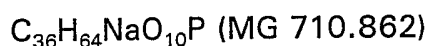
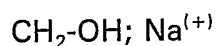
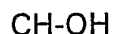
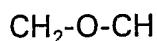
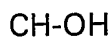
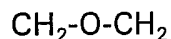
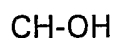
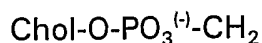
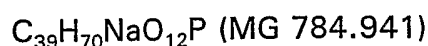
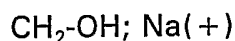
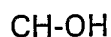
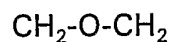
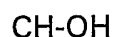
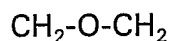
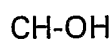
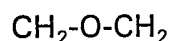
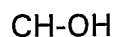
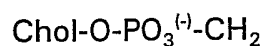
1) Chol-phospho-glycerin, $\text{Na}^{(+)}$ -Salz



20 2) Chol-phospho-diglycerin, $\text{Na}^{(+)}$ -Salz



- 8 -

3) Chol-phospho-triglycerin, $\text{Na}^{(+)}$ -Salz4) Chol-phospho-tetraglycerin, $\text{Na}^{(+)}$ -Salz

Weitere als geeignete Bestandteile d) verwendbare Verbindungen sind Alkylphosphoglycerine, Alkylphosphooligoglycerine, Alkylphosphoglycole, Alkylphosphopropandiole-(1.3) oder/und Alkylphosphopropandiole-(1.2). Die Alkylgruppe davon weist bevorzugt 13 bis 23 C-Atome auf, wobei vorzugsweise die Alkylgruppe der Verbindung der Komponente d) identisch mit der Gruppe R^1 der jeweils eingesetzten Komponente a) ist. Der Bestandteil d) liegt bevorzugt in einer Menge von 3 bis 50 Mol-%, insbesondere 5 bis 25 Mol-%, und mehr bevorzugt von 10 bis 20 Mol-% in den erfindungsgemäßen Liposomen vor.

Der Bestandteil d) liegt bevorzugt in einer Menge von 10 bis 20 Mol-% in den erfindungsgemäßen Liposomen vor.

Die Bestandteile a), b), c) und d), wie oben beschrieben, bilden zusammen
5 bevorzugt 100 Mol-% der im Liposom enthaltenen Bestandteile.

Die wie vorstehend beschrieben zusammengesetzten Liposome weisen keinen eigenen Wirkstoffcharakter auf. Es handelt sich also um neutrale (im Sinne einer pharmazeutischen Wirksamkeit) Liposome, welche als Träger-
10 systeme eingesetzt werden können. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform umfasst die Erfindung deshalb auch Liposome, wie oben beschrieben, welche weiterhin einen pharmazeutischen Wirkstoff in eingekapselter Form oder/und als weiteren Bestandteil der Liposomhülle enthalten. Für die Einkapselung kommt eine sehr breite Wirkstoffpalette in Betracht, beispielsweise Amphotericin B, Cyclosporin, pflanzliche Ceramide,
15 sowie andere wirksame Verbindungen, wie beispielsweise Ether-Lysolecithine wie ET180CH₃ (1-O-Octadecyl-2-O-methyl-glycero-3-phosphocholin). Bevorzugt werden solche Wirkstoffe eingeschlossen, welche eine polare Gruppe oder polare Bestandteile, beispielsweise OH-Gruppen oder
20 Aminogruppen enthalten. Eine weitere Wirkstoffgruppe, welche vorteilhaft in die erfindungsgemäßen Liposome eingeschlossen werden kann, sind Alkylphosphocholine, insbesondere Phosphocholine mit einem Kohlenwasserstoffrest mit 12 bis 30, insbesondere 14 bis 24 C-Atomen, welcher gesättigt, einfach oder mehrfach ungesättigt sein kann. So wurde beispielsweise festgestellt, dass bei Verpackung von Hexadecylphosphocholin in die
25 erfindungsgemäßen Liposomen bei intravenöser Gabe eine hervorragende Wirkung bei deutlich verminderter Toxizität auftritt. Auch bei Einschluss von Erucyl-Phosphocholin und Oleyl-Phosphocholin wurden Wirksamkeiten beobachtet, die jeweils deutlich oberhalb von oral verabreichten, nicht in
30 Liposomen verkapselten freien Verbindungen liegt.

Durch Einschluss entsprechender Wirkstoffe können erfindungsgemäß insbesondere Arzneimittel zur Behandlung von Protozoenerkrankungen und zur Therapie von bakteriellen oder durch Pilzen hervorgerufenen Erkrankungen in Form von sterilfiltrierbaren oder/und hitzesterilisierbaren Liposomen bereitgestellt werden. Zusätzliche Wirkstoffe, welche in die Liposomen eingeschlossen werden können, umfassen bakterizide Wirkstoffe, wie etwa Oxytetracyclin, Doxycyclin oder Minocyclin, fungizide Wirkstoffe, wie etwa Amphotericin B oder Griseofulvin sowie immunsupprimierende Wirkstoffe, wie etwa Cyclosporin.

10

Beispielhafte Therapiemöglichkeiten sind wie folgt: Leishmaniasis unter Verwendung von Amphotericin B, Ehrlichiose unter Verwendung von Tetracyclinen, Pilzkrankungen unter Verwendung von Amphotericin B und Immunsuppression unter Verwendung von Cyclosporin A als zusätzlichen Wirkstoff.

15

Ein wesentlicher Vorteil der erfindungsgemäßen Liposome besteht somit darin, dass bereits bei oraler Gabe eine deutlich überlegene Wirksamkeit gegenüber der oralen Gabe ohne Verpackung in die erfindungsgemäßen Liposome erzielt werden kann. Darüber hinaus ermöglicht die Verpackung in die erfindungsgemäßen Liposomen auch die Verabreichung in anderer Form, beispielsweise intravenös oder subkutan, wodurch oftmals die Wirksamkeit nochmals verbessert werden kann.

20

Die Erfindung umfasst weiterhin eine Zusammensetzung, welche die erfindungsgemäßen Liposome enthält. Diese Zusammensetzung besteht bevorzugt aus einer wässrigen Lösung, in der die erfindungsgemäßen Liposome dispergiert sind. Darüber hinaus kann die Zusammensetzung auch noch andere Lösungsmittel, insbesondere einen physiologisch verträglichen Alkohol enthalten. Bevorzugt sind wassermischbare Alkohole mit 2 bis 4 Kohlenstoffatomen, wie etwa Ethanol, 2-Propanol, 1,2-Propandiol und 2-Butanol oder Kombinationen davon.

25

30

Wie oben beschrieben, eignen sich die erfindungsgemäßen Liposome insbesondere zur Verwendung als Arzneimittelgrundlage zum Einbau von Wirkstoffen. Darüber hinaus betrifft die Erfindung auch Arzneimittel, welche die erfindungsgemäßen Liposome enthalten. Bevorzugt umfassen in
5 einem solchen Arzneimittel die Liposome einen Wirkstoff in eingekapselter Form oder/und als weiteren Bestandteil der Liposomhülle.

Die erfindungsgemäßen Liposomen können auf einfache Weise durch Zusammenmischen der Bestandteile a), b), c) und d) hergestellt werden.
10 Bevorzugt erfolgt das Vermischen in wässriger Lösung, wobei dem resultierenden Gemisch oder der wässrigen Lösung ein wassermischbarer, physiologisch annehmbarer Alkohol mit 2 bis 4 Kohlenstoffatomen hinzugefügt werden kann, sodass die Komponenten einen in Wasser dispergierten oder dispergierbaren Komplex bilden. Das Molverhältnis der (Ester)-Lysolecithin-
15 verbindung zu Alkohol beträgt bevorzugt 1:0,1 bis 1:500.

In der fertigen Liposomformulierung beträgt die Menge an (Ester)-Lysolecithin bevorzugt 0,1 bis 200 $\mu\text{Mol/g}$.

20 Durch die einfache Löslichkeit der erfindungsgemäß zur Liposombildung eingesetzten Bestandteile ist kein Einsatz von Überdruck für die Herstellung der erfindungsgemäßen liposomalen Formulierungen notwendig. In der Regel genügt eine einfache Beschallung, unter Umständen reicht sogar Rühren aus. Damit vereinfacht und verbilligt sich das Herstellungsverfahren sehr.
25 Außerdem können sterile Bedingungen durch das Lagern in entsprechend konzentrierten alkoholischen Lösungen problemlos eingehalten werden. Diese Vorteile gelten auch, wenn zusätzlich ein Wirkstoff der Formulierung einverleibt wird.

30 Unter Einsatz der erfindungsgemäßen Liposomen ist es weiterhin gelungen, ein Mittel gegen Lorenzos-Erkrankung (Lorenzos-Disease) herzustellen.

Dabei wurde Erucasäure in Lysolecithin oder Lecithin eingebaut und dann als Wirkstoff in die erfindungsgemäßen Liposomen eingekapselt. Die Erfindung betrifft somit auch die Verwendung der oben genannten Liposomen zur Herstellung eines Arzneimittels gegen Lorenzos-Erkrankung, wobei die Liposomen ein eingekapseltes Erucasäurederivat, insbesondere ein Erucasäure-Lysolecithin oder Erucasäure-Lecithin umfassen.

Die Erfindung wird durch die folgenden Beispiele weiter erläutert.

10 Beispiel 1 - Herstellung der Ausgangsstoffe

Kommerziell erhältliches Cholesterin wurde durch Umkristallisation auf eine Reinheit > 98 % gereinigt.

1.2-Dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholin und andere Lecithine (Bestandteil c)) wurden nach im Stand der Technik beschriebenen Methoden hergestellt, ebenso wie die verwendeten Phosphatidylglycerine und Phosphatidyl-oligo-glycerine.

Die Ester-Lysolecithine (Monoacylglycerophosphocholine) können auf einfache Weise aus Glycerophosphocholin hergestellt werden. Geeignete Lysolecithine umfassen z.B.:

1-Oleoyl-sn-glycero-3-phosphocholin
($C_{26}H_{52}NO_7$; 521.676)

25 1-Erucoyl-sn-glycero-3-phosphocholin
($C_{30}H_{60}NO_7P$; 577.784)

1-Linoleoyl-sn-glycero-3-phosphocholin
30 ($C_{26}H_{50}NO_7P$; 519.660)

- 13 -

- 1 -Palmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholin
($C_{24}H_{50}NO_7P$; 495.638)
- 5 1-Stearoyl-sn-glycero-3-phosphocholin
($C_{26}H_{54}NO_7P$; 523.692)
- 1-Oleoyl-sn-glycero-3-phospho-N.N.N.-trimethylpropylammonium
($C_{27}H_{54}NO_7P$; 535.703)
- 10 1-Erucoyl-sn-glycero-3-phospho-N.N.N.-trimethylpropylammonium
($C_{31}H_{62}NO_7P$; 591.81)
- 1-Linoleoyl-sn-glycero-3-phospho-N.N.N.-trimethyl-propylammonium
($C_{27}H_{52}NO_7P$; 533.687)
- 15 1-Palmitoyl-sn-glycero-3-phospho-N.N.N.-trimethyl-propylammonium
($C_{25}H_{52}NO_7P$; 509.687)
- 1-Stearoyl-sn-glycero-3-phospho-N.N.N.-trimethyl-propylammonium
20 ($C_{27}H_{56}NO_7P$; 537.719)
- 1-Oleoyl-sn-glycero-3-phospho-N.N.N.-trimethyl-butylammonium
($C_{28}H_{56}NO_7P$; 549.730)
- 25 1-Erucoyl-sn-glycero-3-phospho-N.N.N.-trimethyl-butylammonium
($C_{32}H_{64}NO_7P$; 605.838)

Beispiel 2 - Herstellung von Liposomen

- Es wurde festgestellt, dass Ester-Lysolecithine aufgrund ihrer ausgezeichneten dispergierenden Eigenschaften hervorragend geeignet sind, um
30 Lipidgemische vollständig in liposomale Dispersionen umzuwandeln. Dabei

- 14 -

erfolgt die Bildung der Liposomen unter milden Bedingungen, beispielsweise durch einfaches Beschallen in einem Ultraschallbad.

Die Lipidgemische können pharmazeutische Wirkung besitzen, z.B. im Falle von Erucasäurederivaten zur Behandlung der X-Adrenoleukodystrophie oder durch Einbau von Wirkstoffen, wie beispielsweise Amphotericin C, Cyclosporin usw., als Arzneimittel Verwendung finden.

Zur Herstellung von 1000 ml einer liposomalen Dispersion aus den Lipidgemischen in einer Endkonzentration von 60 bis 100 mM an Gesamtlipid wird wie folgt vorgegangen:

	Oleoyl-GPC (521,68) (Oleoyl-Glycero- phosphocholin)	0,0 - GPC (786,13) 1,2-Dioleoyl- glycerophospho- cholin	Cholesterin (386,66)	0,0-GPG (797,03) 1,2-Dioleoyl-sn glycero-3 phosphoglycerin- mononatriumsalz
15				
A -	a) 45,0	-	47,5	7,5 → 100 %
20	b) 45,0	-	47,5	7,5 → 100 <u>mM</u>
	c) 23,48	-	18,37	5,98→43,83 g

Die Dispersion ist 100 mM an Lipid und enthält ~ 4,8 % Lipide.

25	B-	a) 40,0	10,0	45,0	5,0 → 100 %
		b) 40,0	10,0	45,0	5,0 → 100 <u>mM</u>
		c) 20,87	7,86	14,40	3,99→47,12 g

Die Dispersion ist 100 mM an Lipid und enthält ~ 4,7 % Lipide.

30	C -	a) 35,0	15,0	40,0	10,0 → 100 %
		b) 35,0	15,0	40,0	10,0→100 <u>mM</u>
		c) 18,26	11,79	15,47	7,97→53,49 g

- 15 -

Die Dispersion ist 100 mM an Lipid und enthält ~ 5,4 % Lipide.

5	D -	a) 30,0	20,0	40,0	10,0 → 100 %
		b) 30,0	20,0	40,0	10,0 → 100 <u>mM</u>
		c) 15,65	15,72	15,47	7,97 → 54,81 g

Die Dispersion ist 100 mM an Lipid und enthält ~ 5,5 % Lipide.

10	E -	a) 25,0	25,0	40,0	10,0 → 100 %
		b) 22,5	22,5	36,0	9,0 → 90 <u>mM</u>
		c) 17,74	17,69	13,92	7,17 → 56,52 g

Die Dispersion ist 90 mM an Lipid und enthält ~ 5,7 % Lipide.

15	F -	a) 20,0	35,0	30,0	15,0 → 100 %
		b) 16,0	28,0	24,0	12,0 → 80 <u>mM</u>
		c) 8,35	22,01	9,28	9,56 → 49,2 g

Die Dispersion ist 80 mM an Lipid und enthält ~ 4,9 % Lipide.

20	G -	a) 15,0	35,0	35,0	15,0 → 100 %
		b) 12,0	28,0	28,0	12,0 → 80 <u>mM</u>
		c) 6,26	22,01	10,83	9,56 → 48,66 g

Die Dispersion ist 80 mM an Lipid und enthält ~ 4,9 % Lipide.

25

- 16 -

Beispiel 3 - Zusammensetzung

		molare Anteile
	(Ester)-Lysolecithine	15-90 %
5	Lecithine	0-40 %
	Cholesterin	0-60 %
	neg. Ladungsträger	3-50 %
	z.B. Dipalmitoyl-	
10	Distearoyl-	sn-G-3-phosphoglycerine oder -oligo- glycerine
	Dioleoyl-	
	z.B. 1-Palmitoyl-	
15	1-Stearoyl-	sn-G-3-phosphoglycerin
	1-Oleoyl-	
	z.B. Cholesterin-phospho-glycerine oder -oligoglycerine.	

- 20 Dabei wird bevorzugt beachtet, dass die Systeme zusammen passen, also in einer Formulierung ganz besonders bevorzugt nur ein einziger Fettsäurebestandteil verwendet wird.

	Einwaage (mMol/l = mM)
25	<u>1-Stearoyl-sn-glycero-3-phosphocholin</u>
	1-S-G-3-PC 35
	Cholesterin 40
	1-S-G-3-P-diG <u>6</u>
30	79

- 17 -

	1-S-G-3-PC	35
	Cholesterin	40
	1-S-G-3-P-diG	<u>15</u>
		90
5		
	1-S-G-3-PC	40
	Cholesterin	40
	Chol-P-diG	<u>10</u>
		90

10

Wichtig sind aber auch Formulierungen, die (Ether)-Lysolecithine enthalten, die keine Wirkstoffqualität im Sinne einer Antitumorwirkung oder Antiparasitenwirkung besitzen. Diese Formulierungen sind deshalb besonders wichtig, da sie hitzesterilisierbar sind und deshalb besonders einfach

15 gehandhabt werden können, zum Beispiel:

	<u>1-Octadecyl-sn-glycero-3-phosphocholin</u>	
	1-C _{18:0} -sn-G-3-PC	35
	Cholesterin	45
20	1-C _{18:0} -sn-G-3-P-diG	<u>5</u>
		85
	1-C _{18:0} -sn-G-3-PC	35
	Cholesterin	40
25	Chol-PG	<u>10</u>
		85

- 18 -

Entsprechend:

1-Oleyl-sn-glycero-3-phosphocholin

	1-C _{18:1} -sn-G-3-PC	40
5	Cholesterin	45
	1-C _{18:1} -sn-G-3-PG	<u>5</u>
		90
	1-C _{18:1} -sn-G-3-PC	45
10	Cholesterin	45
	Cholesterin-PG	<u>10</u>
		110

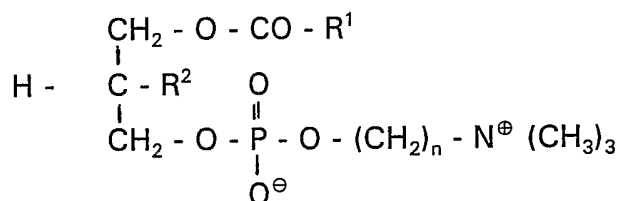
1-Erucyl-sn-glycero-3-phosphocholin

15	1-C _{22:1} -sn-G-3-PC	70
	Cholesterin	15
	1-C _{22:1} -sn-G-3-diG	<u>15</u>
		100
20	1-C _{22:1} -sn-G-3-PC	80
	Chol-P-diG	<u>20</u>
		100

Ansprüche

1. Liposom enthaltend

- 5 a) 10 bis 50 Mol-% (Ester)-Lysolecithin der Formel I



10

in der

R^1 ein Kohlenwasserstoffrest mit 13 bis 23 C-Atomen ist,

R^2 H, OH oder OR^3 darstellt, worin R^3 ein C_1 - C_3 -Alkyl- oder ein Allylrest ist, und

15

n 2, 3 oder 4 bedeutet

b) 10 bis 50 Mol-% Cholesterin,

c) 10 bis 50 Mol-% Lecithin und

d) 5 bis 25 Mol-% eines negativen Ladungsträgers, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Phosphatidylmono-, -di-, -tri- und -tetraglycerinen, Cholesterinphosphomono- und -oligo-glycerinen.

20

2. Liposom nach Anspruch 1,

d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,

25

dass R^1 in Formel I einen C_{13} - C_{19} -Alkylrest, einen C_{15} - C_{23} -Alkenylrest, einen C_{15} - C_{23} -Alkadienylrest oder einen C_{15} - C_{23} -Alkatrienylrest darstellt.

3. Liposom nach Anspruch 1 oder 2,

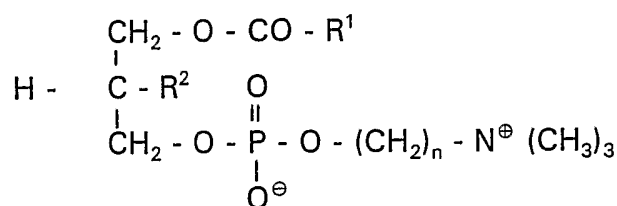
30

d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,

dass n in Formel I die Zahl 2 bedeutet.

4. Liposom nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
dass es weiterhin einen Wirkstoff in eingekapselter Form oder/und
als weiteren Bestandteil der Liposomenhülle enthält.
- 5
5. Zusammensetzung enthaltend Liposome nach einem der Ansprüche 1 bis 4.
6. Arzneimittel enthaltend Liposome nach einem der Ansprüche 1 bis
10 4, gegebenenfalls mit einem pharmakologisch geeigneten Träger-
oder Verdünnungsmittel.
7. Arzneimittel nach Anspruch 6,
dadurch gekennzeichnet,
15 dass es ein Liposom nach einem der Ansprüche 1 bis 4 und darin
eingekapselt einen Wirkstoff umfasst.
8. Arzneimittelgrundlage zum Einbau von Wirkstoffen, umfassend
Liposomen nach einem der Ansprüche 1 bis 3.
- 20
9. Arzneimittel nach einem der Ansprüche 6 oder 7 oder Arzneimittel-
grundlage nach Anspruch 8,
dadurch gekennzeichnet,
dass sie in einer zur oralen, intravenösen oder subkutanen Verab-
25 reichung geeigneten Form vorliegt.
10. Verfahren zur Herstellung von Liposomen nach einem der Ansprüche 1 bis 4,
dadurch gekennzeichnet,
30 dass man
a) 10 bis 50 Mol-% (Ester)-Lysolecithin der Formel I

- 21 -

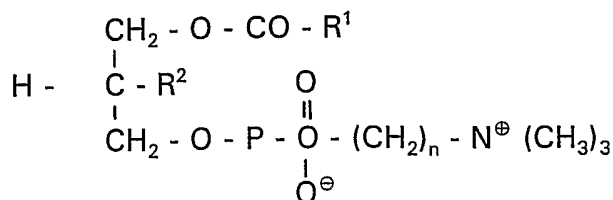


- 5 in der
 R^1 ein Kohlenwasserstoffrest mit 13 bis 23 C-Atomen ist,
 R^2 H, OH oder OR^3 darstellt, worin R^3 ein C_1 - C_3 -Alkyl- oder Allyl-
rest ist, und
n 2, 3 oder 4 bedeutet
- 10 b) 10 bis 50 Mol-% Cholesterin,
c) 10 bis 50 Mol-% Lecithin und
d) 5 bis 25 Mol-% eines negativen Ladungsträgers, ausgewählt
aus der Gruppe bestehend aus Phosphatidylmono-, -di-, -tri-
und -tetraglycerinen und Cholesterinphosphomono- und -
15 oligoglycerinen vermischt.

11. Verwendung von Liposomen nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur
Herstellung eines Arzneimittels gegen Lorenzos-Erkrankungen,
wobei die Liposomen ein eingekapseltes Erucasäurederivat, ins-
20 besondere ein Erucasäure-Lysolecithin oder Erucasäurelecithin
umfassen.

12. Liposom enthaltend
a) 10 bis 90 Mol-% (Ester)-Lysolecithin der Formel I

25



30

- in der
 R^1 ein Kohlenwasserstoffrest mit 13 bis 23 C-Atomen ist,

- 22 -

R^2 H, OH oder OR^3 darstellt, worin R^3 ein C_1 - C_3 -Alkyl- oder ein Allylrest ist, und

n 2, 3 oder 4 bedeutet

- b) 0 bis 60 Mol-% Cholesterin,
- 5 c) 0 bis 50 Mol-% Lecithin und
- d) 3 bis 50 Mol-% eines negativen Ladungsträgers, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Phosphatidylmono-, -di-, -tri- und -tetraglycerinen, Cholesterinphosphomono- und -oligo-
10 glycerinen und/oder Alkylphosphoglycerinen, Alkyl-
phosphooligoglycerinen, Alkylphosphoglycolen, Alkyl-
phosphopropandiolen-(1.3) oder/und Alkylphosphopropan-
diolen-(1.2).

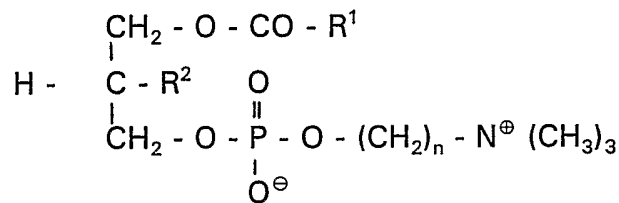
- 13. Liposom nach Anspruch 12,
15 d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t,
dass es ein Merkmal nach einem der Ansprüche 1 bis 4 aufweist.
- 14. Zusammensetzung enthaltend Liposome nach einem der Ansprüche 12 oder 13.
- 20 15. Arzneimittel enthaltend Liposome nach einem der Ansprüche 12 oder 13, gegebenenfalls mit einem pharmakologisch geeigneten Träger- oder Verdünnungsmittel.
- 25 16. Arzneimittel nach Anspruch 15,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t,
dass es ein Liposom nach einem der Ansprüche 12 oder 13 und darin eingekapselt einen Wirkstoff umfasst.
- 30 17. Arzneimittelgrundlage zum Einbau von Wirkstoffen, umfassend Liposomen nach einem der Ansprüche 12 oder 13.

18. Verfahren zur Herstellung von Liposomen nach einem der Ansprüche 12 oder 13,

d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t,

dass man

5 a) 10 bis 90 Mol-% (Ester)-Lysolecithin der Formel I



10

in der

R^1 ein Kohlenwasserstoffrest mit 13 bis 23 C-Atomen ist,

R^2 H, OH oder OR^3 darstellt, worin R^3 ein C_1 - C_3 -Alkyl- oder ein Allylrest ist, und

15 n 2, 3 oder 4 bedeutet

b) 0 bis 60 Mol-% Cholesterin,

c) 0 bis 50 Mol-% Lecithin und

d) 3 bis 50 Mol-% eines negativen Ladungsträgers, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Phosphatidylmono-, -di-, -tri- und -tetraglycerinen, Cholesterinphosphomono- und -oligoglycerinen und/oder Alkylphosphoglycerinen, Alkylphosphooligoglycerinen, Alkylphosphoglycerinen, Alkylphosphopropandiolen-(1.3) oder/und Alkylphosphopropandiolen-(1.2) vermischt.

20

25

19. Verwendung von Liposomen nach einer der Ansprüche 12 oder 13 zur Herstellung eines Arzneimittels gegen Lorenzos-Erkrankungen, wobei die Liposomen ein eingekapseltes Erucasäurederivat, insbesondere ein Erucasäure-Lysolecithin oder Erucasäurelecithin, umfassen.

30