



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 224 505** ⁽¹³⁾ **C2**
(51) МПК⁷ **A 61 K 9/107**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ
ЗНАКАМ

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ**

(21), (22) Заявка: 99109958/15 , 11.05.1999
(24) Дата начала действия патента: 11.05.1999
(30) Приоритет: 11.05.1998 EP 98 810 422.0
(46) Дата публикации: 27.02.2004
(56) Ссылки: EP 0406162 A2, 02.01.1991. US 5698219 A, 16.12.1997. US 5658898 A, 19.08.1997.
(98) Адрес для переписки:
107078, Москва, Красноворотский пр-д,
3, стр.1, к.311-313, Патентно-правовая
фирма "Искон- II", пат.пов. Гавриловой
Е.А.

(72) Изобретатель: СУПЕРСАКСО Андреас
Вернер (CH),
ВЕДЕР Ганс Георг (CH), ХЮГЛИН Дитмар
(DE), РЕДИНГ Йоахим Фридрих (DE)
(73) Патентообладатель:
Циба Специалти Кемикалз Холдинг Инк.
(CH),
Везифакт АГ (CH)
(74) Патентный поверенный:
Гаврилова Елена Аркадьевна

(54) **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НАНОДИСПЕРСИЙ В СОСТАВАХ ДЛЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО
ПРИМЕНЕНИЯ**

(57)
Изобретение относится к области
фармацевтики и касается нанодисперсий в
составах для фармацевтического
применения. Изобретение заключается в том,
что нанодисперсии содержат (а)
мембранообразующую молекулу, (b)
совместный эмульгатор и (с) липофильный
компонент, в составах для
фармацевтического применения, при этом
нанодисперсию получают путем (α)
смешивания компонентов (а), (b) и (с) до
получения однородной прозрачной жидкости

и (β) добавления жидкости, полученной в
стадии (α), в водную фазу составов для
фармацевтического применения, причем
стадии (α) и (β) осуществляют без
какой-либо дополнительной подачи энергии.
Изобретение обеспечивает использование
нанодисперсий в качестве транспортных
средств для фармацевтически активных
агентов, что приводит к получению
терапевтических преимуществ, таких как
уменьшение побочных эффектов. 5 с. и 16
з.п.ф-лы, 3 табл.

RU 2 224 505 C2

RU 2 224 505 C2



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 224 505** ⁽¹³⁾ **C2**

(51) Int. Cl. 7 **A 61 K 9/107**

RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 99109958/15 , 11.05.1999

(24) Effective date for property rights: 11.05.1999

(30) Priority: 11.05.1998 EP 98 810 422.0

(46) Date of publication: 27.02.2004

(98) Mail address:
107078, Moskva, Krasnovorotskij pr-d,
3, str.1, k.311-313, Patentno-pravovaja
firma"Iskona II", pat.pov. Gavrilovoj E.A.

(72) Inventor: SUPERSAKSO Andreas Verner
(CH),
VEDER Gans Georg (CH), KhJuGLIN
Ditmar (DE), REDING Joakhim Fridrikh
(DE)

(73) Proprietor:
Tsiba Speshialti Kemikalz Kholding Ink.
(CH),
Vezifakt AG (CH)

(74) Representative:
Gavrilova Elena Arkad'evna

(54) **UTILIZING NANODISPERSIONS IN COMPOSITIONS FOR PHARMACEUTICAL APPLICATION**

(57) Abstract:

FIELD: pharmaceutical industry.
SUBSTANCE: invention consists in that nanodispersions contain membrane-forming molecule, common emulsifier, and lipophilic component in pharmaceutical-destination compositions, nanodispersion being prepared by mixing the three components to give homogenous transparent liquid and adding

resulting liquid into aqueous phase of pharmaceutical-destination compositions. The two preparation stages are performed without additional energy supply. EFFECT: enabled utilizing nanodispersions as transportation means for pharmaceutically- active agents resulting in therapeutic advantages such as decreased side effects. 21 cl, 3 tbl, 31 ex

RU 2 224 505 C 2

RU 2 224 505 C 2

Текст описания в факсимильном виде (см. графическую часть)с

Формула изобретения:

1. Нанодисперсия для фармацевтических составов, содержащая (а) мембранообразующую молекулу, (b) совместный эмульгатор и (с) липофильный компонент, которую получают путем (α) смешивания компонентов (а), (b) и (с) до получения однородной прозрачной жидкости и (β) добавления полученной жидкости в водную фазу фармацевтического состава.

2. Нанодисперсия по п.1, отличающаяся тем, что стадию (α) осуществляют в безводной среде.

3. Нанодисперсия по пп.1 и 2, отличающаяся тем, что она имеет частицы со средним диаметром меньше 50 нм.

4. Нанодисперсия по пп.1-3, отличающаяся тем, что она содержит в качестве мембранообразующей молекулы вещества, пригодные для образования бинарных слоев, в качестве совместного эмульгатора - вещества, которые предпочтительно образуют структуры типа масло в воде, и в качестве липофильного компонента - липофильно-активное вещество.

5. Нанодисперсия по пп.1-4, отличающаяся тем, что в качестве компонента (а) она содержит фосфолипид, гидратированный или частично гидратированный фосфолипид, лизофосфолипид, церамид или их смеси.

6. Нанодисперсия по п.5, отличающаяся тем, что она содержит компонент (а) в количестве от 0,1 до 30 мас.% на основе общей массы компонентов (а), (b) и (с).

7. Нанодисперсия по пп.1-6, отличающаяся тем, что в качестве компонента (b) она содержит эмульгатор полиоксиэтиленового типа, насыщенные и ненасыщенные C_8 - C_{18} -алкилсульфаты, щелочной металл, аммониевые или аминовые соли C_8 - C_{20} -жирных кислот, C_8 - C_{20} -алкансульфонаты, фосфораты жирных спиртов, соли желчной кислоты, инвертированные мыла (кватернизированные); частичные сложные эфиры жирных кислот сорбита, сложные сахарные эфиры жирных кислот, частичные глицериды жирных кислот, алкилмальтозиды, алкилгликозиды, C_8 - C_{18} -бетаины, C_8 - C_{18} -сульфобетаины или C_8 - C_{24} -алкиламино- C_{14} -алкиленбетаины, протеины, сложные полиглицериновые эфиры жирных кислот, сложные пропиленгликолевые эфиры жирных кислот, лактаты жирных кислот или смесь этих веществ.

8. Нанодисперсия по п.7, отличающаяся тем, что в качестве компонента (b) она содержит, по крайней мере, один эмульгатор полиоксиэтиленового типа.

9. Нанодисперсия по п.8, отличающаяся тем, что в качестве компонента (b) она содержит сложные эфиры полиэтоксипированных жирных кислот сорбита, полиэтоксипированные жирные спирты, полиэтоксипированные жирные кислоты, полиэтоксипированные

производные витамина Е, полиэтоксипированный ланолин и его производные, частичные глицериды полиэтоксипированных жирных кислот, полиэтоксипированные алкилфенолы, сложные полуэфиры серной кислоты, полиэтоксипированные жирные спирты и их соли, полиэтоксипированные жирные амины и амиды жирных кислот, полиэтоксипированные углеводороды, блок-полимеры оксида этилена и оксида пропилена.

10. Нанодисперсия по любому из пп.1-9, отличающаяся тем, что она содержит компонент (b) в количестве от 1 до 50 мас.% на основе общей массы компонентов (а), (b) и (с).

11. Нанодисперсия по любому из пп.1-10, отличающаяся тем, что в качестве компонента (с) она содержит натуральный или синтетический либо частично синтетический ди- или триглицерид, минеральное масло, силиконовое масло, воск, жирный спирт, квербетовый спирт или его сложный эфир, липофильный функциональный фармацевтически активный агент или смесь этих веществ.

12. Нанодисперсия по любому из пп.1-11, отличающаяся тем, что она содержит компонент (с) в количестве от 0,1 до 80 мас.% на основе общей массы компонентов (а), (b) и (с).

13. Нанодисперсия по любому из пп.1-12, отличающаяся тем, что она дополнительно содержит C_2 - C_8 -спирт.

14. Фармацевтический жидкий состав в виде инъекционного раствора, инфузионного раствора, капель, аэрозоли, эмульсии, лосьона, суспензии, питьевого раствора, раствора или жидкости для полоскания рта или ингалятора, содержащий нанодисперсию по п.1.

15. Фармацевтический полутвердый состав в виде мази, крема, обогащенного крема, геля, лосьона, пены, пасты, суспензии, яйцеклетки или пластиры, содержащий нанодисперсию по п.1.

16. Фармацевтический твердый состав в виде таблетки, таблетки с покрытием, капсулы, гранул, шипучих гранул, шипучей таблетки, лепешки, сосательной и жевательной таблетки, суппозиториев, имплантата, лиофилизата, адсорбата или порошка, содержащий нанодисперсию по п.1.

17. Фармацевтический состав, представляющий собой матрично- или мембранно-управляемую систему в виде ротоносовой капсулы, трансдермальной системы, инъекционной микрокапсулы, содержащий нанодисперсию по п.1.

18. Фармацевтический состав по любому из пп.14, 15 и 17, содержащий нанодисперсию в водной фазе.

19. Фармацевтический состав по любому из пп.14, 15, 17 и 18, содержащий нанодисперсию в водной фазе в концентрации от 0,01 до 100 мас.%.

20. Фармацевтический состав по пп.14, 16 или 17, содержащий нанодисперсию в чистом виде.

21. Фармацевтический состав по п.16, содержащий нанодисперсию в дегидратированной форме.

Настоящее изобретение относится к использованию нано-дисперсий в составах для фармацевтического применения, к составам для фармацевтического применения, содержащим указанные нано-дисперсии, и к различным фармацевтическим применениям этих составов.

Следует понимать, что описываемые составы для фармацевтического применения означают составы, которые содержат, помимо основных веществ, отвечающих за приготовление фармацевтического состава, другие функционально-активные агенты. Они добавляются к фармацевтическим основным составам и могут использоваться для терапевтического лечения нервной системы, эндокринной системы, сердечно-сосудистой системы, дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта, почек и эфферентных мочевых путей, опорно-двигательного аппарата, иммунологической системы, кожи и слизистых оболочек, а также для лечения инфекционных заболеваний.

Для того, чтобы эти вещества оказывали действие в желательном участке, они должны переноситься к соответствующему участку. В целях оптимизации их присутствия на участке действия, многие активные вещества применяются при помощи так называемых носителей и транспортных средств (системы носителя), например, смешанных мицелл, липосом или нано-эмульсий (нано-частиц).

RU 2 2 2 4 5 0 5 C 2

RU 2 2 2 4 5 0 5 C 2

В патенте EP 0406162 описано использование нано-эмульсий в составах для фармацевтического и/или косметического применения. Примерами активных веществ, используемых в описываемых составах, являются амфотерицин (NeXstar, Sequus, TLC), даунорубицин (NeXstar), доксорубицин (Sequus), инактивированные вирусы гепатита А (Verba) или эконазол (Cilag). Применение этих активных веществ при помощи указанных систем носителя приводит к получению терапевтических преимуществ, таких как меньшие побочные эффекты или лучший вакцинный эффект.

Неожиданно обнаружено, что так называемые нано-дисперсии пригодного состава могут повышать эффективность лекарственных препаратов в составах для фармацевтического применения.

В соответствии с этим настоящее изобретение относится к использованию нано-дисперсии, содержащей

- (a) мембранообразующую молекулу,
- (b) совместный эмульгатор и
- (c) липофильный компонент,

в составах для фармацевтического применения, при этом нано-дисперсию получают путем

- (α) смешивания компонентов (a), (b) и (c) до получения однородной прозрачной жидкости (так называемой предварительной фазы нано-дисперсии) и
- (β) добавления жидкости, полученной в стадии (α), в водную фазу составов для фармацевтического применения, причем стадии (α) и (β) осуществляют без какой-либо дополнительной подачи энергии.

Стадию (α) обычно осуществляют при комнатной температуре, и если необходимо, то при нагревании и условиях нормального давления. Смешивание осуществляют с использованием стандартного смесительного аппарата, например, пропеллерной мешалки, мешалки с лопастями, расставленными под углом, или магнитного смесителя, и без использования каких-либо специальных механических смесительных средств.

Компоненты (a), (b) и (c) смешивают в безводной среде (стадия (α)), то есть, нет необходимости в добавлении воды.

Стадию (β) осуществляют путем добавления жидкости, полученной в стадии (α) [так называемая предварительная фаза нано-дисперсии], в водную фазу составов для фармацевтического применения. Конкретный выбор компонентов (a), (b) и (c) приводит непосредственно к получению особо мелкозернистых, монодисперсных нано-дисперсий. В этом случае есть возможность воздержаться от гомогенизации посредством форсуночных, роторно-статорных или ультразвуковых гомогенизаторов, которую обычно осуществляют для преобразования крупнозернистых или, по крайней мере, гетеродисперсных систем в мелкозернистые монодисперсные системы. Таким образом, стадия (β) отличается отсутствием высоких усилий сдвига или кавитации.

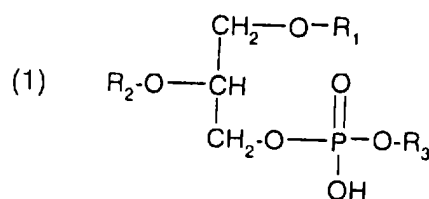
Стадию (β) обычно осуществляют при комнатной температуре, которая является диапазоном соответствующей температуры перехода масло/вода (PIT).

Нано-дисперсии, характеризуемые стадиями способа (α) и (β), содержат частицы, имеющие средний диаметр <50, как правило, менее 30 нм. Распределение является монодисперсным и подчиняется кривой распределения Гаусса.

Предпочтительно использовать нано-дисперсию, содержащую

- (a) в качестве мембранообразующих молекул вещества, пригодные для образования так называемых бинарных слоев,
- (b) в качестве совместных эмульгаторов вещества, которые предпочтительно образуют структуры типа масло в воде, и
- (c) в качестве липофильного компонента липофильно-активное вещество, традиционно используемое для фармацевтических препаратов.

Нано-дисперсия предпочтительно содержит в качестве компонента (a) фосфолипид, гидратированный или частично гидратированный фосфолипид, лизофосфолипид, церамид или смеси этих соединений,



где

R₁ обозначает C₁₀-C₂₀-ацил;

R₂ обозначает водород или C₁₀-C₂₀-ацил;

R₃ обозначает водород, 2-триметиламино-1-этил, 2-амино-1-этил, C₁-C₅-алкил, который не замещен или замещен одной или несколькими

группами карбокси, гидроксид или амино, инозит или группу глицерил, или соли этих соединений.

C₁₀-C₂₀-ацил обозначает предпочтительно прямоцепочечный C₁₀-C₂₀-алканоил, содержащий равное число атомов углерода, и прямоцепочечный C₁₀-C₂₀-алкеноил, содержащий двойную связь и равное число атомов углерода.

Прямоцепочечный C₁₀-C₂₀-алканоил, содержащий равное число атомов углерода, представляет собой, например, n-додеканоил, n-тетрадеканоил, n-гексадеканоил или n-октадеканоил.

Прямоцепочечный C₁₀-C₂₀-алкеноил, содержащий двойную связь и равное число атомов углерода, представляет собой, например, 6-цис- или 6-транс-, 9-цис- или 9-транс-додеценил, -тетрадеценил, -гексадеценил, -октадеценил или -эйкозеноил, предпочтительно 9-цис-октадеценил (олеил), а также 9,12-цис-октадекадиеноил или 9,12,15-цис-октадекатриеноил.

Фосфолипид формулы (1), где R₃ обозначает 2-триметиламино-1-этил, упоминается под тривиальным названием лецитин, а фосфолипид формулы (1), где R₃ обозначает 2-амино-1-этил, под тривиальным названием цефалин. Пригодны, например, встречающиеся в природе цефалин или лецитин, например, цефалин или лецитин из соевых бобов или куриных яиц с различными или идентичными группами ацила, либо их смеси.

Фосфолипид формулы (1) также может иметь синтетическое происхождение. Выражение «синтетический фосфолипид»

используется для определения фосфолипидов, имеющих однородный состав в отношении R_1 и R_2 . Такие синтетические фосфолипиды предпочтительно являются лецитинами и цефалинами, определенными выше, где ацильные группы R_1 и R_2 имеют определенную структуру и которые происходят из определенной жирной кислоты, имеющей степень чистоты выше, чем приблизительно 95 %. R_1 и R_2 могут быть одинаковыми или различными и ненасыщенными или насыщенными. Предпочтительно, R_1 является насыщенным, например н-гексадеканоилом, а R_2 ненасыщенным, например 9-цис-октадеценоилом (олеоилом).

Выражение «встречающийся в природе» фосфолипид обозначает фосфолипид, который не имеет однородного состава в отношении R_1 и R_2 . Такие встречающиеся в природе фосфолипиды также предпочтительно являются лецитинами и цефалинами, где ацильные группы R_1 и R_2 происходят из смесей встречающихся в природе жирных кислот.

Требование «в основном чистый» фосфолипид формулы (1) определяет степень чистоты более, чем 90% по массе, предпочтительно более, чем 95% по массе фосфолипида формулы (1), которое может быть продемонстрировано при помощи пригодных методов определения, например бумажной хроматографии, тонкослойной хроматографии, ЖХВД, или при помощи теста на ферментативное окрашивание.

В фосфолипиде формулы (1) R_3 , определенный как C_1 - C_4 -алкил, обозначает, например, метил или этил. Предпочтителен метил.

R_3 , определенный как C_1 - C_5 -алкил, замещенный одной или несколькими карбокси-, гидроксид- или аминогруппами, обозначает, например, 2-гидроксиэтил, 2,3-дигидрокси-*n*-пропил, карбоксиметил, 1- или 2-карбоксиэтил, дикарбоксиметил, 2-карбокси-2-гидроксиэтил или 3-карбокси-2,3-дигидрокси-*n*-пропил, 3-амино-3-карбокси-*n*-пропил или 2-амино-2-карбокси-*n*-пропил, предпочтительно 2-амино-2-карбоксиэтил.

Фосфолипиды формулы (1), содержащие эти группы, могут присутствовать в форме соли, например, в виде соли натрия или калия.

Фосфолипиды формулы (1), в которых R_3 обозначает группу инозита или глицерила, известны под названиями фосфатидилинозит и фосфатидилглицерин.

Ациловые радикалы в фосфолипидах формулы (1) также обычно известны под их названиями, данными в скобках:

9-цис-додеценоил (лауролеоил), 9-цис-тетраценоил (миристолеоил), 9-цис-гексадеценоил (пальмитолеоил), 6-цис-октадеценоил (петрозелоил), 6-транс-октадеценоил (петрозелаидоил), 9-цис-октадеценоил (олеоил), 9-транс-октадеценоил (элаидоил), 9,12-цис-октадекадиеноил (линолеоил), 9,12,15-цис-октадекатриеноил (линолеоил), 11-цис-октадеценоил (вакценоил), 9-цис-эйкозеноил (гадолеоил), 5,8,11,14-цис-эйкозатетраеноил (арахидоноил), *n*-додеканоил (лауроил), *n*-тетра-деканоил (миристоил), *n*-гексадеканоил (пальмитоил), *n*-октадеканоил (стеароил), *n*-эйкозаноил (арахидоил), *n*-докозаноил (бегеноил), *n*-тетракозаноил (лигноцероил).

Соль фосфолипида формулы (1) предпочтительно является фармацевтически приемлемой. Соли определяются присутствием солеобразующих групп в заместителе R_3 и свободных гидроксильных групп на атоме фосфора. Образование внутренних солей также возможно. Предпочтительны соли щелочных металлов, особенно натриевые соли.

В особенно предпочтительном варианте настоящего изобретения используется очищенный лецитин из соевых бобов, имеющий качество LIPOID S 100 или 75, или лецитин, определенный в монографии USP23/NF 18.

Компонент (а) предпочтительно используется при концентрации приблизительно от 0,1 до 30 % по массе на основе общей массы компонентов (а), (b) и (с).

Компонент (b) предпочтительно представляет собой эмульгатор или смеси эмульгаторов, образующие предпочтительные структуры масло в воде.

Особенно предпочтительными эмульгаторами являются

– щелочные, аммониевые и аминовые соли жирных кислот. Примерами таких солей являются соли лития, натрия, калия, аммония, триэтиламина, этаноламина, диэтанолamina или триэтанолamina. Предпочтительно использовать натриевые, калиевые или аммониевые ($NR_1R_2R_3$) соли, где R_1 , R_2 и R_3 каждый самостоятельно обозначает водород, C_1 - C_4 -алкил или C_1 - C_4 -гидроксиалкил;

- насыщенные и ненасыщенные алкилсульфаты, такие как додецилсульфат натрия, и алкансульфонаты, такие как додецилсульфонат натрия;
- соли колиновой кислоты, такие как холат натрия, гликохолат натрия и таурохолат натрия;
- инвертированные мыла (кватернизированные), такие как хлористый цетилпиридиний;
- частичные жирнокислотные сложные эфиры сорбитана, такие как монолаурат сорбитана;
- сложные сахарные эфиры жирных кислот, такие как монолаурат сахарозы;
- алкилглюкозиды, такие как n-октилглюкозид или n-додецилглюкозид;
- алкилмальтозиды, такие как n-додецилмальтозид;
- частичные глицериды жирных кислот, такие как моноглицерид лауриновой кислоты;
- C₈-C₁₈-бетаины, C₈-C₂₄-алкиламидо-C₁-C₄-алкиленбетаины и C₈-C₁₈-сульфобетаины;
- протеины, такие как казеин;
- сложные эфиры полиглицерина жирных кислот;
- сложные пропиленгликолевые эфиры жирных кислот;
- лактаты жирных кислот, такие как натрия стеароиллактит-2-лактат;
- фосфораты жирных спиртов.

Эмульгаторы полиоксиэтиленового типа являются очень предпочтительными соединениями. Примерами таких эмульгаторов являются

- полиэтоксиллированные жирнокислотные сложные эфиры сорбитана, такие как полисорбат 80;
- полиэтоксиллированные жирные спирты, такие как oleth-20;
- полиэтоксиллированные жирные кислоты, такие как полиоксил 20 стеарат;
- полиэтоксиллированные производные витамина Е, такие как сукцинат полиэтиленгликоля 1000 витамина Е;
- полиэтоксиллированный ланолин и производные ланолина, такие как laneth-20;
- частично полиэтоксиллированные глицериды жирных кислот, такие как моностеарат диэтиленгликоля;
- полиэтоксиллированные алкилфенолы, такие как этилфенолполи(этиленгликолевый эфир)11;
- полиэтоксиллированные жирные спирты сложного полиэфира серной кислоты и их соли, такие как ЕО-натриевая соль сульфата-2 простого эфира C₁₂-C₁₄-жирного спирта;
- полиэтоксиллированные жирные амины и амиды жирных кислот;
- полиэтоксиллированные углерод-гидраты;
- блок-полимеры оксида этилена и оксида пропилена, такие как poloxamer 188.

Компонент (b) присутствует в нано-дисперсии, используемой в соответствии с настоящим изобретением, при концентрации приблизительно от 1 до 50% по массе на основе общей массы компонентов (a), (b) и (c).

Компонент (c) предпочтительно представляет собой натуральный или синтетический продукт или частично синтетический ди- или

триглицерид, минеральное масло, силиконовое масло, воск, жирный спирт, гербетовый спирт или его сложный эфир, терапевтическое масло, липофильное фармацевтически активное средство или смесь этих веществ.

Активные вещества, пригодные для фармацевтического применения, следует искать, между прочим, в Справочнике «Лекарственные средства» (Arzneimittelkompendium 1997). Примерами пригодных активных веществ являются анальгетирующие средства, антациды/противоязвенные средства, противоаллергические средства, противоанемические лекарственные препараты, антидепрессанты, противодиабетические средства, средства против поноса, антидоты/средства для борьбы с наркоманией/рвотные средства, противорвотные средства/средства от головокружения, антиэпилептические средства, средства против кровотечения, гипотензивные средства, антигипотонические средства, противоинфекционные средства, антикоагулянты, противоревматические/противовоспалительные средства, депрессанты аппетита, бета-блокаторы, бронхолитические средства, холинергические средства, дерматологические средства, дезинфицирующие средства, диагностические средства, диетические средства, мочегонные средства, стимуляторы кровотока, гастроэнтерологические средства, средства от подагры, противогриппозные средства, гинекологические средства, антигемморoidalные средства, гормоны, противокашлевые средства, снотворные средства, иммунологические средства, внутривенные вливания, кардиотонические средства, противозачаточные средства, (рентгено)контрастные вещества, адренокортикальные стероиды,

RU 2224505 C2

RU 2224505 C2

слабительные средства, средства для терапии печени и желчегонные средства, препараты для липидного метаболизма, местные анестезирующие средства, анальгетирующие средства, препараты для минерального метаболизма, миорелаксанты, наркотики, нейролептические средства, стоматологические средства, офтальмологические средства, оториноларингологические средства (ОРС), лекарства против болезни Паркинсона, психостимуляторы, седативные средства, спазмолитические средства, тонизирующие / укрепляющие средства, транквилизаторы, противотуберкулезные средства, урологические средства, препараты против варикозного расширения вен, вещества, способствующие заживлению и консолидации, а также цитостатические средства.

Компонент (с) присутствует в нано-дисперсии, используемой в соответствии с настоящим изобретением, при концентрации от 0,1 до 80 % по массе на основе общей массы компонентов (а), (b) и (с).

Нано-дисперсия, используемая в соответствии с настоящим изобретением, по выбору содержит в качестве необязательного компонента (d) солюбилизатор, предпочтительно C₂-C₈-спирт, такой как этанол или пропиленгликоль.

Нано-дисперсия, содержащая компоненты (а), (b) и (с) и необязательно (d), отличается благоприятными фазовыми свойствами солюбилизованного функционального фармацевтического средства. Поэтому, если имеет место опалесценция или прозрачность в падающем свете, только очень слабая мутность показывает, что дисперсия все еще физически отличается от идеального состояния

истинного молекулярного раствора. Изображения, полученные с помощью электронного микроскопа, показывают, что популяция свыше 98 % присутствует в кривой распределения Гаусса в виде суспензии частиц (нано-частиц), имеющих размер частиц менее 50 нм, обычно менее 30 нм. Однако этими отличиями от истинного раствора можно пренебречь из-за чрезвычайно хороших свойств однородности дисперсии, которые могут быть подтверждены, например, удивительно высокой устойчивостью при хранении, например, не наблюдается никакого расслоения после хранения в течение нескольких месяцев при температурах вплоть до комнатной температуры (устойчивость, ожидаемая через посредство экстраполяции: свыше двух лет).

Измерения рассеяния лазерного излучения и анализ электронным микроскопом (Сryo-ТЕМ) подтверждают очень маленький размер и превосходную однородность нано-частиц, присутствующих в нано-дисперсии.

Другое преимущество нано-дисперсий, используемых в соответствии с настоящим изобретением, заключается в том, что их легко получить.

Нано-дисперсии по п. 1 формулы изобретения, используются в соответствии с настоящим изобретением в составах для фармацевтического применения.

Настоящее изобретение также относится к так называемой предварительной фазе нано-дисперсии, охарактеризованной в стадии (α), которую получают смешиванием компонентов

- (a) мембранообразующей молекулы,
- (b) совместного эмульгатора,
- (c) липофильного компонента и, по выбору,
- (d) C₂-C₈-спирта, предпочтительно пропиленгликоля или, более предпочтительно, этанола, до получения однородной прозрачной жидкости, причем смешивание осуществляют в безводной среде.

В соответствии с настоящим изобретением предварительную фазу нано-дисперсии или нано-дисперсию используют непосредственно для составов для фармацевтического применения.

Составы для фармацевтического применения предпочтительно являются жидкими, полужидкими или твердыми препаратами.

Примерами жидких составов для фармацевтического применения являются инъекционные растворы, инфузионные растворы, капли, аэрозоли, эмульсии, лосьоны, суспензии, питьевые растворы, растворы или жидкости для полоскания рта и ингаляторы.

Примерами полутвердых составов для фармацевтического применения являются мази, кремы (эмульсии типа масло в воде), обогащенные кремы (эмульсии типа вода в масле), гели, лосьоны, пены, пасты, суспензии, ячейки, пластыри, включая трансдермальные системы.

Примерами твердых составов для фармацевтического применения являются таблетки, таблетки с покрытием, капсулы, гранулы, шипучие гранулы, шипучие таблетки, лепешки, сосательные и жующиеся

таблетки, суппозитории, имплантаты, лиофилизаты, адсорбаты или порошки.

Настоящее изобретение также относится к этим конечным составам.

Составы для фармацевтического применения содержат нанодисперсию при концентрации от 0,01 до 100% по массе, предпочтительно от 0,05 до 20% по массе, наиболее предпочтительно от 0,1 до 10% по массе.

Для получения жидких и полутвердых фармацевтических конечных продуктов (Примеры 20 - 29) нанодисперсии вводят в водный компонент конечного продукта. Также можно вместо нанодисперсии добавлять соответствующую предварительную фазу нанодисперсии в водную фазу состава для фармацевтического применения. Предварительную фазу нанодисперсии добавляют в водную фазу при помешивании и предпочтительно при температуре в диапазоне соответствующей температуры перехода масло/вода (PIT).

Твердые фармацевтические конечные продукты, такие как таблетки (Пример 30), шипучие таблетки, таблетки с покрытием, гранулы, шипучие гранулы и пластыри, покрывают или нагружают нанодисперсиями путем распыления или насыщения. В некоторых случаях выгодно смешивать дегидратированную форму нанодисперсии с твердой смесью. Обычно нанодисперсию дегидратируют путем сушки вымораживанием или распылительной сушки в присутствии традиционных наполнителей. Капсулы, в частности эластичные желатиновые капсулы, можно нагружать предварительной фазой нанодисперсии (Пример 31).

RU 2 2 2 4 5 0 5 C 2

RU 2 2 2 4 5 0 5 C 2

Матрично- или мембранно-управляемые системы для фармацевтического применения, такие как ротоносовые капсулы, трансдермальные системы, инъеклируемые микрокапсулы или имплантаты, нагружают нано-дисперсиями с помощью традиционных методов. Ротоносовые капсулы также могут быть нагружены предварительной фазой нано-дисперсии.

Помимо наполнителей для создания фармакологической лекарственной формы, состав для фармацевтического применения может также содержать другие компоненты, например, стабилизаторы, консерванты, такие как парабены, антиокислители и ароматики, подслащивающие вещества или красители.

Составы для фармацевтического применения предпочтительно используются для терапевтического лечения нервной системы, эндокринной системы, сердечно-сосудистой системы, дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта, почек и эфферентных мочевых путей, опорно-двигательного аппарата, иммунологической системы, кожи и слизистых оболочек, а также для лечения инфекционных заболеваний, опухолей и болезней, вызванных недостаточностью витаминов/минералов.

Новый состав для фармацевтического применения предпочтительно наносят надкожно, трансбуккально, лингвально, подъязычно, парентерально (перорально), ректально, назально, пульмонально, путем ингаляции, конъюнктивально, интравагинально (внутривагинально), внутриматочно, интракардиально, внутриартериально, внутрипояснично, внутриоболочечно,

интраартикулярно, внутрикожно, подкожно, внутримышечно и внутрибрюшинно.

В следующих Примерах процентные содержания приведены по массе. Если не указано что-то иное, количества используемых соединений основаны на беспримесном веществе.

Рабочие Примеры в отношении предварительной фазы нано-дисперсии

Пример 1: Предварительная фаза нано-дисперсии Miglyol 812

лецитин соевых бобов	17,30 %
полисорбат 80	34,00 %
miglyol 812	34,50 %
этанол	14,20 %

Получение: Miglyol 812 и полисорбат 80 смешивают. Лецитин соевых бобов растворяют в этаноле и добавляют в эту смесь с получением однородной светлой жидкости.

Пример 2: Предварительная фаза нано-дисперсии Miglyol 812

лецитин соевых бобов	17,30 %
oleth-20	34,00 %
miglyol 812	34,50 %
этанол	14,20 %

Получение: Miglyol 812 и oleth-20 смешивают при нагревании. Лецитин соевых бобов растворяют в этаноле и добавляют в эту смесь с получением однородной светлой жидкости.

Пример 3: Предварительная фаза нано-дисперсии Miglyol 812

лецитин соевых бобов	17,30 %
----------------------	---------

laneth-20	34,00 %
miglyol 812	34,50 %
этанол	14,20 %

Получение: Miglyol 812 и Laneth-20 смешивают при нагревании. Лецитин соевых бобов растворяют в этаноле и добавляют в эту смесь с получением однородной светлой жидкости.

Пример 4: Предварительная фаза нано-дисперсии Miglyol 812

лецитин соевых бобов	17,30 %
сукцинат полиэтиленгликоля витамина Е (витамин Е ТPGS, Eastman)	34,00 %
miglyol 812	34,50 %
этанол	14,20 %

Получение: Miglyol 812 и сукцинат полиэтиленгликоля витамина Е смешивают при нагревании. Лецитин соевых бобов растворяют в этаноле и добавляют в эту смесь с получением однородной светлой жидкости.

Пример 5: Предварительная фаза нано-дисперсии ацетата

витамина Е

лецитин соевых бобов	9,00 %
полисорбат 80	34,00 %
ацетат витамина Е	36,60 %
miglyol 812	13,00 %
этанол	7,40 %

Получение: Miglyol 812, ацетат витамина Е и полисорбат 80 смешивают. Лецитин соевых бобов растворяют в этаноле и добавляют в эту смесь с получением однородной светлой жидкости.

Пример 6: Предварительная фаза nano-дисперсии пальмитата
витамина А

лецитин соевых бобов	17,30 %
полисорбат 80	34,00 %
пальмитат витамина А (1,7 x 10 ⁶ международных единиц/г)	4,50 %
miglyol 812	30,00 %
этанол	14,20 %

Получение: Miglyol 812, пальмитат витамина А и полисорбат 80 смешивают. Лецитин соевых бобов растворяют в этаноле и добавляют в эту смесь с получением однородной светлой жидкости.

Пример 7: Предварительная фаза nano-дисперсии тридецилсалицилата

лецитин соевых бобов	11,00 %
полисорбат 80	26,00 %
тридецилсалицилат	40,50 %
miglyol 812	13,50 %
этанол	9,00 %

Получение: Miglyol 812, тридецилсалицилат и полисорбат 80 смешивают. Лецитин соевых бобов растворяют в этаноле и добавляют в эту смесь с получением однородной светлой жидкости.

Рабочие Примеры в отношении nano-дисперсий

Пример 8: Nano-дисперсия Miglyol 812

лецитин соевых бобов	1,73 %
полисорбат 80	3,40 %
miglyol 812	3,45 %
этанол	1,42 %

10 мм фосфатного буфера, рН 6 добавляют до 100,00 %

Получение: Водную фазу (например, 90 кг) помещают в сосуд при перемешивании (например, магнитной мешалкой) при температуре 50°С. Жидкую предварительную фазу нано-дисперсии Примера 1 (например, 10 кг) добавляют в водную фазу при перемешивании (например, магнитной мешалкой).

Пример 9: Нано-дисперсия Miglyol 812

лецитин соевых бобов	1,73 %
oleth-20	3,40 %
miglyol 812	3,45 %
этанол	1,42 %

10 мм фосфатного буфера, рН 6 добавляют до 100,00 %

Нано-дисперсию получают по аналогии с процедурой Примера 8.

Пример 10: Нано-дисперсия Miglyol 812

лецитин соевых бобов	1,73 %
laneth-20	3,40 %
miglyol 812	3,45 %
этанол	1,42 %

10 мм фосфатного буфера, рН 6 добавляют до 100,00 %

Нано-дисперсию получают по аналогии с процедурой Примера 8.

Пример 11: Нано-дисперсия Miglyol 812

лецитин соевых бобов	1,73 %
сукцинат полиэтиленгликоля витамина Е (витамин Е TPGS, Eastman)	3,40 %
miglyol 812	3,45 %
этанол	1,42 %

miglyol 812	0,71 %
этанол	0,63 %
10 мм фосфатного буфера, рН 6	добавляют до 100,00 %

Получение: Водную фазу (например, 94,54 кг) помещают в сосуд при перемешивании (например, магнитной мешалкой) при температуре 50°С. Жидкую предварительную фазу нано-дисперсии Примера 5 (например, 5,46 кг) добавляют в водную фазу при перемешивании (например, магнитной мешалкой).

Пример 15: Нано-дисперсия ацетата витамина Е

ацетат витамина Е	2,00 %
лецитин соевых бобов	0,49 %
полисорбат 80	1,86 %
miglyol 812	0,71 %
этанол	0,63 %
10 мм фосфатного буфера, рН 7,4	добавляют до 100,00 %

Нано-дисперсию получают по аналогии с процедурой Примера 14.

Пример 16: Нано-дисперсия пальмитата витамина А

пальмитат витамина А (1,7 x 10 ⁶ международных единиц/г)	0,45 %
лецитин соевых бобов	1,73 %
miglyol 812	3,00 %
полисорбат 80	3,40 %
этанол	1,42 %
10 мм фосфатного буфера, рН 6	добавляют до 100,00 %

Нано-дисперсию получают по аналогии с процедурой Примера 8.

RU 2 2 2 4 5 0 5 C 2

RU 2 2 2 4 5 0 5 C 2

Пример 17: Нано-дисперсия пальмитата витамина А

пальмитат витамина А	0,45 %
(1,7 x 10 ⁶ международных единиц/г)	
лецитин соевых бобов	1,73 %
miglyol 812	3,00 %
полисорбат 80	3,40 %
этанол	1,42 %
10 мм фосфатного буфера, рН 7,4	добавляют до 100,00 %

Нано-дисперсию получают по аналогии с процедурой Примера 8.

Пример 18: Нано-дисперсия солкосерила

солкосерил	1,00 %
лецитин соевых бобов	1,73 %
полисорбат 80	3,40 %
miglyol 812	3,45 %
этанол	1,42 %
10 мм фосфатного буфера, рН 6	добавляют до 100,00 %

Получение: Водную фазу, содержащую солкосерил (например, 90 кг), помещают в сосуд при перемешивании (например, магнитной мешалкой) при температуре 50°С. Жидкую предварительную фазу нано-дисперсии Примера 1 (например, 10 кг) добавляют в водную фазу при перемешивании (например, магнитной мешалкой).

Пример 19: Нано-дисперсия тридецилсалицилата

тридецилсалицилат	4,05 %
лецитин соевых бобов	1,10 %
полисорбат 80	2,60 %
miglyol 812	1,35 %
этанол	0,90 %

10 мм фосфатного буфера, pH 6 добавляют до 100,00 %

Получение: Водную фазу, содержащую солкосерил (например, 90 кг), помещают в сосуд при перемешивании (например, магнитной мешалкой) при температуре 50°С. Жидкую предварительную фазу нано-дисперсии Примера 7 (например, 10 кг) добавляют в водную фазу при перемешивании (например, магнитной мешалкой).

Размеры частиц и гранулометрический состав нано-дисперсий приведены в следующей Таблице 1.

Таблица 1

Нанодисперсия	Диаметр частиц¹ (нм)	Стандарт. Отклонен. (нм)	Гранулометрический состав
Нано-дисперсия miglyol 812 из Примера 8	13,8	4,1	Гаусса
Нано-дисперсия декспантенола из Примера 12	19,7	5,4	Гаусса
Нано-дисперсия ацетата витамина Е из Примера 14	12,2	5,5	Гаусса
Нано-дисперсия пальмитата витамина А из Примера 16	10,1	3,9	Гаусса
Нано-дисперсия солкосерила из Примера 18	7,3	3,4	Гаусса
Нано-дисперсия тридецил-салицилата из Примера 19	16,3	6,6	Гаусса

RU 2224505 C2

RU 2224505 C2

Как показано в следующих Таблицах, нано-дисперсии в соответствии с настоящим изобретением также имеют превосходную устойчивость при хранении:

Нано-дисперсия декспантенола (Пример 12)

Таблица 2

Условия хранения		рН	Диаметр ² (нм)	Стандарт. Отклонен. (нм)	Содержание декспантенола ³ (%)
Период (месяцы)	Темпер. (°С)				
0		6,1	19,7	5,4	5,37
	7	6,1	19,0	6,7	5,36
3	25	6,1	22,2	7,7	5,32
	40	6,3	36,6	14,2	5,23
6	7	6,1	20,8	7,3	5,30
	25	6,2	24,1	9,2	5,26
	40	6,4	35,4	17,7	5,20

² Размер частиц и гранулометрический состав определяют с помощью рассеяния лазерного света (субмикронный классификатор по размеру частиц Nicomp 370, объемное взвешивание)

³ Содержание декспантенола определяют с помощью жидкостной хроматографии высокого давления (ЖХВД)

Нано-дисперсия ацетата витамина Е (Пример 14)

Таблица 3

<u>Условия хранения</u>		<u>pH</u>	<u>Диаметр⁴</u> <u>(нм)</u>	<u>Стандарт.</u> <u>Отклонен.</u> <u>(нм)</u>	<u>Содержание</u> <u>ацетата</u> <u>витамина</u> <u>Е⁵ (%)</u>
<u>Период</u> <u>(месяцы)</u>	<u>Темпер.</u> <u>(°C)</u>				
0		6,1	12,2	5,5	2,04
	7	6,1	16,1	6,6	2,02
3	25	6,1	17,5	7,0	2,04
	40	6,0	15,4	6,8	2,01
	7	6,1	17,0	6,9	2,04
6	25	6,0	17,6	7,2	2,03
	40	6,0	20,8	7,9	2,02

Рабочие примеры в отношении составов для фармацевтического применения с нано-дисперсиями или предварительными фазами нано-дисперсий

Пример 20: Неаэрозольный распылитель с контролируемой 5 % дозой декспантенола

Нано-дисперсия по Примеру 12 100,00 %

Препарат обладает хорошим противовоспалительным действием.

⁴ Размер частиц и гранулометрический состав определяют с помощью рассеяния лазерного света

⁵ Содержание ацетата витамина Е определяют с помощью ЖХВД

RU 2 2 2 4 5 0 5 C 2

RU 2 2 2 4 5 0 5 C 2

Пример 21: Лосьон на основе ацетата витамина Е декспантанола

cera emulsificans cetomacrogolis	3,0 %
oleylium oleinicum	6,0 %
пропиленгликоль	3,0 %
нано-дисперсия Примера 12	10,0 %
нано-дисперсия Примера 14	10,0 %
дистиллированная вода	добавляют до 100,0 %

Препарат обладает хорошим противовоспалительным действием.

Пример 22: 2,5 % глазные капли с содержанием декспантанола

маннит	4,70 %
нано-дисперсия Примера 13	50,00 %
10 мм фосфатного буфера, рН 7,4	добавляют до 100,00 %

Препарат обладает хорошим противовоспалительным действием.

Пример 23: 0,1 % крем с содержанием пальмитата витамина А

цетиловый спирт	10,00 %
гидрогенизованное масло земляного ореха	20,00 %
полисорбат 60	5,00 %
пропиленгликоль	20,00 %
феноксизтанол	0,50 %
нано-дисперсия Примера 16	23,00 %
дистиллированная вода	добавляют до 100,0 %

Препарат обладает хорошим действием витамина А.

Пример 24: 0,1 % аэрозоль с содержанием пальмитата витамина А

натрий ЭДТК	0,05 %
маннит	4,70 %
нано-дисперсия Примера 17	23,00 %

10 мм фосфатного буфера, рН 7,4 добавляют до 100,00 %

Препарат обладает хорошим действием витамина А.

Пример 25: 1,0 % мазь с содержанием тридецилсалицилата

лимонная кислота	0,75 %
раствор аммиака	0,09 %
триглицерид средней цепи	5,00 %
unguentum alcoholum lanae aquosum DAB 9	40,00 %
нано-дисперсия Примера 19	25,00 %
дистиллированная вода	добавляют до 100,0 %

Препарат обладает хорошим кератинолитическим действием.

Пример 26: 0,5 % гидрогель с содержанием солкосерила

натрий карбоксиметилцеллюлоза 450 сР	3,50 %
нано-дисперсия Примера 18	50,00 %
дистиллированная вода	добавляют до 100,0 %

Препарат обладает приятным охлаждающим и хорошим противовоспалительным действием.

Пример 27: Неаэрозольный распылитель с контролируемой 1 % дозой солкосерила

Нано-дисперсия по Примеру 18	100,00 %
------------------------------	----------

Препарат обладает хорошим противовоспалительным действием.

Пример 28: Ампулы для питья с содержанием ацетата витамина Е

лимонная кислота	0,40 %
глюкоза	7,50 %
ароматическое средство	0,50 %
нано-дисперсия Примера 14	50,00 %

RU 2224505 C2

RU 2224505 C2

1. ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Это изобретение относится к образованию пептид/липидных везикул и комплексов посредством совместной лиофилизации пептидов, предпочтительно тех, которые способны принимать амфипатическую конформацию альфа-спирали, и одного или более липидов. Можно лиофилизировать единственный раствор, который солюбилизует как пептиды, так и липиды, или два отдельных раствора. Используют способы получения стабильных пептид/липидных везикул и комплексов, включая, но не ограничиваясь ими, мицеллярные, сферические и дисковидные комплексы в препаратах большой массы и меньшего размера, что может быть применимо для дозированных форм.

2. ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Липосомы представляют собой везикулы, образованные, по меньшей мере, одной липидной двухслойной мембраной, заключающими в себе водное ядро. Обычно фосфолипиды входят в состав липидного бислоя, но бислой может быть образован и другими липидами. Водный раствор в липосоме называется «захваченным объемом».

Липосомы, среди других способов применения, были разработаны в качестве носителей для доставки лекарственных веществ, косметических препаратов, биологически активных ве-

ществ. Липидный бислой инкапсулирует лекарственное вещество, косметический препарат, биологически активное соединение и тому подобное в захваченном объеме липосомы, и лекарственное вещество выбрасывается из липосомного ядра, когда липидный бислой приходит в контакт с мембраной поверхности клетки. Липосома выделяет свое содержимое в клетку с помощью липидного обмена, слияния, эндоцитоза или адсорбции. Ostro et al., 1989, Am. J. Hosp. Pharm. 46: 1576. Альтернативно, лекарственное вещество, косметическое вещество, биологически активное вещество и тому подобное могут быть связаны с липидным бислоем мембраны или включены в липидную бислойную мембрану везикулы.

В дополнение к везикулам, содержащие липид комплексы были использованы для доставки веществ в дисперсной форме. Например, многие исследователи обнаружили, что полезно изготавливать воспроизводимые похожие на липопротейн частицы или комплексы, которые имеют сходный размер и плотность, как у частиц липопротейна высокой плотности (ЛПВП). Эти воспроизводимые комплексы обычно состоят из очищенных апопротеинов (обычно апопротеина А-1) и фосфолипидов, таких как фосфатидилхолин. Иногда также включается неэтерифицированный холестерин. Наиболее общепринятыми способами получения этих частиц являются: (1) совместная обработка составляющих ультразвуком, или в ультразвуковой бане или с помощью ультразвукового зонда, (2) спонтанное взаимодействие белковой составляющей с предварительно сформированными липидными везикула-

ми, (3) опосредуемое детергентом воспроизведение с последующим удалением детергента путем диализа. Jonas, 1986, Meth. in Enzymol. 128: 553-582, Lins et al., 1993, Biochimica et Biophysica Acta, 1151: 137-142; Brouillette & Anantharamaiah, 1995, Biochimica et Biophysica Acta, 1256: 103-129; Jonas, 1992, Structure & Function of Apoproteins, Chapter 8: 217-250. Похожие комплексы были также сформированы путем замены апопротеиновых компонентов амфипатическими образующими спираль пептидами. К сожалению, каждый из этих способов представляет серьезные проблемы для образования больших количеств чистых комплексов на основе умеренной цены и эффективности. Кроме того, ни в одной из этих публикаций не описана совместная лиофилизация (солиофилизация) пептидов/или пептидных аналогов, которые способны принимать конформацию амфипатической альфа-спирали, и липида.

Известен ряд технологий получения липидных везикул и комплексов. Везикулы, или липосомы, были получены при использовании ряда методик с образованием различных типов везикул. Различные типы липосом включают: многослойные везикулы, небольшие однослойные везикулы и большие однослойные везикулы.

Гидратирование фосфолипидов (или других липидов) водным раствором может также приводить к диспергированию липидов и спонтанному образованию многослойных везикул («МСВ»). МСВ является липосомой со многими липидными бислоями, окружающими центральное водное ядро. Липосомы этих типов больше, чем

небольшие однослойные везикулы (НОВ) и могут быть диаметром 350-400 нм. МСВ были первоначально получены путем солюбилизации липидов в хлороформе в круглодонной колбе и выпаривания хлороформа до тех пор, пока не образовывался тонкий слой на стенке колбы. Добавляли водный раствор, и липидному слою давали регидратироваться. Когда жидкость в колбе заставляли вращаться или встряхивали, образовывались везикулы. Deamer et al., 1983, in *Liposomes* (Ostro, ed.), Marcel Dekker, Inc. New York (citing Bangham et al., 1965, *J. Mol. Biol.* 13:238). Johnson et al. затем сообщили, что этот способ позволяет получить также и однослойные везикулы. Johnson et al., 1971, *Biochim. Biophys. Acta* 233: 820.

Небольшие однослойные везикулы (НОВ) представляют собой липосомы с одним липидным бислоем, окружающим водное ядро. В зависимости от способа, использованного для получения НОВ, они могут меняться по размеру от 25 до 110 нм по диаметру. Первые НОВ были получены путем высушивания фосфолипидного препарата в хлороформе в атмосфере азота, добавления водного слоя до получения концентрации липида миллимолярного порядка и обработки раствора ультразвуком при 45°C до прозрачности. Deamer et al., 1983, in *Liposomes* (Ostro, ed.), Marcel Dekker, Inc. New York. НОВ, полученные таким образом, представляли липосомы диаметром в интервале 25 - 50 нм.

Другим способом изготовления НОВ является быстрая инъекция этанол/липидного раствора в водный раствор, который должен инкапсулироваться. Deamer et al., 1983, in *Liposomes*

(Ostro, ed.), Marcel Dekker, Inc. New York (citing Batzri et al., 1973, Biochim. Biophys. Acta 298: 1015). НОВ, полученные этим способом, имеют размеры в интервале 30-110 нм по диаметру.

НОВ могут быть также получены путем пропускания многослойных везикул через French пресс четыре раза при $1,38 \cdot 10^8$ н/м² (20000 фунт/дюйм²). Получаемые НОВ будут иметь размеры в интервале от 30 до 50 нм по диаметру. Deamer et al., 1983, in Liposomes (Ostro, ed.), Marcel Dekker, Inc. New York (citing Barenholz et al., 1979, FEBS Letters 99:210).

Многослойные и однослойные фосфолипидные везикулы могут быть также сформированы путем экструзии водных препаратов фосфолипидов при высоком давлении через мелкопористые мембраны (Hope et al., 1996, Chemistry and Physics of Lipids, 40: 89-107).

Большие однослойные везикулы (БОВ) похожи на НОВ тем, что они имеют один липидный бислой, окружающий центральное водное ядро, но БОВ значительно больше НОВ. В зависимости от составляющих их частей и способа, использованного для их получения, БОВ могут меняться по размеру от 50 до 1000 нм в диаметре. Deamer et al., 1983, in Liposomes (Ostro, ed.). Marcel Dekker, Inc. New York. БОВ обычно получают, используя один из трех способов: разбавление детергентом, выпаривание с обращением фазы, и инфузии.

При методике разбавления детергентом, используются растворы детергентов, таких как холат, дезоксихолат, октилгли-

козид, гептилгликозид и тритон X-100, для формирования мицелл из липидного препарата. Раствор затем диализируют для удаления детергента, что дает в результате образование липосом, Deamer et al., 1983, in Liposomes (Ostro, ed.), Marcel Dekker, Inc. New York. Этот способ требует больших затрат времени, и удаление детергента обычно является неполным. Присутствие детергента в конечном препарате может приводить к некоторой токсичности липосомного препарата и/или модификации физико-химических свойств липосомного препарата.

По методике выпаривания с обращением фазы липид солюбилизируют в водных-неполярных растворах с формированием обращенных мицелл. неполярный растворитель выпаривают, и мицеллы доводят до образования БОВ. Этот способ обычно требует большого количества липида.

По инфузионному методу солюбилизованный в неполярном растворе липид инжектируют в водный раствор, который нужно инкапсулировать. По мере того, как неполярный раствор выпаривается, липиды собираются на поверхности раздела газообразной и водной фаз. Липидные пленки образуют БОВ и олиголамеллярные липосомы в виде газовых пузырьков по водному раствору. Размер липосом создается фильтрованием. Deamer et al., 1983, in Liposomes (Ostro, ed.). Marcel Dekker, Inc. New York (цитирование Deamer et al., 1976, Biochim. Biophys. Acta 443:629 и Schieren et al., 1978, Biochim. Biophys. Acta 542:137). Инфузионные процедуры требуют довольно высокой температуры для инфузии и могут давать отно-

нительно низкую эффективность инкапсулирования. Deamer et al., 1983, in Liposomes (Ostro, ed.), Marcel Dekker, Inc. New York.

Целью исследований по липосомам являлась разработка липосомных препаратов, которые можно хранить в течение больших периодов времени до использования. Например, в патенте США № 4229360, Schneider et al., раскрывается способ дегидратирования липосом путем добавления гидрофильного соединения к коллоидной дисперсии липосом в водной жидкости и дегидратирования раствора, предпочтительно путем лиофилизации. Примерами гидрофильных соединений являются гидрофильные полимеры с высоким молекулярным весом или соединения с низким молекулярным весом, такие как сахароза.

В патенте США № 4411894, Schrank et al., раскрывается применение высоких концентраций сахарозы в препаратах липосом, обрабатываемых ультразвуком. Липосомы содержат растворимые в жире продукты в захваченном объеме, хотя препараты могут быть лиофилизированы, по этому способу нельзя было предотвратить потери значительного количества захватываемого содержимого, несмотря на высокие концентрации сахарозы.

Crowe et al., в патенте США № 4857319 раскрыл применение дисахаридов, таких как сахароза, мальтоза, лактоза и трегалоза, для стабилизации липосом, когда липосомы замораживают и сушат. Количество дисахаридов по отношению к содержанию липидного компонента (вес/вес) находится в интервале от 0,1:1 до 4:1. Crowe достиг большего успеха в сохранении

целостности липосом, используя этот способ, чем полученный по способу, описанному Schrank в патенте США № 4441894.

Janoff et al., в патенте США № 4880635 раскрывает способ дегидратирования липосом, при котором липосомы лиофилизируют в присутствии защищающих сахаров, таких как трегалоза и сахароза, предпочтительно, как с наружной, так и с внутренней стороны липидного бислоя. По методу Janoff et al. остается достаточно воды, так что регидратация высушенных липосом дает липосомы с существенной структурной сохранностью.

Однако в технике существует потребность в простом и эффективном по стоимости способе получения лиофилизированных пептид/липидных комплексов, которые могут быть затем регидратированы. Способ данного изобретения дает пептид/липидные смеси в стабильном лиофилизированном порошке, которые можно хранить, использовать в виде порошка, или использовать после регидратации для формирования пептид/липидных комплексов.

3. КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Это изобретение представляет способ получения пептид- или протеин-(фосфо)липидных комплексов или везикул, которые могут иметь свойства, сходные со свойствами липопротеинов высокой плотности (ЛПВП). При этом способе используется система растворителей, в которой, по меньшей мере, один пептид солюбилизируется в одном растворе, и, по меньшей мере, один липид солюбилизируется в другом растворе. Два раствора выби-

раются так, что они являются смешиваемыми друг с другом. Затем растворы соединяют и подученный раствор лиофилизируют.

Этот способ может быть также осуществлен с помощью второго типа системы растворителей, состоящей из раствора, в котором могут быть солюбилизированы как белок или пептид, так и липид. Этот раствор может быть единственным раствором, или может быть композитным раствором, полученным путем объединения двух или более растворов перед добавлением пептидов и липидов. Пептиды и липиды солюбилизируют в растворе или композитном растворе и затем пептид/липидный раствор лиофилизируют.

Предпочтительно, пептиды данного изобретения являются пептидами, которые способны принимать конформацию амфипатической спирали. В одном из конкретных воплощений этого изобретения пептид является белком, связывающим липид. В другом воплощении используются пептидные аналоги ApoA-I, ApoA-II, ApoA-IV, ApoC-I, ApoC-II, ApoC-III, ApoE, другие аполипопротеиновые аналоги и тому подобное вместо или в сочетании с пептидами. В другом конкретном воплощении этот способ используется для получения ApoA1 аналога/(фосфо)липидных комплексов, похожих на ЛПВП. ApoA1/липидные комплексы применимы для лечения нарушений, связанных с дислипопротеинемиями, включая, но не ограничиваясь ими, гиперхолестеринемию, гипертриглицеридемию, низкий уровень ЛПВП и дефицит аполипопротеина A-1, септический шок, для диагностических исследований *in vitro* в качестве маркеров для популяций с ЛПВП и

для использования при технологиях с получением оптического изображения.

Способ этого изобретения делает возможным получение пептид/липидных комплексов для парентерального введения, включая, но не ограничиваясь этим, внутривенное, внутривенное, внутривенное, подкожное, внутримышечное и болюсные инъекции животным и людям. Кроме того, пептид/липидные комплексы могут быть также изготовлены в виде лекарственных форм для перорального, ректального введения, введения через слизистую оболочку (например, в полости рта) или местного применения у животных и людей, или для экспериментов *in vitro*.

Способ может использоваться для крупномасштабного производства комплексов амфипатического пептида/фосфолипида, комплексов связывающего липид белка/фосфолипида и/или комплексов пептидного аналога ApoA1/фосфолипида. Лиофилизированный материал может быть получен для объемных препаратов или, альтернативно, смешанный пептид/липидный раствор может быть разделен по небольшим контейнерам (например, для единичных доз) перед лиофилизацией, и такие препараты с небольшим количеством могут быть получены в виде стерильных единичных дозированных лекарственных форм.

Лиофилизированный порошок, полученный по способу этого изобретения, может быть регидратирован до свободного от частиц стерильного раствора непосредственно перед инъекцией, или альтернативно, из лиофилизированного порошка может быть

RU 2224505 C2

RU 2224505 C2

изготовлена́ твердая дозированная лекарственная форма, и применяться непосредственно.

Этот способ может быть также пригоден для хранения соединений, которые в другом случае могут быть нестабильны или нерастворимы в отсутствие липидов.

Способ можно использовать для получения лекарственных форм продуктов для лечения или профилактики заболеваний у людей, включая такое применение, как совместное присутствие антигенов в вакцинах, лечение или профилактику дислипидемии, включая, но не ограничиваясь ими, гиперхолестеринемии, гипертриглицеридемию, низкий уровень ЛПВП и дефицит аполипопротеина А-1, сердечно-сосудистые заболевания, такие как атеросклероз, септический шок или инфекционные заболевания.

Способ может использоваться для получения комплексов, которые могли бы использоваться в качестве носителей для лекарств, в качестве переносчиков (для доставки лекарств, ДНК, генов), например, в печень или экстрапечёночные клетки, или в качестве средств для захвата и выведения токсинов (например, пестицидов, ЛПС и т.д.).

3.1. ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Так, как использовано здесь, «система растворителей» относится к одному или более растворителей, которые способны к солюбилизации пептидов и/или липидов и, если их более одного, которые смешиваются один с другим.

Так, как использовано здесь, под «пептид/липидными комплексами» подразумевается агрегация липидных фрагментов и пептидов, образующих частицы в пределах размеров липопротеинов высокой плотности (ЛПВП).

Так, как использовано здесь, «совместно лиофилизированный» относится к лиофилизации, высушиванию из замороженного состояния или вакуумного высушивания более, чем одного соединения (например, пептида, белка, липида, фосфолипида} в растворе в одном и том же сосуде. Например, липидный раствор может быть объединен с пептидным раствором в одном и том же сосуде, и полученную комбинацию растворов лиофилизируют вместе, тем самым лиофилизируя пептиды и липиды одновременно.

Так, как использовано здесь, «амфипатический пептид» или «амфипатические альфа-спиральные пептиды» означает пептиды, которые способны принимать амфипатическую или амфипатическую спиральную конформацию, соответственно. Амфипатическая альфа спираль является часто встречающимся вторичным структурным типом у биологически активных пептидов и белков. См. Amphipathic helix motif: classes and properties by Jere P. Segrest, Hans de Loof, Jan G. Dohlman, Christie G. Brouillette, and G.M. Anantharamaiah. PROTEINS: Structure Functions and Genetics 8: 103-117 (1990). Амфипатическая альфа-спираль является альфа-спиралью с противоположными полярными и неполярными поверхностями, ориентированными вдоль длинной оси спирали. Специфическое распределение заряженных остатков происходит, очевидно, по полярной поверхности. Ам-

фипатические спирали, по определению, являются комплементарными к полярно-неполярной поверхности контакта гидратированного объемного фосфолипида; эти связанные с липидом домены, как было установлено, взаимодействуют с фосфолипидом посредством своего частичного погружения на стыке между жирными ацильными цепями и полярными головными группами. Jere P. Segrest. Febs letters 1976, 69 (1): 111-114.

Термин «пептид» и «протеин» (белок) могут использоваться здесь взаимозаменяемо. Кроме того, пептидные аналоги этого изобретения могут быть пептидами, белками или не-пептидами, т.е. пептидомиметиками. Однако все аналоги, предпочтительно, являются биологически активными молекулами.

Термин «липид», как он использован здесь, включает, но не ограничивается этим, природные и синтетические фосфолипиды. Кроме того, термины «липид» и «фосфолипид» могут использоваться здесь взаимозаменяемо.

4. КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ РИСУНКОВ

Фигура 1: Superose 6 хроматография ЛПВП, полученного путем ультрацентрифугирования по плотности из 200 мкл человеческой сыворотки.

Фигура 2 (низ): Superose 6 хроматография (DPPC: пептид 1) (PVLDFRELLNELLEALKQKLLK; ПОСЛ ИД №:1) комплексов, полученных при отношении 1:1 (вес:вес).

Фигура 2 (верх): Superose 6 хроматография (DPPC: пептид 1) комплексов, полученных при отношении 2:1 (вес:вес).

Фигура 3 (низ): Superose 6 хроматография (DPPC: пептид 1) комплексов, полученных при отношении 3:1 (вес:вес).

Фигура 3 (верх): Superose 6 хроматография (DPPC: пептид 1) комплексов, полученных при отношении 4:1 (вес:вес).

Фигура 4 (низ): Superose 6 хроматография (DPPC: пептид 1) комплексов, полученных при отношении 5:1 (вес:вес).

Фигура 4 (верх): Superose 6 хроматография (DPPC: пептид 1) комплексов, полученных при отношении 7,5:1 (вес:вес).

Фигура 5: Superose 6 хроматография (DPPC: пептид 1) комплексов, полученных при отношении 10:1 (вес:вес).

Фигура 6: Superose 6 хроматография ^{14}C -меченых комплексов пептида 1 при $R_i = 3:1$.

Фигура 7: Superose 6 хроматография ^{14}C -меченых комплексов пептида 1 при $R_i = 4:1$.

Фигура 8: Superose 6 хроматография ^{14}C -меченых комплексов пептида 1 при $R_i = 5:1$.

5. ДЕТАЛЬНОЕ ОПИСАНИЕ ПРЕДПОЧТИТЕЛЬНЫХ ВОПЛОЩЕНИЙ

Амфипатические альфа-спиральные пептиды или белки, связывающие липид белки, пептиды-агонисты ApoA-1, аналоги апо-протеинов и тому подобное, которые применимы в данном изо-

бретении, могут быть синтезированы или произведены с использованием любой известной специалистам методики. Стабильные препараты пептидов, которые имеют длительные сроки хранения могут быть получены путем лиофилизации пептидов - или с получением массы для последующего изготовления лекарственной формы, или с получением отдельных препаратов определенных количеств или единичных доз, которые могут быть воспроизведены путем регидратации стерильной водой или соответствующего стерильного буферного раствора перед введением субъекту.

Насколько известно автору изобретения, это изобретение является первым примером способа совместной лиофилизации афипатического альфа-спирального пептида или аналога пептида с липидом для образования смеси, которая может воспроизводиться в стерильный пептид /липидный комплекс.

В некоторых воплощениях может быть предпочтительным изготавливать и вводить аналоги АроА-1, включая, но не ограничиваясь ими, агонисты АроА-1, в виде пептид-липидного комплекса. Этот подход имеет несколько преимуществ, так как комплекс должен обладать увеличенным полупериодом присутствия в кровообращении, особенно когда комплекс имеет размер и плотность, сходные с этими показателями у белков класса ЛПВП, особенно у популяций пре-бета-ЛПВП. Класс липопротеинов ЛПВП может быть разделен на ряд подклассов на основе таких характеристик, как размер, плотность и электрофоретическая подвижность. Некоторыми примерами в порядке уве-

личения размера являются мицеллярные пре-бета-ЛПВП диаметром от 50 до 60 Ангстрем, дисковидные ЛПВП промежуточного размера, т.е. с массой 65 кДа (примерно 70 Ангстрем), сферические ЛПВП₃ или ЛПВП₂ диаметром от 90 до 120 Ангстрем. (J. Kane, 1996 in V. Fuster, R. Rose and E. Topol [eds.] *Atherosclerosis and Coronary Artery Disease*, p. 99; A. Tall and J. Breslow, *ibid.*, p. 106; Barrans et al., *Biochemica et Biophysica Acta* 1300, p. 73-85; and Fielding et al., 1995, *J. Lipid res.* 36, p. 211-228). Однако пептид /липидные комплексы меньшего или большего размера, чем ЛПВП также могут формироваться по этому изобретению.

Пептид - липидные комплексы данного изобретения можно удобно получать в виде стабильных препаратов, имеющих длительный срок хранения, путем процедуры совместной лиофилизации, описанной ниже. Лиофилизированные пептид - липидные комплексы могут использоваться для изготовления массы лекарственного вещества, для фармацевтической переработки в лекарственные формы или для получения отдельных количеств или дозированных единиц, которые могут воспроизводиться путем регидратации стерильной водой или соответствующим буферным раствором перед введением субъекту.

Разработан простой способ получения пептида или протеин - (фосфо)липидных комплексов, которые обладают характеристиками, подобными характеристикам ЛПВП. Этот способ может быть использован для получения ApoA-1 пептид -липидных комплексов и имеет следующие преимущества: (1) Большинство или

все из включаемых ингредиентов используются для образования намеченных комплексов, и таким образом исключается потеря исходного материала, которая представляет собой общее явление при других способах. (2) Образуются лиофилизированные соединения, которые очень стабильны при хранении. Полученные комплексы могут воспроизводиться непосредственно перед использованием. (3) Полученные комплексы обычно не требуют дополнительной очистки перед изготовлением лекарственных форм или перед использованием. (4) Исключаются токсические соединения, включая детергенты, такие как холат. Кроме того, по этому способу получения может быть легко увеличен масштаб производства и он удобен для GMP производства (т.е. в среде без эндотоксинов).

По предпочтительному способу пептид и липид соединяют в системе растворителей, которая сорастворяет каждый ингредиент. Для этой цели должны быть тщательно выбраны пары растворителей, чтобы обеспечить совместное растворение как амфипатического пептида, так и гидрофобного липида.

В одном воплощении белок(ки) или пептид(ы), которые нужно заключить в частицы, могут быть растворены в водном или органическом растворителе или смеси растворителей (растворитель 1). (Фосфо)липидный компонент растворяют в водном или органическом растворителе или смеси растворителей (растворитель 2), который смешивается с растворителем 1, и два растворителя объединяют. Альтернативно, (фосфо)липидный компонент растворяют непосредственно в растворе пептида

(белка). Или же пептид и липид могут быть включены в систему соразтворителей, т.е. смесь способных смешиваться растворителей. Опытные специалисты поймут, что в зависимости от способности пептида или белка связываться с липидами может быть необходима усиленная или даже полная солюбилизация (и/или усиленное перемешивание) перед лиофилизацией; таким образом, могут быть соответственно выбраны растворители.

Соответствующее отношение пептида (белка) к липидам сначала определяется эмпирически, так что полученные комплексы обладают соответствующими физическими и химическими свойствами, обычно, но не всегда, означающими сходство по размеру с ЛПВП₂ или ЛПВП₃. Молярное отношение липида к белку/пептиду должно быть в интервале от примерно 2 до примерно 200, и предпочтительно, от 5 до 50, в зависимости от желаемого типа комплексов. Примеры таких классов по размеру пептид/липидных или протеин/липидных комплексов включают, но не ограничиваются ими, мицеллярные или дисковидные частицы (обычно меньше, чем ЛПВП₃ или ЛПВП₂), сферические частицы размера, сходного с ЛПВП₂ или ЛПВП₃, и большие комплексы, которые больше ЛПВП₂. ЛПВП, используемые в качестве стандарта при хроматографии (фигура 1), являются, в основном, сферическими зрелыми ЛПВП₂. Пре-β₁ ЛПВП являются мицеллярными комплексами аполипопротеина и нескольких молекул фосфолипидов. Пре-β₂ ЛПВП являются дисковидными комплексами аполипопротеина и молекул фосфолипидов. Чем больше включено липидов (триглицеридов, холестерина, фосфолипидов), тем большего

RU 2 2 2 4 5 0 5 C 2

RU 2 2 2 4 5 0 5 C 2

размера будет ЛПВП₁, и его форма изменяется. (Пре-β1 ЛПВП (мицеллярный комплекс) => Пре-β2 ЛПВП (дисковидный комплекс) => ЛПВП₃ (сферический комплекс) => ЛПВП₂ (сферический комплекс)).

Когда растворитель выбран и пептид и липид включены, полученную смесь замораживают и лиофилизируют до сухого остатка. Иногда к смеси для облегчения лиофилизации добавляют дополнительный растворитель. Этот лиофилизированный продукт можно хранить в течение длительных сроков, и он будет оставаться стабильным.

В рабочих примерах, описанных ниже, пептид PVLDLFRELLNELLEALKQKLIK (ПОСЛ ИД №: 1) и (фосфо)липид растворяли отдельно в метаноле, соединяли, затем смешивали с ксилолом перед лиофилизацией. Пептид и липид, оба могут быть добавлены в смесь двух растворителей. Альтернативно, раствор пептида в метаноле может быть смешан с раствором липида в ксилоле. Необходимо соблюдать осторожность, чтобы избежать высаливания пептида. Полученный раствор, содержащий пептид и липид, совместно растворенные в метаноле/ксилоле, лиофилизируют с образованием порошка.

Лиофилизированный продукт может быть воссоздан с получением раствора или суспензии пептид-липидного комплекса. С этой целью лиофилизированный порошок повторно гидратируют водным раствором до соответствующего объема (часто до примерно 5 мг пептида/мл, что удобно для внутривенной инъекции). При предпочтительном воплощении лиофилизированный по-

рошок повторно гидратируют фосфатно-буферным физиологическим раствором или физиологическим раствором соли. Смесь, возможно, нужно будет взбалтывать, или встряхивать для облегчения повторного гидратирования и, в большинстве случаев, стадия воссоздания должна проводиться при температуре, равной температуре фазового перехода липидного компонента комплексов, или превышающей её (T_m). В течение нескольких минут получается раствор воспроизведенных липидно-протеиновых комплексов (прозрачный раствор, когда комплексы небольшие).

У аликвотного образца, полученного возобновленного препарата, можно определить свойства для подтверждения того, что комплексы в препарате имеют желаемое распределение по размерам, например, размерное распределение ЛПВП. С этой целью может применяться гель-фильтрационная хроматография. В рабочих примерах, описанных ниже, использовали систему для гель-фильтрационной хроматографии жидкостной экспресс-хроматографии белков (ЖЭХБ; FPLC) Pharmacia Superose 6. Используемый элюент содержит 150 мМ NaCl в деионизированной воде. Обычный объем образца равен 20 - 200 микролитрам раствора комплексов, содержащего 5 мг пептида/мл. Скорость потока через колонку равна 0,5 мл/мин. В качестве стандартов для калибровки колонки используются серии белков с известным молекулярным весом и диаметром Стокса, а также человеческий ЛПВП. Белки и липопротеиновые комплексы контролируют по поглощению или рассеянию света при длине волны 254 или 280 нм.

RU 2224505 C2

RU 2224505 C2

Растворители, которые могут использоваться по способу данного изобретения, включают, но не ограничиваются ими, неполярные, полярные, апротонные и протонные органические растворители и тому подобное, такие как: этанол, метанол, циклогексан, 1-бутанол, изопропиловый спирт, ксилол, ТГФ, эфир, дихлорметан, бензол и хлороформ. Изобретение также включает использование смесей растворителей, так же как одного растворителя. Кроме того, перед использованием в данных способах органические растворители могут быть осушены для удаления воды; однако, для некоторых липидов, пептидов или белков могут использоваться гидратированные растворители или вода. Другими словами, подходящим растворителем может быть вода, или можно использовать обводненные растворители или смеси органического растворителя/воды, однако, если используется вода, она должна быть свободна от детергента. Как упомянуто выше, растворители, предпочтительно, должны быть наивысшей чистоты (чтобы избежать концентрирования примесей после лиофилизации), и растворители должны быть свободны от солей и частиц. Однако нет необходимости в том, чтобы растворители были стерильными, так как полученный продукт может быть простерилизован перед или после лиофилизации известными в фармации методами, такими, как способы, описанные в Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th and 18th eds., Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania (1980 и 1990), включенных сюда в виде ссылки полностью, и в Фармакопее США/National Formulary (USP/NF) XVII, включенных сюда в виде ссылки полностью.

RU 2 2 2 4 5 0 5 C 2

RU 2 2 2 4 5 0 5 C 2

Липиды, которые могут использоваться по способу получения данной композиции, включают, но не ограничиваются ими, природные и синтезированные (синтетические) липиды и фосфолипиды, включая фосфолипиды с небольшими алкильными цепями, яичный фосфатидилхолин, фосфатидилхолин из соевых бобов, дипальмитоилфосфатидилхолин, димиристоилфосфатидилхолин, дистеароилфосфатидилхолин, 1-миристоил-2-пальмитоилфосфатидилхолин, 1-пальмитоил-2-миристоилфосфатидилхолин, 1-пальмитоил-2-стеароилфосфатидилхолин, 1-стеароил-2-пальмитоилфосфатидилхолин, диолеоилфосфатидилхолин, диолеоилфосфатидилэтаноламин, дилауроилфосфатидилглицеринфосфатидилхолин, фосфатидилсерин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилинозит, сфингомиелинсфинголипиды, фосфатидилглицерин, дифосфатидилглицерин, димиристоилфосфатидилглицерин, дипальмитоилфосфатидилглицерин, дистеароилфосфатидилглицерин, диолеоилфосфатидилглицерин, димиристоилфосфатидная кислота, дипальмитоилфосфатидная кислота, димиристоилфосфатидилэтаноламин, дипальмитоилфосфатидилэтаноламин, димиристоилфосфатидилсерин, дипальмитоилфосфатидилсерин головного мозга, сфингомиелин головного мозга, дипальмитоилсфингомиелин, дистеароилсфингомиелин, фосфатидная кислота, галактоцереброзид, ганглиозиды, цереброзиды, дилаурилфосфатидилхолин, (1,3)-D-маннозил (1,3) диглицерид, аминифенилгликозид, 3-холестерил-6'- (гликозилтио)гексилэфирные гликолипиды и холестерин и его производные.

RU 2224505 C2

RU 2224505 C2

Пептиды, пригодные для использования в данном изобретении, включают, но не ограничиваются описанные в заявках: US 08/940,095 (ныне патент США 6,046,166) и US 08/940,093 (ныне патент США 6,037,323), каждая из которых включена сюда во всей полноте в качестве ссылки.

случае, то, что осадки должны быть растворены или удалены перед смешиванием или перемешиванием раствором липида и пептида или перед лиофилизацией.

Способ может использоваться для крупномасштабного производства пептид/липидных комплексов, амфипатических пептид/(фосфо)липидных комплексов, связывающий липид белок/(фосфо)липидных комплексов и/или ApoA1 пептидный аналог/(фосфо)липидных комплексов. Лиофилизированный материал может быть получен в виде объемного препарата, или же смешанный пептид/липидный раствор может быть разделен на порции в небольшие контейнеры (например, на дозы для одного введения) перед лиофилизацией, и такие небольшие порции могут быть изготовлены в виде стерильных единичных дозированных форм.

Композиции данного изобретения, высушенные под вакуумом, могут быть представлены в единичной дозе или в виде контейнера для многократного введения дозы путем асептического заполнения соответствующих контейнеров стерильным раствором перед вакуумной сушкой до предписанного содержания,