

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **047398**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

- (45) Дата публикации и выдачи патента
2024.07.16
- (21) Номер заявки
202193176
- (22) Дата подачи заявки
2020.06.21
- (51) Int. Cl. **A61K 31/685** (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 9/107 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
A61P 27/12 (2006.01)

(54) **ПРИМЕНЕНИЕ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ КОМПОЗИЦИИ НА ОСНОВЕ
СОЕДИНЕНИЙ ФОСФАТИДИЛХОЛИНА ДЛЯ ВНУТРИВЕННОГО ВВЕДЕНИЯ ДЛЯ
ПРОФИЛАКТИКИ И/ИЛИ ЛЕЧЕНИЯ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ**

- (31) **62/864,073**
- (32) **2019.06.20**
- (33) **US**
- (43) **2022.04.07**
- (86) **PCT/EP2020/067263**
- (87) **WO 2020/254675 2020.12.24**
- (71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**АКЕР БИОМАРИН ХЬЮМАН
ИНГРЕДИЕНТС АС (NO)**
- (72) Изобретатель:
**Сколем Лотте, Михрен Финн, Оем
Нильс, Хальс Петгер-Артг, Берг
Сторсве Андреас, Хати Арменд
Газмено (NO)**
- (74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)
- (56) **WO-A1-2015048554**
US-A1-2018325924
WO-A1-2018162617
**HACHEM MAYSSA ET AL.: "Efficient
Docosahexaenoic Acid Uptake by the Brain
from a Structured Phospholipid", MOLECULAR
NEUROBIOLOGY, HUMANA PRESS, US, vol. 53,
no. 5, 4 June 2015 (2015-06-04), pages 3205-3215,
XP036236430, ISSN: 0893-7648, DOI:10.1007/
S12035-015-9228-9 [retrieved on 2015-06-04], the
whole document in particular: abstract; fig. 1 and
4; "imaging incorporation ...auriography" on page
3207; "distribution of radioactive DHA in rat tissues ...
DHA2" on pages 3209-3210**
WO-A1-2017006047
WO-A1-2019123015

-
- (57) Настоящее изобретение относится к применению фармацевтической композиции для внутривенного введения, содержащей соединения фосфатидилхолина, несущие жирную кислоту омега-3, для профилактики и/или лечения черепно-мозговой травмы.
-

B1

047398

047398
B1

Область техники изобретения

Настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям фосфолипидов и, в частности, к фармацевтическим композициям, которые вводятся внутривенно. В частности, настоящее изобретение обеспечивает фармацевтические композиции для внутривенного введения, содержащие соединения, производные фосфатидилхолина, несущие жирную кислоту омега-3, для применения в профилактике и/или лечении черепно-мозговой травмы.

Уровень техники

Докозагексаеновая кислота (DHA), незаменимая жирная кислота омега-3, исключительно сконцентрирована в головном мозге, нервных тканях и сетчатке глаза и необходима для нормального неврологического развития и функционирования. Дефицит DHA связан с несколькими неврологическими расстройствами, включая болезнь Альцгеймера, Паркинсона, шизофрению и депрессию.

В отличие от печени, головной мозг не может эффективно преобразовывать поступающую с пищей альфа-линоленовую кислоту (18:3, n-3) в DHA и почти полностью зависит от поглощения готовой DHA из плазмы крови. Однако добавление к пище доступных в настоящее время препаратов DHA, таких как рыбий жир, DHA водорослей, DHA-обогащенные яичные фосфолипиды и сардины, не приводит к заметному увеличению уровней DHA в головном мозге взрослых млекопитающих, хотя периферические ткани обогащены DHA в таких же условиях.

Одно из возможных объяснений этого заключается в том, что DHA из вышеуказанных добавок гидролизуется до DHA в свободной форме ферментами поджелудочной железы и абсорбируется в виде триацилглицерина (TAG) в хиломикронах, тогда как головной мозг однозначно поглощает DHA в форме лизофосфатидилхолина (LPC). Недавняя демонстрация переносчика (Mfsd2a) на гематоэнцефалическом барьере (Nature. 2014 May 22;509(7501):503-6), который специфически транспортирует LPC-DHA, но не DHA в свободной форме, дополнительно поддерживает этот механизм. Поэтому было выдвинуто предположение, что необходимо увеличить уровни LPC-DHA в плазме крови для эффективного обогащения DHA головного мозга.

Для повышения уровня LPC-DHA в плазме крови недавно было предложено, что поступающая с пищей DHA, содержащаяся в положении sn-1 фосфатидилхолина (PC) или в форме LPC в рационе, может избежать гидролиза PLA2 поджелудочной железы и может абсорбироваться как PC-DHA. Кроме того, была выдвинута гипотеза, что PC-DHA с большей вероятностью будет поглощаться головным мозгом после преобразования в LPC-DHA в плазме крови или печени фосфолипазами, по сравнению с TAG-DHA, которая требует обширных метаболических преобразований в печени для образования LPC-DHA.

Последующее исследование предшествующего уровня техники подтвердило вышеупомянутую гипотезу в том, что количество DHA, которое абсорбируется в форме фосфолипида, действительно может быть увеличено до 5 раз за счет предоставления DHA в форме LPC по сравнению с DHA в свободной форме. Также было обнаружено, что включение DHA в ЛПВП кишечного происхождения увеличивалось в 2 раза во время поглощения LPC-DHA по сравнению с поглощением DHA в свободной форме.

В вышеупомянутом исследовании также было проверено, увеличивает ли повышенное поглощение DHA в форме фосфолипидов не только уровни DHA в головном мозге, но также улучшает когнитивные способности и память у здоровых взрослых мышей. Включение поступающей с пищей DHA в свободной форме и LPC-DHA в головной мозг и другие ткани сравнивали после ежедневного введения соединений через зонд в носитель из кукурузного масла в течение 30 дней. Результаты показали, что содержание DHA в большинстве областей головного мозга более чем удваивается за счет поступления с пищей LPC-DHA, но не за счет поступления с пищей DHA в свободной форме, которая, однако, обогащает другие ткани. Кроме того, мыши, получавшие LPC-DHA, также продемонстрировали заметное улучшение пространственного обучения и памяти в тесте водного лабиринта Морриса. Эти исследования были первыми, которые продемонстрировали целевое обогащение головного мозга DHA с помощью питания, ведущее к функциональному улучшению памяти у здоровых взрослых мышей, и вопрос в том, может ли эта стратегия лечения также иметь потенциал для профилактики и лечения других неврологических расстройств, которые связаны с низкими уровнями DHA в головном мозге или которые будут иметь благоприятный эффект при повышении уровня DHA в головном мозге.

Черепно-мозговая травма (ТВИ) представляет собой неврологическое нарушение, являющееся основной причиной смерти и постоянной инвалидности у людей в возрасте до 45 лет, которым может помочь повышение уровня DHA в головном мозге. Эта травма часто встречается у военнослужащих и профессиональных спортсменов, приводя к потере функции конечностей, нарушению речи, нарушениям памяти и эмоциональным реакциям. Это многогранное заболевание с длительным вторичным патогенезом эксайтотоксичности, окислительного стресса, воспаления и длительными неблагоприятными неврологическими последствиями, такими как вторичная эпилепсия, хронические головные боли, посттравматическое стрессовое расстройство, нейрокогнитивный дефицит, а также нейродегенеративные заболевания болезни Альцгеймера или Паркинсонизм. Текущие методы лечения ТВИ сосредоточены на контроле внутричерепного давления, профилактике и лечении гипотонии и достаточной вентиляции, но никакого конкретного лечения специально для нейрозащиты и восстановления не предусмотрено.

Недавние исследования на животных показали, что прием пищевых добавок с DHA до или после

TBI улучшает функциональные результаты (Brain Injury. ASN Neuro 7, 1-15, 2015). Исследования механизма показывают, что ДНА влияет на множество аспектов патологического молекулярного сигнального каскада, включая снижение нейровоспаления и окислительного стресса, нейротрофическую поддержку и активацию путей выживания клеток. Повышенный уровень ДНА в плазме крови наблюдался в день 1, но снизился через 3 дня после травмы (J Neurosci. 30, 3220-3226, 2010).

Ввиду вышеизложенного очевидно, что существует ряд различных состояний, в частности неврологических состояний и, в частности, TBI, при которых повышение уровней ДНА в головном мозге может иметь благоприятный эффект. Кроме того, ранее была выдвинута гипотеза, что повышение уровней LPC-ДНА в плазме крови является предпосылкой для эффективного повышения уровней ДНА в головном мозге.

Таким образом, в данной области техники необходимы средства для увеличения уровней LPC-ДНА в сыворотке крови.

LPC обнаруживается только в следовых количествах в большинстве тканей животных, поскольку известно, что более высокие концентрации способствуют разрушению клеточных мембран. Для снижения эффективной концентрации в плазме крови до безопасного уровня молекулы LPC обычно связываются с альбумином и липопротеинами в сыворотке крови.

Таким образом, любые повышенные уровни LPC-ДНА в плазме крови предпочтительно должны поддерживаться на безопасном уровне, чтобы избежать разрушения клеточных мембран и других потенциальных побочных эффектов.

Кроме того, ранее предполагалось, что поступающая с пищей ДНА, предусмотренная в положении sn-1 фосфатидилхолина (PC) или в форме LPC в рационе, может быть эффективным способом повышения уровней LPC-ДНА в сыворотке крови. Однако в случае неврологического состояния, такого как TBI, время от приема поступающей с пищей ДНА до повышения уровня LPC-ДНА в сыворотке крови может иметь первостепенное значение.

Таким образом, в данной области техники существует острая потребность в средствах для быстрого повышения уровней LPC-ДНА в плазме крови.

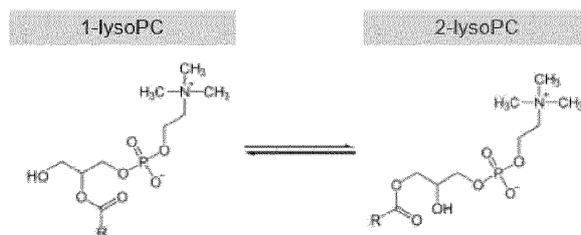
Еще одна проблема, которую следует учитывать, состоит в необходимости постоянного поступления ДНА в головной мозг. Хорошо известно, что вводимые лекарственные средства обычно удаляются из кровотока посредством различных процессов выведения, и такие процессы выведения LPC-ДНА, конечно, могут представлять потенциальную проблему, которую необходимо решить.

Таким образом, в данной области техники существует потребность в средствах повышения уровней LPC-ДНА в сыворотке крови, которые также обеспечивают высокий уровень в плазме крови в течение продолжительного периода времени.

Средства, которые решают большую часть или все вышеупомянутые проблемы, могут иметь потенциал быть профилактическим и/или терапевтическим средством для ряда различных состояний, которые могут получить пользу от повышенных уровней ДНА в головном мозге. Примерами таких состояний являются неврологические состояния, такие как депрессия, шизофрения, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона или черепно-мозговые травмы. Неограничивающий список других состояний, которым может помочь повышение уровня ДНА в головном мозге, - это посттравматическое стрессовое расстройство (PTSD) и тревожность.

Вышеупомянутое обсуждение было сосредоточено на уровнях ДНА в головном мозге. Однако специалисту в данной области будут известны другие жирные кислоты омега-3, которые также считаются важными для нормального неврологического развития и функции мозга, прямо или косвенно в том смысле, что они могут превращаться в жирные кислоты омега-3, которые важны для нормального неврологического развития и функционирования. Неограничивающий список таких жирных кислот омега-3, которые, как предполагается, влияют на неврологическое развитие и функцию головного мозга, включает докозапентаеновую кислоту (n3-DPA), стеариноновую кислоту (SDA) и эйкозапентаеновую кислоту (EPA), α -линоленовая кислота (ALA) представляет собой еще одну жирную кислоту омега-3, которая может влиять на неврологическое развитие и функцию мозга. Таким образом, преимущество повышенного уровня LPC-ДНА в сыворотке крови одинаково актуально в отношении LPC-DPA, LPC-SDA, LPC-EPA и LPC-ALA; и, в частности, LPC-DPA, LPC-SDA и LPC-EPA.

Кроме того, в данной области было некоторое обсуждение того, может ли на поглощение жирных кислот омега-3 головным мозгом влиять расположение жирной кислоты омега-3 в молекуле LPC, то есть находится ли жирная кислота омега-3 в положении sn2 (2-LPC) или sn1 (1-LPC) молекулы LPC. Однако специалист в данной области будет знать, что существует равновесие между этими двумя формами LPC, где равновесная смесь 90% 2-lysoPC и 10% 1-lysoPC обычно достигается с полупериодом около 10 мин в физиологических условиях.



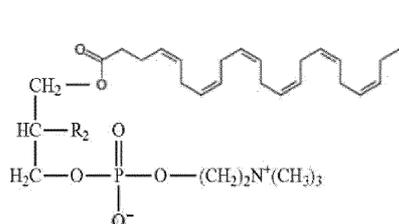
В тех случаях, когда было бы интересно иметь соотношение 1-LPC и 2-LPC, которое отличается от нормального равновесия в физиологических условиях, или иметь композицию только с LPC-1 или LPC-2, существуют соединения, которые были разработаны, которые блокируют миграцию ацильной группы из положения sn-1 остова глицерина в положение sn-2 и наоборот. Это было достигнуто путем введения в реакцию OH-группы на остова глицерина с защитной группой, такой как, например, O-CO-CH₃ (WO 2018162617, WO 2008068413).

Сущность изобретения

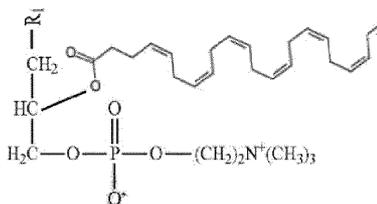
Авторы настоящего изобретения решили вышеупомянутые потребности, предоставив фармацевтические композиции для внутривенного введения, содержащие соединения-производные фосфатидилхолина, несущие жирную кислоту омега-3. Фармацевтическая композиция была разработана для внутривенного введения, и неожиданно было показано, что она вызывает значительное увеличение поглощения омега-3 жирной кислоты головным мозгом с высокой скоростью и в течение длительного периода времени.

Таким образом, настоящее изобретение относится к применению фармацевтической композиции, подходящей для внутривенного введения, для профилактики и/или лечения черепно-мозговой травмы; фармацевтическая композиция содержит один или более активных компонентов и один или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ; один или более активных компонентов включает соединение формулы 1 или его фармацевтически приемлемую соль и/или соединение формулы 3 или его фармацевтически приемлемую соль.

Формула 1



Формула 3



где R₁ представляет собой OH или O-CO-(CH₂)_n-CH₃;
R₂ представляет собой OH или O-CO-(CH₂)_n-CH₃; и
n равно 0, 1 или 2.

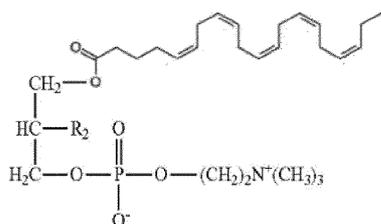
В одном варианте осуществления настоящего изобретения одно или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ выбраны из группы, состоящей из одного или более компонентов, подходящих для солюбилизации одного или более активных компонентов; одного или более компонентов с эмульгирующими свойствами; и одного или более компонентов для приведения тоничности в соответствие с физиологическими условиями.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения одно или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ включает один или более антиоксидантов, таких как α-токоферол, аскорбиновая кислота, мезилат дефероксамина, тиогликолевая кислота.

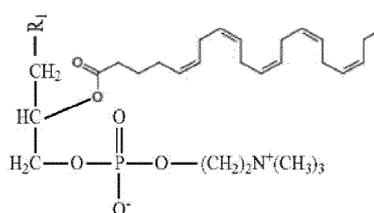
В одном варианте осуществления настоящего изобретения фармацевтическая композиция дополнительно содержит по меньшей мере один фармацевтически приемлемый липидный носитель, такой как липосомы.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения один или более активных компонентов дополнительно содержит соединение формулы 2 или его фармацевтически приемлемую соль и/или соединение формулы 4 или его фармацевтически приемлемую соль

Формула 2



Формула 4



где R_1 представляет собой OH или $\text{O-CO-(CH}_2)_n\text{-CH}_3$;

R_2 представляет собой OH или $\text{O-CO-(CH}_2)_n\text{-CH}_3$; и

n равно 0, 1 или 2.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения R_1 представляет собой OH , и R_2 представляет собой OH .

В одном варианте осуществления настоящего изобретения R_2 в формулах 1 и 2 представляет собой $-\text{OH}$ и R_1 в формулах 3 и 4 представляет собой $-\text{OH}$, так что формулы 1 и 3 определяют lysoPC-DHA и формулы 2 и 4 определяют lysoPC-EPA, и молярное отношение lysoPC-DHA: lysoPC-EPA находится в диапазоне от 1:1 до 10:1.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения один или более активных компонентов составляет от 10 до 99% по массе фармацевтической композиции.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения один или более активных компонентов составляет от 50 до 99% по массе фармацевтической композиции.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения черепно-мозговая травма представляет собой закрытую черепно-мозговую травму.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения внутривенное введение осуществляют путем одной или более инъекций.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения внутривенное введение осуществляют с помощью менее 5 инъекций.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения внутривенное введение осуществляют путем инфузии в течение более 6 ч.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения фармацевтическую композицию применяют для профилактики черепно-мозговой травмы; и фармацевтическую композицию вводят в профилактически эффективном количестве в течение достаточного периода времени до начала деятельности, связанной с риском черепно-мозговой травмы, для снижения риска патологических эффектов черепно-мозговой травмы.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения черепно-мозговая травма не включает повреждение мозга, вызванное ишемией/реперфузией.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1-4 показан % дозы на орган (головной мозг, кровь, почки и селезенку соответственно) после однократного внутривенного введения $[^{14}\text{C}]$ -LPC-DHA самцам крыс-альбиносов в целевой дозе 190 мг/кг. Эксперименты, которые составляют основу представленных данных, раскрыты в примере 2.

На фиг. 5-8 показан % дозы на орган (головной мозг, кровь, почки и селезенку соответственно) после однократного внутривенного введения $[^{14}\text{C}]$ -LPC-EPA самцам крыс-альбиносов в целевой дозе 190 мг/кг. Эксперименты, которые составляют основу представленных данных, раскрыты в примере 2.

На фиг. 9 показана общая структура компартментной фармакокинетической модели, использованной в примере 4, для изучения усвоения при различных проблемах внутривенного введения $[^{14}\text{C}]$ -LPC-DHA и $[^{14}\text{C}]$ -LPC-EPA.

На фиг. 10а показаны профили ДНА в плазме крови и крови после перорального введения $[^{14}\text{C}]$ -PL-DHA (где фосфолипид, PL, представляет собой фосфатидилхолин, PC) в соответствии с моделью, описанной в примере 4. Линия с наивысшим пиком в начале представляет собой профиль плазмы крови.

На фиг. 10б показаны профили EPA в плазме крови и крови после перорального введения $[^{14}\text{C}]$ -PL-EPA (где фосфолипид, PL, представляет собой фосфатидилхолин, PC) в соответствии с моделью, описанной в примере 4. Линия с наивысшим пиком в начале представляет собой профиль плазмы крови.

На фиг. 11а показаны профили EPA в плазме крови и крови после перорального введения $[^{14}\text{C}]$ -LPC-EPA в соответствии с моделью, описанной в примере 4. Две линии с концентрацией пика > 1 мкг/мл представляют собой профиль плазмы крови, а две другие линии представляют собой профиль крови.

На фиг. 11б показаны профили ДНА в плазме крови и крови после перорального введения $[^{14}\text{C}]$ -LPC-DHA в соответствии с моделью, описанной в примере 4. Две линии с концентрацией пика > 1 мкг/мл представляют собой профиль плазмы крови, а две другие линии представляют собой профиль крови.

На фиг. 12а показаны профили ДНА в плазме крови и крови после внутривенного введения $[^{14}\text{C}]$ -

LPC-DHA в соответствии с моделью, описанной в примере 4.

На фиг. 12b показаны профили EPA в плазме крови и крови после внутривенного введения [^{14}C]-LPC-EPA в соответствии с моделью, описанной в примере 4.

На фиг. 13 представлено графическое изображение моделированного использования долгосрочной постоянной инфузии (непрерывная инфузия LPC-DHA в течение 48 ч) по сравнению с болюсной инъекцией DHA (как описано в примере 4).

На фиг. 14 показана LPC-DHA в плазме крови (нг/мл), полученная через 0 недель (T0, исходный уровень), 2 недели (T1) и 3 недели (T2) после перорального желудочного зондирования в соответствии с процедурой, описанной в примере 5.

На фиг. 15 показана LPC-EPA в плазме крови (нг/мл), полученная через 0 недель (T0, исходный уровень), 2 недели (T1) и 3 недели (T2) после перорального желудочного зондирования в соответствии с процедурой, описанной в примере 5.

На фиг. 16 показано содержание EPA во всем головном мозге при различных дозировках EPA в соответствии с процедурой примера 5. Как можно видеть, существует очень сильная зависимость дозы от ответа, при которой более высокие дозы EPA связаны с более высокими концентрациями EPA в головном мозге (нг/мг).

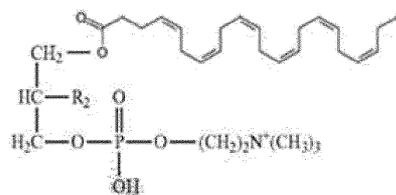
На фиг. 17 показана концентрация DHA в головном мозге по отношению к общему количеству жирных кислот для шести экспериментальных групп, указанных в примере 5.

На фиг. 18 показана концентрация DHA в головном мозге по отношению к арахидоновой кислоте (ARA; 20:4 n-6) для шести экспериментальных групп, указанных в примере 5.

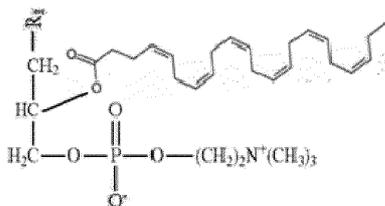
Определения.

По всему описанию настоящего изобретения соответствующие термины следует понимать в соответствии с их типичными значениями, установленными в соответствующей области техники, то есть в области фармацевтической химии, медицины, биологии, биохимии и физиологии. Однако для определенных терминов, изложенных ниже, предоставляются дополнительные пояснения и описания.

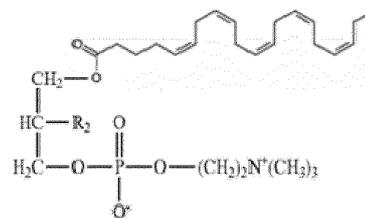
Формула 1



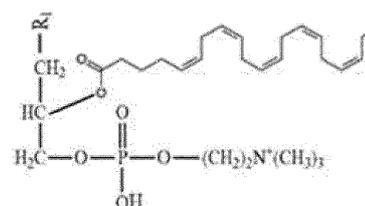
Формула 3



Формула 2



Формула 4



Термины "2-lysoPC-DHA" и "2-LPC-DHA" используются в данном документе взаимозаменяемо и относятся к соединению формулы 1, где R₂ представляет собой OH.

Термины "2-lysoPC-EPA" и "2-LPC-EPA" используются в данном документе взаимозаменяемо и относятся к соединению формулы 2, где R₂ представляет собой OH.

Термины "1-lysoPC-DHA" и "1-LPC-DHA" используются в данном документе взаимозаменяемо и относятся к соединению формулы 3, где R₁ представляет собой OH.

Термины "1-lysoPC-EPA" и "1-LPC-EPA" используются в данном документе взаимозаменяемо и относятся к соединению формулы 4, где R₁ представляет собой OH.

Термины "lysoPC-DHA" и "LPC-DHA" используются в данном документе взаимозаменяемо и включают как 1-lysoPC-DHA, так и 2-lysoPC-DHA.

Термины "lysoPC-EPA" и "LPC-EPA" используются в данном документе взаимозаменяемо и включают как 1-lysoPC-EPA, так и 2-lysoPC-EPA.

Термин "EPA" относится к эйкозапентаеновой кислоте.

Термин "DHA" относится к докозапентаеновой кислоте.

Термин "уровни EPA в головном мозге" относится к уровням EPA в головном мозге.

Термин "уровни DHA в головном мозге" относится к уровням DHA в головном мозге.

Используемый в данном документе термин "внутривенное введение" относится к способу введения, при котором жидкое вещество доставляется непосредственно в вену. Внутривенный путь введения мож-

но использовать для инъекций (с помощью шприца при более высоком давлении) или инфузий (обычно с использованием только давления, создаваемого силой тяжести).

Термин "фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества" относится к веществам, отличным от одного или более активных компонентов, указанных в формуле изобретения, и которые обычно используются с масляными лекарственными средствами. Такие вспомогательные вещества включают, помимо прочего, триолеин, соевое масло, сафлоровое масло, кунжутное масло, касторовое масло, кокосовое масло, триглицериды, трибутирин, трикапроин, трикаприлин, витамин Е, антиоксиданты, α -токоферол, аскорбиновую кислоту, мезилат дефероксамина, тиогликолевую кислоту, эмульгаторы, лецитин, полисорбат 80, метилцеллюлозу, желатин, сывороточный альбумин, сорбитана лаурат, сорбитана олеат, триолеат сорбитана, полиэтиленгликоль (PEG), PEG 400, модифицированный полиэтиленгликолем фосфатидилэтаноламин (PEG-PE), полоксамеры, глицерин, ксилит, средства для регулирования pH; гидроксид натрия, противомикробные средства ЭДТА, бензоат натрия, бензиловый спирт и белки, такие как альбумин. Фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества должны быть приемлемыми в том смысле, что они совместимы с другими ингредиентами композиции и не вредны для их реципиента.

Используемый в данном документе термин "фармацевтически приемлемая соль" относится к фармацевтически приемлемым солям, полученным из множества органических и неорганических противоионов, хорошо известных в данной области техники, и включает, только в качестве примера, натрий, калий, кальций, магний, аммоний и тетраалкиламмоний, а если молекула содержит основную функциональную группу, соли органических или неорганических кислот, таких как гидрохлорид, гидробромид, тартрат, мезилат, ацетат, малеат и оксалат. Подходящие соли включают соли, описанные в P. Heinrich Stahl, Camille G. Wermuth (Eds.), Handbook of Pharmaceutical Sol properties, Selection, and Use; 2002.

Термин "профилактика" означает меры, принимаемые для предотвращения, а не лечения заболеваний или состояний.

Используемый в данном документе термин "пролекарство" означает соединение, которое после введения метаболизируется (т.е. превращается в организме) в фармакологически активное лекарственное средство.

Используемый в данном документе термин "черепно-мозговая травма" или "ТВИ" относится к приобретенному повреждению головного мозга или травме головы, когда травма вызывает повреждение головного мозга. Повреждение может быть очаговым, то есть ограничиваться одной областью мозга, или диффузным, затрагивая более одной области мозга.

Используемый в данном документе термин "закрытая травма головы" относится к травме головного мозга, когда голова внезапно и сильно ударяется о предмет, но этот предмет не пробивает череп.

Подробное описание изобретения

Если в данном документе не указано иное, все используемые технические и научные термины имеют то же значение, которое обычно понимается квалифицированным специалистом в области медицины, фармакологии, фармацевтической химии, биологии, биохимии и физиологии.

Все методы и материалы, аналогичные или эквивалентные описанным в данном документе, могут быть использованы на практике или при тестировании настоящего изобретения, причем подходящие методы и материалы описаны в данном документе. Все публикации, заявки на патенты, патенты и другие ссылки, упомянутые в данном документе, полностью включены посредством ссылки. В случае противоречия преимущественную силу имеет настоящее описание, включая определения.

Если в данном документе указан числовой предел или диапазон, включены конечные точки. Кроме того, все значения и поддиапазоны в пределах числового предела или диапазона конкретно включены, как если бы они были явно записаны.

Как обсуждалось выше, существует ряд заболеваний, включая неврологические состояния (такие как ТВИ), посттравматическое стрессовое расстройство и тревожность, которые либо связаны с низкими церебральными уровнями омега-3, либо которые могут иметь выгоду от повышенных уровней омега-3 в головном мозге. DHA, EPA, DPA и SDA представляют собой жирные кислоты омега-3, представляющие особый интерес в этом отношении.

Таким образом, существует потребность в средствах для повышения уровней жирных кислот омега-3 в головном мозге и, в частности, для повышения уровней DHA, EPA, DPA и/или SDA в головном мозге.

В отличие от других тканей, потребление омега-3 не происходит через рецепторы липопротеинов в головном мозге, и в настоящее время ведутся дискуссии относительно молекулярного переносчика омега-3 в головной мозг. Предыдущие исследования на животных показали, что DHA в форме LPC проходит через BBB гораздо быстрее, чем в виде жирной кислоты в свободной форме. С другой стороны, недавние кинетические исследования Chen et al. (Sci Rep. 2015; 5: 15791) предположили, что DHA в свободной форме в плазме крови является основным источником снабжения головного мозга, хотя они также сообщили, что потребление LPC-DHA головным мозгом было выше, чем потребление DHA в свободной форме.

Таким образом, существует потребность в средствах для повышения уровней жирных кислот омега-3 в сыворотке крови, поскольку это, по-видимому, является предпосылкой для повышения уровней жир-

ных кислот омега-3 в головном мозге.

Поскольку форма омега-3 в сыворотке крови может влиять на потребление этих жирных кислот в головном мозге, чрезвычайно важным может быть определение носителя омега-3, который может доставлять форму омега-3 в сыворотку крови, которая эффективно потребляется мозгом. Основываясь на недавней идентификации специфического переносчика (Mfsd2a) в эндотелиальных клетках BBB, который избирательно транспортирует LPC-форму ДНА через BBB, есть основания предполагать, что повышенные уровни LPC-омега-3 в сыворотке крови будут эффективным способом увеличения содержания соответствующих жирных кислот омега-3 в головном мозге.

Таким образом, существует острая необходимость в средствах для повышения уровней LPC-омега-3 в сыворотке крови.

Ранее предполагалось, что поступающая с пищей ДНА, предусмотренная в положении sn-1 фосфатидилхолина (PC) или в форме LPC в рационе, может быть эффективным способом повышения уровней LPC-ДНА в сыворотке крови. Однако в случае неврологического состояния, такого как ТВИ, время от приема поступающей с пищей ДНА до повышения уровня LPC-ДНА в сыворотке крови может иметь первостепенное значение.

Таким образом, в данной области техники существует острая потребность в средствах для быстрого повышения уровней LPC-ДНА в сыворотке крови.

Кроме того, LPC обнаруживается только в следовых количествах в большинстве тканей животных, поскольку известно, что более высокие концентрации способствуют разрушению клеточных мембран (US 2016/0022711, PharmSciTech, Vol. 11, No. 4, December 2010).

Таким образом, в данной области техники существует потребность в средствах для повышения уровней LPC-омега-3 в сыворотке крови, в частности, для повышения уровней LPC-ДНА, LPC-EPA, LPC-DPA и/или LPC-SDA в сыворотке крови, не вызывая неприемлемой степени разрушения клеточной мембраны и других потенциальных побочных эффектов.

Еще одна проблема, которую следует учитывать, состоит в необходимости постоянного поступления ДНА в головной мозг. Хорошо известно, что вводимые лекарственные средства обычно удаляются из кровотока посредством различных процессов выведения, и такие процессы выведения LPC-омега-3, конечно, могут влиять на концентрацию LPC-омега-3 в сыворотке крови с течением времени, что также, как можно предположить, имеет прямой отрицательный эффект на поглощение в головном мозге.

Таким образом, в данной области техники существует острая необходимость в средствах для поддержания высоких уровней LPC-омега-3 в сыворотке крови с течением времени, поскольку предполагается, что это является предпосылкой для обеспечения непрерывного поступления омега-3 в головной мозг.

В поисках решения вышеупомянутых потребностей было инвестировано значительное количество ресурсов, сосредоточенных на пероральном потреблении различных форм жирных кислот омега-3, включая исследование перорального приема LPC-омега-3; и, в частности, LPC-ДНА и LPC-EPA (PCT/IB2018/0001588).

Несмотря на то, что результаты этого проекта (пероральный прием LPC-ДНА и LPC-EPA) были впечатляющими в отношении поглощения жирных кислот омега-3 головным мозгом, продолжалась непрерывная дискуссия о том, как потребление головным мозгом может быть еще улучшено. Были тщательно обсуждены альтернативные формы жирных кислот омега-3, способы получения жирных кислот, а также различные методы инкапсуляции. Также обсуждалось, будет ли интересно исследовать альтернативные способы введения жирных кислот омега-3.

Парентеральное введение и, в частности, внутрисосудистое введение, такое как внутривенное введение, жирных кислот омега-3 может быстро обеспечить повышенный уровень жирных кислот омега-3 в сыворотке, что может привести к повышению уровня жирных кислот омега-3 в головной мозг с высокой скоростью. Кроме того, можно предположить, что это также может быть эффективным способом обхода негативных эффектов ферментов пищеварительной системы, получаемых пероральным путем. Однако было также признано, что это может быть реальным риском того, что быстрое повышение уровней LPC-омега-3 в сыворотке крови может вызвать неприемлемую степень разрушения клеточной мембраны, а также могут быть другие потенциальные побочные эффекты. Кроме того, поскольку LPC обнаруживается только в следовых количествах в большинстве тканей животных, а высокие количества в сыворотке крови, как известно, связаны с побочными эффектами (в том числе разрушение клеточных мембран), также существует высокий риск того, что существуют эффективные механизмы для устранения таких соединений из кровообращения, которые, как предполагается, оказывают отрицательное влияние на усвоение омега-3 в головном мозге с течением времени. Кроме того, при переходе от перорального к парентеральному пути всегда возникает вопрос о соблюдении пациентом режима лечения; таким образом, эффект парентерального введения должен быть значительно лучше, чем перорального, если он представляет коммерческий интерес.

Несмотря на вышеупомянутые риски, было решено дополнительно изучить, может ли внутрисосудистое введение, в частности внутривенное введение, жирных кислот омега-3, в частности LPC-EPA и LPC-ДНА, представлять собой многообещающую стратегию повышения уровней жирных кислот омега-

3 в головном мозге, не вызывая неприемлемых побочных эффектов.

Поскольку уже было известно, что LPC является эффективным переносчиком молекул через BBB, в этом исследовании было решено использовать LPC-омега-3. Чтобы иметь возможность измерить количество жирных кислот омега-3, которые были перенесены в головной мозг, было решено использовать LPC-омега-3, где жирные кислоты омега-3 были помечены радиоактивным маркером. Кроме того, чтобы гарантировать, что измеряются только неокисленные формы жирных кислот, было решено поместить радиоактивный маркер на ацильный атом углерода фрагмента жирной кислоты, т.е. атом углерода № 1 (пример 1 представляет собой иллюстрацию, показывающую, где находится радиоактивный маркер).

Известно, что переносчик Mfsd2a в BBB специфически транспортирует LPC-омега-3, но не омега-3 в свободной форме. Ранее предполагалось, что перенос через BBB неспецифичен по отношению к жирной кислоте, связанной с молекулой LPC, но есть доказательства, указывающие на то, что жирная кислота, связанная с LPC, должна иметь определенную длину для того, чтобы транспортироваться через BBB. В предшествующем уровне техники было указано, что длина в 14 или более атомов углерода важна для переноса через BBB переносчиком Mfsd2a. DHA, EPA, SDA и DPA считаются очень важными с точки зрения положительного воздействия на здоровье человека, и все они содержат более 14 атомов углерода. Таким образом, исходя из информации, которая у нас есть на сегодняшний день, каждая из этих жирных кислот должна эффективно транспортироваться через BBB при связывании с LPC. Поэтому LPC-DHA и LPC-EPA были выбраны в качестве модельных молекул в настоящем исследовании, но все данные, представленные в данном документе относительно усвоения головным мозгом, также как полагают, указывают на ожидаемые профили усвоения двух других жирных кислот омега-3, упомянутых выше, т.е. SDA и DPA.

Поскольку в этом исследовании LPC-DHA и LPC-EPA должны были вводиться внутривенно, было решено смешать активные компоненты с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами. Интралипид (IV), поставляемый Sigma Aldrich, совместим с маслянистыми веществами и поэтому был выбран в качестве одного или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ. Ссылка сделана на пример 1 для получения дополнительных сведений о фармацевтической композиции, которая использовалась в этом исследовании.

16 самцам крыс Спрег-Доули однократно внутривенно вводили либо LPC-DHA, либо LPC-EPA. Дозу вводили непосредственно в хвостовую вену в виде медленного болюса в течение 30 с. Одна крыса была умерщвлена передозировкой газообразного диоксида углерода в каждый из следующих периодов времени: 0,5, 3, 8, 24, 72, 96, 168 и 336 ч после введения дозы. Каждую тушу мгновенно замораживали в смеси гексан/твердый диоксид углерода сразу после сбора, а затем хранили при температуре приблизительно -20°C в ожидании дополнительного анализа.

Замороженные тушки подвергали количественной авторыдиографии всего тела, как подробно описано в примере 2, для изучения усвоения DHA и EPA головным мозгом через 0,5, 3, 8, 24, 72, 96, 168 и 336 ч после введения дозы.

Окончательные результаты LPC-DHA представлены в примере 2, табл. 1.1, а данные также проиллюстрированы на фиг. 1-4. Окончательные результаты LPC-EPA представлены в примере 2, табл. 2.1, а данные также проиллюстрированы на фиг. 5-8.

Первым полученным результатом были данные, относящиеся к уровню LPC-DHA в крови (фиг. 2). Как и ожидалось, внутривенное введение LPC-DHA привело к немедленному и значительному повышению уровня LPC-DHA в крови. Однако уровень LPC-DHA также очень быстро снижался со временем, что ясно указывает на то, что существуют эффективные механизмы для удаления этого соединения из крови. Поскольку уровень LPC-DHA в крови, вероятно, будет иметь большое значение для усвоения в головном мозге, было признано, что именно проблему с удалением необходимо решить, чтобы обеспечить непрерывное и высокое усвоение DHA в головном мозге.

Следующим полученным результатом были данные, относящиеся к усвоению LPC-DHA почками (фиг. 3). Как и ожидалось, количество LPC-DHA в почках с течением времени следовало тенденции, наблюдаемой в крови. Во время введения наблюдалось немедленное и сильное повышение уровня LPC-DHA в почках, но со временем уровень LPC-DHA снижался очень быстро. Аналогичные результаты наблюдались и для усвоения LPC-DHA селезенкой (фиг. 4).

На основании приведенных выше результатов ожидалось, что количество LPC-DHA в головном мозге будет высоким вскоре после введения дозы, но также и что количество LPC-DHA в головном мозге будет быстро снижаться со временем; аналогично тому, что наблюдали для крови, селезенки и почек. Однако, в отличие от того, что ожидалось, результаты исследований усвоения головным мозгом (фиг. 1) неожиданно продемонстрировали, что количество LPC-DHA в головном мозге не соответствует тенденции, наблюдаемой для крови, почек и селезенки. Напротив, внутривенное введение LPC-DHA привело к немедленному и высокому повышению уровня LPC-DHA в головном мозге, а уровень LPC-DHA продолжал повышаться с течением времени далеко за пределами точки, где уровень LPC-DHA в крови значительно снизился. Эти чрезвычайно неожиданные результаты четко демонстрируют, что внутривенное введение LPC-DHA может быть очень эффективным способом быстрого повышения уровня DHA в головном мозге, а также для поддержания высоких уровней DHA в головном мозге в течение длительного

периода времени, даже после всего лишь одной инъекции.

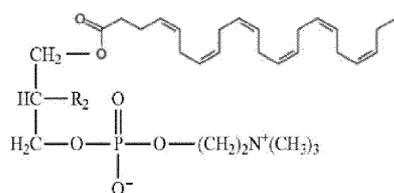
Результаты, относящиеся к LPC-DHA (фиг. 1-4), аналогичны результатам, полученным для LPC-EPA (фиг. 5-8), что явно указывает на то, что внутривенное введение LPC-омега-3 может быть очень эффективным способом повышения уровней омега-3 в головном мозге с высокой скоростью, а также для поддержания уровня омега-3 в головном мозге в течение длительного периода времени; даже после всего лишь одной инъекции. Хотя аналогичные данные, вероятно, будут получены для других жирных кислот омега-3, DHA, EPA, DPA, SDA и, возможно, также ALA, считаются представляющими особый интерес для данной заявки.

Представленные в данном документе данные в отношении LPC-EPA основаны на измеренном уровне радиоактивности, присутствующей в головном мозге после внутривенного введения радиоактивно меченой LPC-EPA. Таким образом, следует понимать, что представленные в данном документе данные не обязательно отражают участь молекулы EPA как таковой. Если, например, EPA трансформируется в DHA в головном мозге, данные, представленные в данном документе, вероятно, представляют количество радиоактивно меченой EPA + радиоактивно меченой DHA. То же самое можно сказать и о данных, представленных в отношении LPC-DHA.

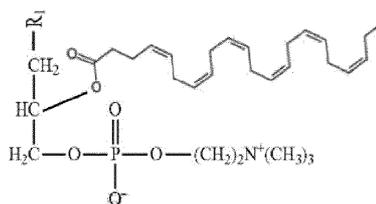
Принимая во внимание примеры, представленные в данном документе, утверждается, что все перечисленные выше потребности в данной области техники были решены с помощью фармацевтической композиции по заявленному изобретению, и, в частности, фармацевтической композиции по заявленному изобретению для применения в качестве лекарственного препарата, причем лекарственный препарат вводят путем внутрисосудистого введения и, в частности, внутривенного введения.

Таким образом, первый аспект настоящего изобретения относится к применению фармацевтической композиции, подходящей для внутривенного введения, для профилактики и/или лечения черепно-мозговой травмы; фармацевтическая композиция содержит один или более активных компонентов и один или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ; один или более активных компонентов включает соединение формулы 1 или его фармацевтически приемлемую соль и/или соединение формулы 3 или его фармацевтически приемлемую соль.

Формула 1



Формула 3



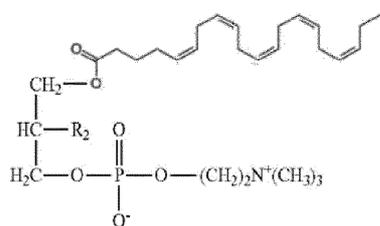
где R₁ представляет собой OH или O-CO-(CH₂)_n-CH₃;

R₂ представляет собой OH или O-CO-(CH₂)_n-CH₃; и

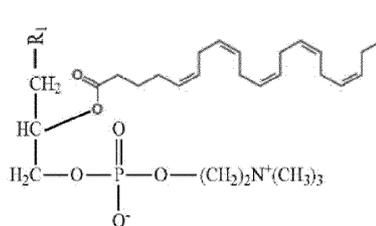
n равно 0, 1 или 2.

В другом варианте осуществления согласно настоящему изобретению один или более активных компонентов дополнительно содержит соединение формулы 2 или его фармацевтически приемлемую соль и/или соединение формулы 4 или его фармацевтически приемлемую соль

Формула 2



Формула 4



где R₁ представляет собой OH или O-CO-(CH₂)_n-CH₃;

R₂ представляет собой OH или O-CO-(CH₂)_n-CH₃; и

n равно 0, 1 или 2.

В одном варианте осуществления согласно настоящему изобретению R₁ представляет собой OH и R₂ представляет собой OH.

Альтернативный аспект настоящего изобретения относится к первому аспекту настоящего изобретения, в котором R₁ представляет собой OH или защитную группу, а R₂ представляет собой OH или защитную группу. Один из примеров защитной группы представляет собой O-CO-(CH₂)_n-CH₃, где n равно 0, 1 или 2.

Защитная группа предпочтительно представляет собой группу, которая не мешает связыванию с переносчиком Mfsd2a и в то же время блокирует миграцию ацильной группы омега-3 (т.е. DHA, EPA).

Если фрагмент жирной кислоты омега-3 (например, фрагмент ДНА, фрагмент ЕРА) расположен в положении sn-1 остова глицерина, защитная группа обычно будет блокировать миграцию фрагмента жирной кислоты омега-3 из положения sn-1 в положение sn-2. Если фрагмент жирной кислоты омега-3 (например, фрагмент ДНА) расположен в положении sn-2 остова глицерина, защитная группа обычно будет блокировать миграцию фрагмента жирной кислоты омега-3 из положения sn-2 в положение sn-1.

Формулы 1 и 3 относятся к соединению с присоединенным фрагментом ДНА. Формулы 2 и 4 относятся к соединению с присоединенным фрагментом ЕРА. На практике фрагменты ДНА и ЕРА в принципе могут быть заменены любой жирной кислотой омега-3, если жирная кислота омега-3 имеет 14 или более атомов углерода. Однако считается, что ДНА и ЕРА имеют наибольшее значение для здоровья головного мозга человека.

Альтернативный аспект согласно настоящему изобретению относится к первому аспекту настоящего изобретения, в котором фрагменты ДНА, ЕРА заменены любым фрагментом омега-3; по меньшей мере i) любой фрагмент омега-3, который имеет 14 или более атомов углерода в своей цепи, или ii) любой фрагмент омега-3, длина которого соответствует длине цепи из 14 или более атомов углерода.

Альтернативный аспект согласно настоящему изобретению относится к первому аспекту настоящего изобретения, в котором фрагменты ДНА, ЕРА заменены фрагментами ДНА, ЕРА, DPA, ALA и SDA.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения внутрисосудистое введение представляет собой внутривенное введение. Внутривенное введение можно проводить с помощью инъекций, например, с помощью шприца при более высоком давлении, или с помощью инфузий, например, используя только давление, создаваемое силой тяжести.

Ранее было признано, что при переходе от перорального к внутривенному введению часто возникает вопрос о соблюдении пациентом режима лечения; и когда дело доходит до внутрисосудистого введения, в частности, внутривенного введения, конечно, преимуществом является минимальное количество инъекций. Представленные в данном документе неожиданные результаты основаны на однократной инъекции.

Таким образом, в одном варианте осуществления согласно настоящему изобретению внутривенное введение проводится путем одной или более инъекций, предпочтительно менее 5 инъекций, более предпочтительно менее 3 инъекций и наиболее предпочтительно менее 2 инъекций, таких как однократная инъекция. Технический результат последнего уже продемонстрирован в примере 2 данной заявки.

В другом варианте осуществления внутривенное введение можно проводить инфузией, например, инфузией, в течение длительного времени. В одном предпочтительном варианте осуществления длительное время составляет более 6 часов, например, более 12 ч, более 24 ч или 48 ч или более.

В предпочтительном варианте осуществления согласно настоящему изобретению один или более активных компонентов составляют от 10 до 99% от массы сухого вещества или от массы фармацевтической композиции, например, от 15 до 99% от массы сухого вещества или от массы фармацевтической композиции, например, от 20 до 99% от массы сухого вещества или от массы фармацевтической композиции, от 25 до 99%, например, около 27%, от массы сухого вещества или от массы фармацевтической композиции, от 35 до 99% от массы сухого вещества или от массы фармацевтической композиции, от 55 до 99% от массы сухого вещества или от массы фармацевтической композиции, от 75 до 99% от массы сухого вещества или от массы фармацевтической композиции и наиболее предпочтительно от 80 до 99%, например, от 85 до 95% (например, около 89%), от массы сухого вещества или от массы фармацевтической композиции.

Один или более активных компонентов, упомянутых в первом аспекте настоящего изобретения, где R_1 представляет собой OH, а R_2 представляет собой OH, все молекулы LPC, содержащие молекулу ДНА, ЕРА присоединены к триацилглицериновому фрагменту LPC. Технический результат продемонстрирован для LPC-ДНА и LPC-ЕРА. На основании данных, представленных в WO 2018162617 и WO 2008068413, также предполагается, что аналогичные эффекты будут получены для одного или более активных компонентов, упомянутых в первом аспекте настоящего изобретения, где R_1 представляет собой $O-CO-(CH_2)_n-CH_3$ и R_2 представляет собой $O-CO-(CH_2)_n-CH_3$; и n равно 0, 1 или 2, и, в частности, $n=0$.

Несмотря на то, что представленные в данном документе результаты впечатляют, эффект может быть дополнительно улучшен, например, включением фармацевтически приемлемого носителя. Липосомы могут, например, быть подходящими носителями для масляных компонентов по настоящему изобретению, обеспечивая гидрофобную внутреннюю часть для маслянистого вещества и гидрофильную внешнюю поверхность, обращенную к гидрофильной среде. Кроме того, также известно, что LPC обычно связывается с белками, такими как альбумин, в крови, чтобы снизить эффективную концентрацию LPC. Таким образом, в одном варианте осуществления настоящего изобретения фармацевтическая композиция также содержит белок, такой как альбумин, который подходит для снижения эффективной концентрации одного или более активных компонентов при внутрисосудистом или внутривенном введении.

Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может содержать или не содержать один или более растворителей, таких как этанол и/или вода. Если композиция содержит один или более растворителей, количество одного или более активных компонентов в композиции может обозначаться как % от массы композиции в сухом состоянии. Однако, если композиция не содержит один или более

растворителей, количество одного или более активных компонентов в композиции может обозначаться как % от массы композиции.

В одном варианте осуществления согласно настоящему изобретению фармацевтическая композиция может содержать комбинацию двух или более из одного или более активных компонентов. Один из активных компонентов может иметь фрагмент ДНА, присоединенный к остову глицерина, а другой активный компонент может иметь фрагмент ЕРА, присоединенный к остову глицерина.

Таким образом, в одном варианте осуществления согласно настоящему изобретению фармацевтическая композиция содержит комбинацию двух или более из одного или более активных компонентов. Один из активных компонентов, содержащий фрагмент ДНА, присоединенный к остову глицерина, и другой активный компонент, имеющий фрагмент ЕРА, присоединенный к остову глицерина. В предпочтительном варианте осуществления существует определенное молярное соотношение активных компонентов, содержащих фрагмент ДНА, присоединенный к остову глицерина, и активных компонентов, содержащих фрагмент ЕРА, присоединенный к остову глицерина. Молярное соотношение активных компонентов, содержащих фрагмент ДНА, присоединенный к остову глицерина, предпочтительно находится в диапазоне от 1:1 до 10:1, например в диапазоне 1:1 до 7:1, или в диапазоне от 1:1 до 5:1, или в диапазоне от 1:1 до 3:1. В другом варианте осуществления согласно настоящему изобретению молярное соотношение активных компонентов, содержащих фрагмент ЕРА, присоединенный к остову глицерина: активных компонентов, содержащих фрагмент ДНА, присоединенный к остову глицерина, предпочтительно находится в диапазоне от 1:1 до 10:1, например в диапазоне от 1:1 до 7:1, или в диапазоне от 1:1 до 5:1, или в диапазоне от 1:1 до 3:1.

Ссылка сделана на следующий пример, иллюстрирующий, как рассчитывать молярное соотношение. Если композиция содержит 10 моль LPC-ДНА и 2 моля LPC-ЕРА, то молярное соотношение активных компонентов, содержащих фрагмент ДНА, присоединенный к остову глицерина, и активных компонентов, содержащих фрагмент ЕРА, присоединенный к остову глицерина, составляет 10:2, т.е. 5:1. Если не указано иное, количество молей LPC-ЕРА равно количеству молей 1-LPC-ЕРА + количеству молей 2-LPC-ЕРА, а количество молей LPC-ДНА равно количеству молей 1-LPC-ДНА + количеству молей 2-LPC-ДНА.

Ранее обсуждалось, что положение фрагмента жирной кислоты омега-3 на остове глицерина может влиять на усвоение этой жирной кислоты головным мозгом. Таким образом, в одном варианте осуществления согласно настоящему изобретению перечисленные фрагменты жирных кислот омега-3 связаны с положением sn1 остова глицерина. В другом варианте осуществления согласно настоящему изобретению перечисленные фрагменты жирных кислот омега-3 связаны с положением sn2 остова глицерина. В альтернативном варианте осуществления согласно настоящему изобретению существует определенное молярное соотношение активных компонентов, содержащих фрагмент жирной кислоты омега-3, связанный с положением sn1 остова глицерина, и активных компонентов, содержащих фрагмент жирной кислоты омега-3, связанный с sn1 положение остова глицерина. Молярное соотношение активных компонентов, содержащих фрагмент жирной кислоты омега-3, связанный с положением sn2 остова глицерина: активных компонентов, содержащих фрагмент жирной кислоты омега-3, связанный с положением sn1 остова глицерина, предпочтительно находится в диапазоне от 1:8 до 18:1, например в диапазоне от 1:8 до 15:1 или в диапазоне от 1:8 до 10:1.

Ссылка сделана на следующий пример, иллюстрирующий, как рассчитывать молярное соотношение. Если композиция содержит 5 моль 2-LPC-ДНА, 5 моль 2-LPC-ЕРА и 2 моля 1-LPC-ДНА, то молярное соотношение активных компонентов, содержащих фрагмент жирной кислоты омега-3, связанный с положением sn1 остова глицерина: активных компонентов, содержащих фрагмент жирной кислоты омега-3, связанный с положением sn2 остова глицерина, составляет 10:2, то есть 5:1.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения один или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ выбраны из группы, состоящей из растительных масел, триолеина, соевого масла, сафлорового масла, кунжутного масла, касторового масла, кокосового масла, триглицеридов, трибутирина, трикапроина, трикаприлина, витамина Е, антиоксиданты, α -токоферола, аскорбиновой кислоты, мезилата дефероксамина, тиогликолевой кислоты, эмульгаторов, лецитина, полисорбата 80, метилцеллюлозы, желатина, сывороточного альбумина, сорбитана лаурата, сорбитана олеата, триолеата сорбитана, полиэтиленгликоля (PEG), PEG 400, модифицированного полиэтиленгликолем фосфатидилэтанолamina (PEG-PE), полксамеров, глицерина, ксилита, средств для регулирования pH; гидроксида натрия, противомикробных средств ЭДТА, бензоата натрия, бензилового спирта и белков, таких как альбумин.

В предпочтительном варианте осуществления один или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ включают: i) один или более компонентов, подходящих для солиubilизации одного или более активных компонентов; и ii) один или более компонентов с эмульгирующими свойствами. Кроме того, также предпочтительно, чтобы один или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ включали один или более антиоксидантов, таких как α -токоферол, аскорбиновая кислота,

мезилат дефероксамина, тиогликолевая кислота. Кроме того, также предпочтительно, чтобы один или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ включали компоненты для регулирования тоничности в соответствии с физиологическими условиями, такие как глицерин, сорбит, ксилит. Кроме того, также предпочтительно, чтобы один или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ содержали средства, регулирующие рН, такие как гидроксид натрия. Кроме того, также предпочтительно, чтобы один или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ включали один или более антимикробных средств, таких как ЭДТА, бензоат натрия, бензиловый спирт.

В предпочтительном варианте осуществления один или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ представляют собой стабилизированное фосфолипидом масло, такое как стабилизированное фосфолипидом соевое масло и, в частности, интралипидная эмульсия, указанная в примере 1.

Коммерческие продукты для обеспечения инъекционных фармацевтических композиций, содержащих липиды, известны специалисту в данной области и включают такие продукты, как Miglyol 810, 812, Neobee M5, Captex 300, MONTANE™ 20 PPI, MONTANE™ 80 PPI, Pluronic F68, предварительно сформованные эмульсии, такие как липофундин и интралипид (в примере 2 использовался интралипид) и другие.

В еще другом варианте осуществления согласно настоящему изобретению фармацевтическая композиция дополнительно содержит по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель, в частности липидный носитель, такой как липосомы и т.п. (включая их смеси).

В одном варианте осуществления согласно настоящему изобретению композиция имеет рН в диапазоне от 5,5 до 8,5, например, рН в диапазоне 6-8, более предпочтительно в диапазоне 6,5-8 и наиболее предпочтительно он имеет рН, подобный рН, который обычно преобладает в организме человека, например, рН в диапазоне от 7,3 до 7,5.

Второй аспект настоящего изобретения относится к применению фармацевтической композиции в соответствии с первым аспектом настоящего изобретения в качестве лекарственного препарата, при этом фармацевтическая композиция должна вводиться путем внутрисосудистого введения, такого как внутривенное введение.

Третий аспект настоящего изобретения относится к применению фармацевтической композиции в соответствии с первым аспектом настоящего изобретения для профилактики и/или терапии, при этом фармацевтическая композиция должна вводиться путем внутрисосудистого введения, такого как внутривенное введение.

Четвертый аспект настоящего изобретения относится к применению фармацевтической композиции в соответствии с первым аспектом настоящего изобретения для профилактики и/или терапии состояния, при котором повышенные уровни ЕРА в головном мозге будут иметь благоприятный эффект, при этом фармацевтическая композиция должна вводиться путем внутрисосудистого введения, такого как внутривенное введение.

Пятый аспект настоящего изобретения относится к применению фармацевтической композиции в соответствии с первым аспектом настоящего изобретения для профилактики и/или терапии состояния, при котором повышенные уровни ДНА в головном мозге будут иметь благоприятный эффект, при этом фармацевтическая композиция должна вводиться путем внутрисосудистого введения, такого как внутривенное введение.

В одном варианте осуществления согласно пятому аспекту настоящего изобретения состояние, при котором повышенные уровни ДНА в головном мозге будут иметь благоприятный эффект, представляет собой неврологическое состояние.

В предпочтительном варианте осуществления согласно пятому аспекту настоящего изобретения состояние, при котором повышенные уровни ДНА в головном мозге будут иметь благоприятный эффект, представляет собой черепно-мозговую травму.

Черепно-мозговая травма (ТВИ) представляет собой травму головы, вызванную травмой головного мозга. Повреждение может быть ограничено одной областью мозга (очаговое) или затрагивать более одной области мозга (диффузное). ТВИ может быть легкой, средней или тяжелой. В то время как некоторые симптомы появляются сразу же, другие проявляются только через несколько дней, недель, месяцев или даже лет после события(ий) ТВИ. Симптомы легкой ТВИ включают головную боль, спутанность сознания, головокружение, нечеткость зрения, изменения настроения и ухудшение когнитивных функций, таких как память, обучение и внимание. Симптомы ТВИ от умеренной до тяжелой включают, помимо тех, которые наблюдаются при легкой ТВИ, тошноту, судороги или припадки, невнятность речи, онемение конечностей и потерю координации.

Традиционные понятия ТВИ также включают фазы первичной и вторичной травмы. Первичная травма представлена моментом удара, возникающим в результате передачи векторов кинетической энергии и силы либо линейным ускорением-замедлением, либо вращательным способом, либо их комбинацией. В дополнение к движению головного мозга в пространстве спинномозговой жидкости может возникнуть контакт мозга с нижележащими неровными поверхностями черепа, возникновение микровакуумных явлений в мозговой ткани, а также разрыв и механическое повреждение нейронов и, в частности, их проекций как при локальном, так и при удаленном повреждении. На клиническом уровне лечение на-

правлено на минимизацию вторичного повреждения путем предотвращения или лечения гипотонии, гипоксии и отеков.

Третичная фаза ТВИ включает в себя то, что сейчас признано постоянными нарушениями потребления глюкозы, клеточного метаболизма, а также подвижности мембран, синаптической функции и структурной целостности (Hovda, Crit Care Med. 35:663-4 (2007); Aoyama et al, Brain Res. 1230:310-9 (2008), опубликовано в электронном виде 9 июля 2008 г.). Как правило, мембраны аксонов повреждаются, происходит утечка ионов, и транспорт аксонов постепенно прерывается. Эта идея подкрепляется недавними результатами аутопсии у профессиональных спортсменов, занимающихся контактными видами спорта, показывающими многоочаговые области поврежденных нейронов и их отростков, примечательные окрасиванием тау-антителами, которые, как полагают, представляют многочисленные случаи и области травм в результате множественных сотрясений мозга (Omalu et al., Neurosurgery 57:128-34 (2005); Omalu et al., Neurosurgery 59:1086-92 (2006)).

Об обнадеживающих результатах профилактического лечения ТВИ, основанных на средствах, подходящих для повышения уровней ДНА в головном мозге, сообщалось в предшествующем уровне техники (EP 2488190).

В предпочтительном варианте осуществления согласно пятому аспекту настоящего изобретения состоянием, при котором повышенные уровни ДНА в головном мозге будут иметь благоприятный эффект, является черепно-мозговая травма, и фармацевтическую композицию вводят в комбинации с i) прогестогеном или его пролекарством; и/или ii) эстрогеном или его пролекарством.

В предпочтительном варианте осуществления согласно пятому аспекту настоящего изобретения состоянием, при котором повышенные уровни ДНА в головном мозге будут иметь благоприятный эффект, является черепно-мозговая травма, а черепно-мозговая травма возникает в результате закрытой травмы головы.

Шестой аспект настоящего изобретения относится к применению фармацевтической композиции в соответствии с первым аспектом настоящего изобретения, где R_1 и R_2 представляют собой ОН, для профилактики и/или терапии, при этом фармацевтическая композиция должна вводиться путем внутрисосудистого введения, такого как внутривенное введение.

Седьмой аспект настоящего изобретения относится к применению фармацевтической композиции в соответствии с первым аспектом настоящего изобретения, где R_1 и R_2 представляют собой ОН, для использования в профилактике и/или терапии состояния, при котором повышенные уровни ДНА в головном мозге будут иметь благоприятный эффект, при этом фармацевтическая композиция должна вводиться путем внутрисосудистого введения, такого как внутривенное введение.

В одном варианте осуществления согласно седьмому аспекту настоящего изобретения состояние, при котором повышенные уровни ДНА в головном мозге будут иметь благоприятный эффект, представляет собой неврологическое состояние, причем неврологическое состояние предпочтительно представляет собой черепно-мозговую травму.

В одном варианте осуществления согласно любому из аспектов 2-7 фармацевтическую композицию следует вводить субъекту, который находится в группе риска черепно-мозговой травмы. Фармацевтическую композицию предпочтительно вводят в профилактически эффективном количестве в течение достаточного периода времени до начала деятельности, связанной с риском черепно-мозговой травмы, для снижения риска патологических эффектов черепно-мозговой травмы. Черепно-мозговая травма может быть результатом закрытой травмы головы.

В одном варианте осуществления согласно любому из аспектов 2-7 фармацевтическую композицию следует вводить субъекту младше 10 лет, например младше 1 года, младше 1 месяца или новорожденному.

В одном варианте осуществления согласно любому из аспектов 2-7 фармацевтическую композицию следует вводить субъекту старше 60 лет, например, старше 70 лет, старше 80 лет или пациенту престарелого возраста.

В одном варианте осуществления согласно любому из аспектов 2-7 фармацевтическую композицию следует вводить субъекту, причем субъект находится в возрасте от около 10 до 20 лет, от около 20 до 50 лет, от около 50 до 100 лет, от около 60 до 100 лет или от около 70 до 100 лет.

В одном варианте осуществления согласно любому из аспектов 2-7 фармацевтическую композицию следует вводить субъекту, причем субъект представляет собой женщину.

В одном варианте осуществления согласно любому из аспектов 2-7 фармацевтическую композицию следует вводить субъекту, причем субъект представляет собой мужчину.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения черепно-мозговая травма не включает повреждение мозга, вызванное ишемией/реперфузией.

В некоторых вариантах осуществления закрытая травма головы представляет собой сотрясение мозга или ушиб. Субъект с риском такой травмы может включать, среди прочего, субъекта, участвующего в спортивном мероприятии с возникновением сотрясения мозга. Примеры субъектов в этой категории включают, среди прочего, футболистов, боксеров и хоккеистов.

Альтернативный аспект настоящего изобретения относится к способу введения фармацевтической

композиции в соответствии с первым аспектом настоящего изобретения субъекту, при этом фармацевтическая композиция вводится путем внутрисосудистого введения, такого как внутривенное введение.

Дополнительный альтернативный аспект настоящего изобретения относится к способу профилактического или терапевтического лечения субъекта, причем способ включает следующие этапы:

введение фармацевтической композиции согласно первому аспекту настоящего изобретения субъекту путем внутрисосудистого введения, такого как внутривенное введение.

Дополнительный альтернативный аспект настоящего изобретения относится к способу профилактического или терапевтического лечения субъекта, который страдает от состояния, при котором повышенные уровни ЕРА в головном мозге могут иметь благоприятный эффект, причем способ включает следующие этапы:

введение фармацевтической композиции согласно первому аспекту настоящего изобретения субъекту путем внутрисосудистого введения, такого как внутривенное введение.

В одном варианте осуществления состояние, при котором повышенные уровни ЕРА в головном мозге могут иметь благоприятный эффект, представляет собой депрессию.

Дополнительный альтернативный аспект настоящего изобретения относится к способу профилактического или терапевтического лечения субъекта, который страдает от состояния, при котором повышенные уровни ДНА в головном мозге могут иметь благоприятный эффект, причем способ включает следующие этапы:

введение фармацевтической композиции согласно первому аспекту настоящего изобретения субъекту путем внутрисосудистого введения, такого как внутривенное введение.

В одном варианте осуществления состояние, при котором повышенные уровни ДНА в головном мозге могут иметь благоприятный эффект, представляет собой неврологическое состояние. Неврологическое состояние предпочтительно представляет собой черепно-мозговую травму.

В другом варианте осуществления фармацевтическую композицию вводят в комбинации с i) прогестагеном или его пролекарством; и/или ii) эстрогеном или его пролекарством.

Дополнительный альтернативный аспект настоящего изобретения относится к способу снижения риска патологических эффектов ТВИ, включающему:

введение фармацевтической композиции согласно первому аспекту настоящего изобретения субъекту с риском ТВИ;

где фармацевтическую композицию вводят внутрисосудистым и, в частности, внутривенным введением;

фармацевтическую композицию вводят в профилактически эффективном количестве в течение достаточного периода времени до начала деятельности, связанной с риском ТВИ, для снижения риска патологических эффектов ТВИ.

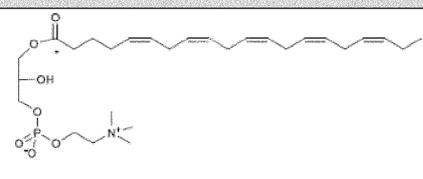
В целом после описания настоящего изобретения дальнейшее понимание может быть получено путем ссылки на определенные конкретные примеры, которые представлены в данном документе только в целях иллюстрации и не предназначены для ограничения, если не указано иное.

Примеры

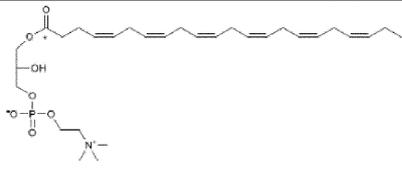
Пример 1. Получение внутривенных составов.

Материалы.

Внутрилипидный (доза внутривенно)	
Источник/поставщик	Sigma Aldrich
№ CAS	68890-65-3
Физическая форма/внешний вид	Белая жидкость
Компоненты/концентрации	20% жировой эмульсии

¹⁴ C]-LPC-EPA	
Структура	

Источник/поставщик	Pharmaron UK
Физическая форма/внешний вид	Раствор этанола 3 мКи/г [2,361 мКи/мл с учетом удельной плотности этанола (0,787)]
Молекулярная масса	543,5
Удельная активность	57 мКи/ммоль (2,11 ГБк/ммоль)
Радиохимическая чистота	96,3%

[¹⁴C]-LPC-DHA	
Структура	
Источник/поставщик	Pharmaron UK
Физическая форма/внешний вид	Раствор этанола 3 мКи/г [2,361 мКи/мл с учетом удельной плотности этанола (0,787)]
Молекулярная масса	569,6
Удельная активность	58 мКи/ммоль (2,15 ГБк/ммоль)
Радиохимическая чистота	98,0%

Состав [¹⁴C]-LPC-DHA, в данном документе называемый составом А.

Состав, который позже вводили внутривенно, был получен в соответствии со следующими целевыми характеристиками.

Режим и способ введения дозы	Единично внутривенно
Уровень дозы	190 мг/кг интралипида + около 1,5 мг/кг радиомеченого соединения
Радиоактивная доза	155 мКи/кг
Объем дозы	1 мл/кг
Концентрация дозы	190 мг/мл при 5:95 [¹⁴ C]-LPC-DHA в этаноле: интралипид (20%) об./об.
Носитель дозы	5:95 об./об. этанол: вводимый инъекцией интралипид (20% эмульсия)
Удельная радиоактивность состава	3 мКи/г
Концентрация дозы в радиоактивном составе	1,5215 мг/мл

[¹⁴C]-LPC-DHA смешивали с составом интралипида с получением состава дозы, содержащего фос-

фолипиды в конечной концентрации 190 мг/кг и [^{14}C]-LPC-DHA в концентрации около 1,5 мг/кг (155 мкКи/кг), следующим образом:

0,394 мл этанольной [^{14}C]-LPC-DHA (2361 мкКи/мл) распределяли в стеклянный флакон объемом 20 мл и уменьшали до конечного объема приблизительно 0,30 мл в потоке азота при температуре окружающей среды. 5,70 мл 20% интралипида добавляли к концентрированному раствору [^{14}C]-LPC-DHA в этаноле и осторожно перемешивали на вортексе для обеспечения однородности.

Состав [^{14}C]-LPC-DHA, в данном документе называемый составом В.

Состав, который позже вводили внутривенно, был получен в соответствии со следующими целевыми характеристиками.

Режим и способ введения дозы	Единично внутривенно
Уровень дозы	190 мг/кг интралипида + около 1,5 мг/кг радиомеченого соединения
Радиоактивная доза	155 мкКи/кг
Объем дозы	1 мл/кг
Концентрация дозы	190 мг/мл при 5 : 95 [^{14}C]-LPC-EPA в этаноле: интралипид (20%) об./об.
Носитель дозы	5 : 95 об./об. этанол: вводимый инъекцией интралипид (20% эмульсия)
Удельная радиоактивность состава	3 мКи/г
Концентрация дозы в радиоактивном составе:	1,4773 мг/мл

[^{14}C]-LPC-EPA смешивали с составом интралипида с получением состава дозы, содержащего фосфолипиды в конечной концентрации 190 мг/кг и [^{14}C]-LPC-EPA в концентрации около 1,5 мг/кг (155 мкКи/кг), следующим образом:

0,394 мл этанольной [^{14}C]-LPC-EPA (2361 мкКи/мл) распределяли в стеклянный флакон объемом 20 мл и уменьшали до конечного объема приблизительно 0,30 мл в потоке азота при температуре окружающей среды. 5,70 мл 20% интралипида добавляли к концентрированному раствору [^{14}C]-LPC-EPA в этаноле и осторожно перемешивали на вортексе для обеспечения однородности.

Пример 2. Поглощение LPC тканями - внутривенное введение.

16 самцов крыс Спрег-Дули с массой тела 213-289 г и возрастом приблизительно 7-8 недель на момент введения дозы содержались в полипропиленовых клетках и оставались в них, за исключением короткого периода во время введения дозы. Помещение, в котором находились животные, подвергалось термостатическому контролю, и данные непрерывно регистрировались (обычно диапазон температур составлял $21 \pm 2^\circ\text{C}$; диапазон влажности $55 \pm 10\%$), и подвергалось 12-часовому флуоресцентному освещению и 12-часовому режиму темноты в день. Перед использованием животных уравнивали в стандартных условиях помещения для животных в течение минимум 3 дней. Состояние здоровья животных отслеживали в течение всего этого периода, и перед использованием подтверждали пригодность каждого животного для экспериментального использования.

Гранулированный рацион (RM1 (E) SQC, Special Diets Services, Уитхем, Эссекс, UK) и вода (из бытового водоснабжения) были доступны по желанию в течение всего периода содержания, акклиматизации и периода после введения дозы.

16 крыс получили однократное внутривенное введение либо состава А, либо состава В (восемь на состав) в соответствии с характеристиками дозы, указанной в примере 1. Каждую крысу взвешивали перед введением дозы, и вводимые отдельные дозы рассчитывались на основе массы тела и указанном объеме дозы.

Дозировочная посуда для внутривенного введения состояла из шприца для подкожных инъекций и

иглы. Дозу вводили непосредственно в хвостовую вену в виде медленного болюса в течение 30 с.

После однократного внутривенного введения состава А или В 16 самцам крыс одна крыса была умерщвлена передозировкой газообразного диоксида углерода в каждый из следующих периодов времени: 0,5, 3, 8, 24, 72, 96, 168 и 336 ч после введения дозы.

Каждую тушу мгновенно замораживали в смеси гексан/твердый диоксид углерода сразу после сбора, а затем хранили при температуре приблизительно -20°C в ожидании анализа с помощью QWBA (количественная автордиография всего тела).

Замороженные тушки были подвергнуты количественной автордиографии всего тела (QWBA) с использованием процедур, основанных на работе Ульберга (Acta. Radiol. Suppl 118, 22 31, 1954). Срезы были представлены на пяти различных уровнях тела крысы, включая от 30 до 40 тканей (при условии наличия достаточной радиоактивности), поглощение которых в головном мозге, крови, почках и селезенке раскрывается в данном документе.

Высушенные вымораживанием цельные срезы автордиографии экспонировали на пластинах для визуализации с хранением фосфора и инкубировали при температуре окружающей среды в темноте в течение минимум пяти дней.

Ряд откалиброванных аутордиографических [^{14}C] микромасштабов, содержащих известное количество радиоактивности (нКи/г, произведено Perkin Elmer), экспонировали рядом со срезами животных на каждой пластине.

Распределение радиоактивности определяли в тканях и в микромасштабах и количественно оценивали с помощью системы анализа флуоресцентных изображений Fuji FLA-5100 и соответствующего программного обеспечения Tina (версия 2.09) и SeeScan (версия 2.0).

Для каждой использованной пластины для экспонирования проводили репрезентативные измерения фоновой радиоактивности. Предел точного количественного определения считался самым низким [^{14}C] видимым микромасштабом. Стандартная кривая была построена на микромасштабах с использованием Seescan, и по ней были определены концентрации радиоактивности в тканях (нКи/г). Для расчета данных по весовому эквиваленту/г данные в нКи/г делили на соответствующую удельную активность (нКи/мкг).

В табл. 1.1 показаны общие количества радиоактивности в тканях (кровь, головной мозг, почки, селезенка) после однократного внутривенного введения [^{14}C]-LPC-DHA самцам крыс-альбиносов в целевой дозе 190 мг/кг. Результаты также представлены на фиг. 1-4.

В табл. 1.2 показана концентрация радиоактивности во всех тканях (выраженной в мкг эквиваленты/г) после однократного внутривенного введения [^{14}C]-LPC-DHA самцам крыс-альбиносов в целевой дозе 190 мг/кг.

В табл. 2.1 показаны общие количества радиоактивности в тканях (кровь, головной мозг, почки, селезенка) после однократного внутривенного введения [^{14}C]-LPC-EPA самцам крыс-альбиносов в целевой дозе 190 мг/кг. Результаты также представлены на фиг. 5-8.

В табл. 2.2 показана концентрация радиоактивности во всех тканях (выраженной в мкг эквиваленты/г) после однократного внутривенного введения [^{14}C]-LPC-EPA самцам крыс-альбиносов в целевой дозе 190 мг/кг.

Таблица 1.1

DHA-LPC		Время после введения (часы)							
		0,5	3	8	24	72	96	168	336
% дозы/ткань	Кровь	4,40	1,13	0,901	0,870	0,425	0,331	0,136	0,153
	Головной мозг	0,838	0,755	0,684	0,751	1,22	0,970	0,880	1,11
	Почка (полностью)	2,00	1,76	1,50	1,28	0,711	0,714	0,321	0,098
	Селезенка	0,235	0,145	0,155	0,168	0,107	0,075	0,037	0,016

Таблица 1.2

Концентрация радиоактивности во всех тканях (выраженная в мкг эквивалента/г) после однократного внутривенного введения [¹⁴C]-LPC-DNA самцам крыс-альбиносов при целевой дозе 190 мг/кг

Тип ткани	животного: Ткань	№ Временная точка:	48М	49М	50М	51М	52М	45М	46М	47М
			0,5 ч.	3 ч.	8 ч.	24 ч.	72 ч.	96 ч.	168 ч.	336 ч.
Желудочно-кишечный тракт	Содержимое слепой кишки		0,009	0,148	0,433	0,260	0,102	0,047	0,021	0,007
	Слизистая оболочка слепой кишки		1,24	1,80	1,58	1,33	1,27	0,603	0,352	0,238
	Содержимое толстого кишечника		0,005	0,021	1,44	0,356	0,225	0,093	0,042	0,019
	Слизистая оболочка толстого кишечника		1,03	0,764	0,766	1,83	1,19	0,729	0,271	0,187
	Содержимое тонкого кишечника		1,86	0,852	0,235	0,311	0,140	0,073	0,082	0,028
	Слизистая оболочка тонкого кишечника		7,84†	4,59	3,04	3,29	1,13	0,980	0,549	0,167
	Содержимое желудка		0,005	0,006	BLQ	0,015	0,013	BLQ	0,008	0,005
	Слизистая оболочка кардиального отдела желудка		0,961	0,610	0,392	0,649	0,464	0,388	0,405	0,179
	Слизистая оболочка железистого желудка		1,71	1,35	1,213	1,11	0,740	0,575	0,466	0,221

ЦНС	Головной мозг	2,37	2,13	1,90	2,10	3,41	2,80	2,49	3,12
	Хориондное сплетение	0,867	2,23	2,91	NS	1,70	NS	0,440	0,686
	Спинальный мозг	2,10	1,86	2,06	2,33	4,70	3,28	3,07	4,05
	Спинномозговые нервы	15,3 [†]	9,99	5,94 [†]	4,62	2,17	4,09	0,942	1,53
Соединительная	Кость	0,077	0,093	0,048	0,037	0,061	0,026	0,041	0,012
Кожная	Кожа	0,887	0,344	0,355	0,331	0,450	0,352	0,381	0,308
Эндокринная	Надпочечная железа	1,38	1,75	1,39	1,83	2,27	2,01	1,08	0,606
	Шишковидное тело	0,980	1,64	2,03	1,75	3,26	1,85	NS	2,53
	Шишковидная железа	3,95	7,39 [†]	2,36	2,38	4,92	3,38	2,09	1,25
	Щитовидная железа	1,02	1,24	1,35	1,14	0,780	0,759	0,237	0,210
Выделительная/ метаболическая	Печень	11,2 [†]	10,6 [†]	8,83 [†]	6,32 [†]	2,76	2,11	1,06	0,436
	Почка: кортикальный слой	5,77 [†]	5,86 [†]	4,87	4,22	1,98	1,76	0,952	0,309
	Почка: медуллярное вещество	3,01	2,18	1,85	1,72	1,05	1,22	0,484	0,145
	Почка: полностью	4,10	3,59	3,02	2,59	1,44	1,49	0,659	0,199
	Содержимое мочевого пузыря	2,15	NS	NS	0,135	NS	0,087	0,041	0,005
	Стенка мочевого пузыря	0,869	NS	0,296	0,595	0,820	0,529	0,317	0,196
Экзокринная	Внеорбитальная слезная железа	0,867	0,898	0,864	0,826	0,989	0,658	0,816	0,223
	Гардерова железа	2,47	2,78	2,71	1,89	0,615	0,440	0,226	0,092
	Поджелудочная железа	0,677	1,08	1,03	1,20	1,42	1,14	0,719	0,509
	Железа Тайсона	6,09	5,18	NS	10,1 [†]	21,4 [†]	5,67 [†]	7,63	NS
	Слюнная железа	2,10	1,70	1,73	1,33	1,46	1,04	0,490	0,339
Жировая	Жир: бурый	1,17	1,57	1,64	1,23	2,10	1,34	0,818	0,691
	Жир: белый	0,115	0,664	0,838	1,05	1,64	1,30	1,01	0,766
Ткань глаза	Глаз: хрусталик	BLQ	BLQ	BLQ	0,031	0,031	0,045	0,019	0,019
	Глаз: полностью	0,649	0,274	0,451	0,426	0,072	0,127	0,033	0,075
Ткань органов размножения	Придаток яичка	3,35	1,94	1,99	1,35	1,62	1,51	0,560	0,664
	Предстательная железа	0,641	0,352	NS	0,454	0,421	0,684	0,528	0,162
	Семенные железы	1,19	0,885	0,510	0,782	0,658	0,431	0,410	0,127
	Семенник	2,57	1,33	0,735	0,538	0,477	0,450	0,296	0,282
Легочная	Легкое	2,27	1,34	1,24	0,761	0,570	0,313	0,254	0,159
Ткань скелета/ мышечная ткань	Мышцы (скелета)	0,326	0,331	0,328	0,486	0,738	0,663	0,620	0,639
	Миокард	1,02	1,96	2,31	2,59	3,89	2,59	2,35	2,17
Сосудистая/ лимфатическая	Кровь (сердечная)	1,38	0,356	0,280	0,271	0,133	0,105	0,045	0,048
	Костный мозг	1,47	1,40	1,20	1,47	0,707	0,573	0,266	0,194
	Лимфатический проток	2,72	0,706	0,286	0,227	NS	0,105	0,053	0,037
	Лимфатический узел	1,40	0,952	0,919	0,933	0,813	0,625	0,477	0,108
	Селезенка	1,72	1,05	1,11	1,21	0,772	0,561	0,269	0,116
	Вилочковая железа	0,952	0,839	0,706	0,629	0,480	0,300	0,135	0,073
†	Выше предела точного количественного анализа (> 5,31 мкг эквивалента/г)								
BLQ	Ниже предела точного количественного анализа (< 0,004 мг эквивалента/г)								
NS	Образец отсутствует – ткань не разрезана								

Таблица 2.1

ЭРА-LPC		Время после введения (часы)							
		0,5	3	8	24	72	96	168	336
% дозы/ткань	Кровь	7,61	2,45	1,49	0,538	0,319	0,475	0,203	0,174
	Головной мозг	0,565	0,47	0,467	0,336	0,326	0,666	0,4	0,677
	Почка (полностью)	4,57	2,93	1,25	0,799	0,598	0,635	0,249	0,14
	Селезенка	0,295	0,285	0,243	0,141	0,11	0,122	0,038	0,019

Таблица 2.2

Концентрация радиоактивности во всех тканях (выраженной в мкг эквиваленты/г) после однократного внутривенного введения [¹⁴C]-LPC-EPA самцам крыс-альбиносов в целевой дозе 190 мг/кг

Тип ткани	животного: Ткань точка:	№ Временная	32М	33М	34М	35М	36М	29М	30М	31М
			0,5 ч.	3 ч.	8 ч.	24 ч.	72 ч.	96 ч.	168 ч.	336 ч.
Желудочно-кишечный тракт	Содержимое слепой кишки	слепой кишки	0,008	0,864	0,562	0,066	0,034	0,049	0,017	0,008
	Слизистая оболочка слепой кишки	оболочка слепой кишки	3,30	2,62	2,18	1,81	0,662	0,890	0,217	0,194
	Содержимое толстого кишечника	толстого кишечника	0,004	0,022	1,05	0,106	0,043	0,082	0,062	0,024
	Слизистая оболочка толстого кишечника	оболочка толстого кишечника	2,15	1,86	2,12	0,933	0,546	0,536	0,338	0,182
	Содержимое тонкого кишечника	тонкого кишечника	2,22	0,925	0,256	0,188	0,232	0,149	0,045	0,033
	Слизистая оболочка тонкого кишечника	оболочка тонкого кишечника	11,7 [†]	7,76 ⁻	4,34	1,92	0,840	0,864	0,235	0,171
	Содержимое желудка	желудка	BLQ	0,006	0,004	BLQ	0,012	0,019	0,007	0,006
	Слизистая оболочка кардиального отдела желудка	оболочка кардиального отдела желудка	1,49	1,09	0,477	0,311	0,348	0,589	0,258	0,143
	Слизистая оболочка железистого желудка	оболочка железистого желудка	1,60	1,93	1,56	0,774	0,642	0,716	0,278	0,176
ЦНС	Головной мозг		1,55	1,33	1,30	0,933	0,907	1,83	0,951	1,86
	Хориоидное сплетение		2,35	NS	NS	0,384	0,502	0,673	0,237	0,370
	Спинальный мозг		1,47	1,54	1,64	1,19	1,13	2,03	1,221	1,88
	Спинальные нервы		14,7 [†]	10,0 ⁻	8,50	3,35	2,38	1,36	0,977	1,84
Соединительная	Кость		0,053	0,201	0,088	0,058	0,031	0,029	0,022	0,005
Кожная	Кожа		0,898	0,600	1,23	0,313	0,296	0,489	0,229	0,270
Эндокринная	Надпочечная железа		1,61	1,74	2,19	2,36	1,31	1,78	0,673	0,662

	Шишковидное тело	3,22	3,08	NS	1,19	1,45	2,63	1,03	2,09
	Шишковидная железа	2,37	2,70	3,70	1,38	1,34	2,11	1,00	1,20
	Щитовидная железа	1,58	1,91	2,05	1,35	0,731	1,04	0,326	0,371
Выделительная/ метаболическая	Печень	15,3 [†]	9,25 ⁻	7,70 [†]	2,96	1,47	2,02	0,628	0,386
	Почка: кортикальный слой	13,3 [†]	10,1 ⁻	3,79	2,56	1,71	1,74	0,565	0,344
	Почка: медуллярное вещество	6,46 [†]	3,51	1,81	1,10	0,942	0,959	0,342	0,260
	Почка: полностью	9,07 [†]	5,98 ⁻	2,51	1,61	1,20	1,27	0,429	0,277
	Содержимое мочевого пузыря	NS	0,977	0,365	NS	NS	0,151	0,049	0,085
	Стенка мочевого пузыря	0,841	0,907	1,10	0,433	NS	0,473	0,246	0,207
Экзокринная	Внеорбитальная слезная железа	0,686	0,613	0,774	0,766	0,659	1,01	0,539	0,281
	Гардерова железа	2,59	2,74	2,68	2,08	0,471	0,388	0,181	0,105
	Поджелудочная железа	0,916	2,02	2,23	1,34	1,40	1,86	0,690	0,535
	Железа Тайсона	10,4 [†]	NS	8,00 [†]	8,17 [†]	6,28 [†]	7,40 ⁻	1,54	1,82
	Слюнная железа	1,78	2,50	1,81	1,51	0,907	1,36	0,446	0,486
Жировая	Жир: бурый	0,618	8,67 ⁻	2,87	4,61	1,62	1,23	0,632	0,482
	Жир: белый	0,063	0,466	0,890	0,492	1,15	1,68	0,847	1,33
Ткань глаза	Глаз: хрусталик	0,038	0,034	0,033	0,033	0,036	0,014	0,017	0,047
	Глаз: полностью	0,353	0,116	0,112	0,057	0,076	0,070	0,030	0,059
Ткань органов размножения	Придаток яичка	2,93	1,57	1,10	1,31	0,951	0,751	0,358	0,211
	Предстательная железа	NS	0,531	0,769	NS	0,222	0,431	0,218	0,107
	Семенные железы	1,01	1,33	1,36	1,03	0,527	0,656	0,372	0,250
	Семенник	2,12	1,37	0,727	0,320	0,236	0,321	0,186	0,147
Легочная	Легкое	3,36	1,14	1,52	0,788	0,513	0,709	0,283	0,188
Ткань скелета/ мышечная ткань	Мышцы (скелета)	0,432	0,318	0,383	0,424	0,626	0,707	0,370	0,462
	Миокард	1,19	2,63	2,66	1,52	1,47	2,49	1,36	1,53
Сосудистая/ лимфатическая	Кровь (сердечная)	2,32	0,765	0,461	0,166	0,098	0,147	0,053	0,053
	Костный мозг	2,76	2,36	2,06	1,20	0,695	0,784	0,204	0,144
	Лимфатический проток	3,45	1,13	NS	0,414	0,609	0,176	0,045	0,024
	Лимфатический узел	1,69	1,66	1,40	0,869	0,550	0,712	0,270	0,081
	Селезенка	2,09	2,08	1,75	1,01	0,789	0,865	0,234	0,134
	Вилочковая железа	1,52	1,56	1,31	0,815	0,362	0,502	0,208	0,110
†	Выше предела точного количественного анализа (> 4,96 мкг эквивалента/г)								
BLQ	Ниже предела точного количественного анализа (< 0,004 мг эквивалента/г)								
NS	Образец отсутствует – ткань не разрезана								

Пример 3. Фармакокинетика LPC - внутривенное введение.

10 самцов крыс Спрег-Доули с массой тела 229-286 г и возрастом приблизительно 7-8 недель на момент введения дозы содержались в полипропиленовых клетках и оставались в них, за исключением короткого периода во время введения дозы. Помещение, в котором находились животные, подвергалось термостатическому контролю, и данные непрерывно регистрировались (обычно диапазон температур составлял $21 \pm 2^\circ\text{C}$; диапазон влажности $55 \pm 10\%$), и подвергалось 12-часовому флуоресцентному освещению и 12-часовому режиму темноты в день. Перед использованием животных уравнивали в стандартных условиях помещения для животных в течение минимум 3 дней. Состояние здоровья животных отслеживали в течение всего этого периода, и перед использованием подтверждали пригодность каждого животного для экспериментального использования.

Гранулированный рацион (RM1 (E) SQC, Special Diets Services, Уитхем, Эссекс, UK) и вода (из бытового водоснабжения) были доступны по желанию в течение всего периода содержания, акклиматизации и периода после введения дозы.

10 самцов крыс Спрег-Доули (две группы по пять особей) получали однократное внутривенное введение либо состава А, либо состава В (пять на состав) в соответствии с характеристиками дозировки, указанной в примере 1. Каждую крысу взвешивали перед введением дозы, и отдельные вводимые дозы рассчитывали на основе массы тела и указанного объема дозы.

Дозировочная посуда для внутривенного введения состояла из шприца для подкожных инъекций и иглы. Дозу вводили непосредственно в хвостовую вену в виде медленного болюса в течение 30 с.

Серийные образцы цельной крови (каждый примерно 0,15 мл в первые 24 ч и примерно 0,21 мл в последующих образцах) собирали через хвостовую вену от каждого животного в точках: через 0,2, 0,5,

0,75, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, 30, 48, 72 и 96 ч после введения дозы. Конечный образец цельной крови (приблизительно от 6 до 8 мл) получали от каждого животного посредством пункции сердца под изофлурановой анестезией через 168 ч после введения дозы. После последнего взятия крови животных умерщвляли путем смещения шейных позвонков.

Цельную кровь собирали в пробирки, содержащие литий-гепарин в качестве антикоагулянта.

Как только это было практически возможно после сбора, образцы центрифугировали (при примерно 3000 G при + 4°C в течение 10 мин), полученную плазму крови удаляли в простые пробирки, а клетки крови отбрасывали. Любые остаточные образцы плазмы крови хранили при температуре примерно -20°C.

Для исследований фармакокинетики отдельные данные о концентрации радиоактивности в плазме крови были введены в PCModfit v4.0. Соответствующие фармакокинетические параметры были получены с использованием некомпартментного анализа (линейный/логарифмический трапециевидный). Рассчитанные фармакокинетические параметры (при необходимости) были следующими:

C_{max} : Максимальная наблюдаемая концентрация;

t_{max} : Временная точка, в которой наблюдалась C_{max} ;

$t_{1/2}$: Период полураспада для конечной фазы выведения;

AUC_{0-t} : Площадь под кривой зависимости концентрации от времени от момента времени 0 до времени окончательного отбора образцов;

AUC_{0-inf} : Площадь под кривой зависимости концентрации от времени от момента времени 0, экстраполированного на бесконечное время.

Для самцов крыс Спрег-Доули, выбранных для фармакокинетического исследования, которые получили однократную внутривенную дозу [^{14}C]-LPC-EPA с целевой дозой 1,55 мг/кг (радиоактивная доза примерно 1,5 мКи/крыса), максимальная средняя концентрация общей радиоактивности в плазме крови (10,6 мкг-экв./г) произошла через 0 ч после введения дозы. После этого общие концентрации радиоактивности снизились и были обнаружены во время окончательного отбора проб (0,0403 мкг-экв./г; 168 ч).

Концентрации в крови достигли максимальной средней концентрации общей радиоактивности (6,15 мкг-экв./г) через 0 ч после введения дозы. После этого общие концентрации радиоактивности снизились и были обнаружены во время окончательного отбора проб (0,0840 мкг-экв./г; 168 ч).

Фармакокинетические параметры общей радиоактивности, измеренные в плазме крови и цельной крови после однократного внутривенного введения [^{14}C]-LPC-EPA самцам крыс Спрег-Доули в средней дозе 1,5 мг/кг в интралипиде (190 мг/мл), показаны в табл. 3а и 3б соответственно.

Таблица 3а

Плазма крови	
Параметр	Среднее значение
C_{max} (мкг.экв./г)	10,6
T_{max} (ч.)	0
$T_{1/2}$ (ч.)	57,6
AUC_{0-t} (мкг.ч/мл)	34,7
AUC_{0-inf} (мкг.ч/мл)	38,0

Таблица 3б

Кровь	
Параметр	Среднее значение
C_{max} (мкг.экв./г)	6,15
T_{max} (ч.)	0
$T_{1/2}$ (ч.)	115
AUC_{0-t} (мкг.ч/мл)	29,4
AUC_{0-inf} (мкг.ч/мл)	43,3

Для самцов крыс Спрег-Доули, выбранных для фармакокинетического исследования, которые получили однократную внутривенную дозу [^{14}C]-LPC-DHA с целевой дозой 1,55 мг/кг (радиоактивная доза

примерно 1,5 мкКи/крыса), максимальная средняя концентрация общей радиоактивности в плазме крови (5,08 мкг·экв./г) произошла через 0 ч после введения дозы. После этого общие концентрации радиоактивности снизились и были обнаружены во время окончательного отбора проб (0,0611 мкг·экв./г; 168 ч).

Концентрации в крови достигли максимальной средней концентрации общей радиоактивности (2,46 мкг·экв./г) через 0 ч после введения дозы. После этого общие концентрации радиоактивности снизились и были обнаружены во время окончательного отбора проб (0,115 мкг·экв./г; 168 ч).

Фармакокинетические параметры общей радиоактивности, измеренные в плазме крови и цельной крови после однократного внутривенного введения [¹⁴C]-LPC-DHA самцам крыс Спрег-Доули в средней дозе 1,5 мг/кг в интралипиде (190 мг/мл), показаны в табл. 4а и 4б соответственно.

Таблица 4а

Плазма крови	
Параметр	Среднее значение
C _{max} (мкг·экв./г)	5,08
T _{max} (ч.)	0
T _{1/2} (ч.)	61,3
AUC _{0-t} (мкг·ч/мл)	40,8
AUC _{0-inf} (мкг·ч/мл)	46,3

Таблица 4б

Кровь	
Параметр	Среднее значение
C _{max} (мкг·экв./г)	2,46
T _{max} (ч.)	0
T _{1/2} (ч.)	159
AUC _{0-t} (мкг·ч/мл)	35,1
AUC _{0-inf} (мкг·ч/мл)	61,4

Пример 4. Фармакокинетическое моделирование LPC - внутривенное введение по сравнению с пероральным введением.

Внутривенно введенные [¹⁴C]-LPC-DHA и [¹⁴C]-LPC-EPA дополнительно анализировали компартментным фармакокинетическим моделированием. Кривые зависимости концентрации в плазме крови и крови от времени были описаны трехкомпонентной моделью конечного распределения и удаления, в которой до трех компартментов рециркуляции все напрямую связаны с центральным (плазменным) компартментом. Общая структура модели представлена на фиг. 9.

Для обеспечения зависимого от времени выхода и входа компартменты рециркуляция были смоделированы с помощью непрерывных ступенчатых функций Хевисайда. Полная матрица модели конечного распределения (отделенная от модели рециркуляции) представлена на панели ниже.

$$\begin{aligned} \frac{\partial q_2}{\partial t} &= q_3 \cdot k_{1;2,3} + q_4 \cdot k_{1;2,4} - q_1 \cdot k_{1;2,1} + q_5 \cdot k_{1;2,5} - q_6 \cdot k_{1;2,6} - q_2 \cdot [k_{1;0,2} + k_{1;4,2} + k_{1;2,2} - k_{1;1,2} + k_{1;5,2} + k_{1;6,2}] \\ \frac{\partial q_3}{\partial t} &= q_2 \cdot k_{1;3,2} - q_3 \cdot k_{1;3,3} \\ \frac{\partial q_4}{\partial t} &= q_2 \cdot k_{1;4,2} - q_4 \cdot k_{1;4,4} \\ \frac{\partial q_5}{\partial t} &= q_2 \cdot k_{1;5,2} - q_5 \cdot k_{1;5,5} \\ \frac{\partial q_6}{\partial t} &= q_2 \cdot k_{1;6,2} - q_6 \cdot k_{1;6,6} \end{aligned}$$

Болюсная доза D представлена в компартмент q2

Для обеспечения возможности одновременного включения-выключения входа и выхода рециркуляции без потерь в центральный (плазменный) компартмент регулировались 3 функции Хевисайда, настроенные параллельно с той же функцией, перевернутой, как показано на панели ниже.

$$\begin{aligned} k_{(5,2)} &= k_{01} \left[0.5(1 + \arctan(L(t_{lag1} - t))) \cdot \frac{2}{\pi} \right] & k_{(2,5)} &= k_{i1} \left[0.5(1 + \arctan(L(t - t_{lag1}))) \cdot \frac{2}{\pi} \right] \\ k_{(6,2)} &= k_{02} \left[0.5(1 + \arctan(L(t_{lag2} - t))) \cdot \frac{2}{\pi} \right] & k_{(2,6)} &= k_{i2} \left[0.5(1 + \arctan(L(t - t_{lag2}))) \cdot \frac{2}{\pi} \right] \\ k_{(2,1)} &= k_{03} \left[0.5(1 + \arctan(L(t_{lag3} - t))) \cdot \frac{2}{\pi} \right] & k_{(1,2)} &= k_{i3} \left[0.5(1 + \arctan(L(t - t_{lag3}))) \cdot \frac{2}{\pi} \right] \end{aligned}$$

Отдельные компартменты могут быть пустыми путем установки значения выхода и соответствующего входа на 0

Поскольку поток через управляемую ступенчатую функцию имеет меньшие потери и ограничен полудискретным временным интервалом перед фазами конечного распределения и удаления, микроконстанты регулярного распределения и удаления (в отношении компартментов q2, q3 и q4) могут быть решены для соответствующих макроконстант: 2 константы распределения, лямбда2 и лямбда3, а также константа удаления, лямбда1, на основе которой могут быть рассчитаны соответствующие периоды полураспада.

Установка (микро)констант скорости систем таким образом, чтобы:

$$\begin{aligned} a_0 &= k_{10,2} \cdot k_{1,2,1} \cdot k_{1,2,1} \\ a_1 &= (k_{10,2} \cdot k_{1,2,1}) + (k_{1,2,3} \cdot k_{1,2,1}) + (k_{1,2,5} \cdot k_{1,2,1}) \\ &\quad + (k_{10,2}) \cdot k_{1,2,3} + (k_{1,2,1} \cdot k_{1,2,2}) \\ a_2 &= k_{10,2} + k_{1,2,1} \cdot k_{1,2,1} + k_{1,2,1} \cdot k_{1,2,2} \end{aligned}$$

моделю дают:

$$\begin{aligned} \mu_1 - a_1 - \left(\frac{d_1^2}{3}\right) & \quad \mu_2 = \left(\frac{2\mu_1^2}{27}\right) \cdot \left[\frac{27a_2^2}{3}\right] + a_0 \\ r_1 = \sqrt{\frac{r_1^2 - \frac{d_1^2}{3}}{3}} & \quad r_2 = 2 \cdot \sqrt{r_1} \quad r_3 = \frac{\arccos\left(\frac{2r_1^2}{3}\right)}{3} \end{aligned}$$

Это кубическое уравнение может быть решено с получением макроконстант скорости и их

$$\begin{aligned} \lambda_1 &= -[\cos(r_1) \cdot r_2 - \left(\frac{d_1^2}{3}\right)] & t_{1/2,1} \lambda_1 &= \frac{\ln(2)}{\lambda_1} \\ \lambda_2 &= -[\cos\left(r_1 + \frac{2\pi}{3}\right) \cdot r_2 - \left(\frac{d_1^2}{3}\right)] & t_{1/2,2} \lambda_2 &= \frac{\ln(2)}{\lambda_2} \\ \lambda_3 &= -[\cos\left(r_1 + \frac{4\pi}{3}\right) \cdot r_2 - \left(\frac{d_1^2}{3}\right)] & t_{1/2,3} \lambda_3 &= \frac{\ln(2)}{\lambda_3} \end{aligned}$$

системных объемов и допусков, определяемых микроконстантами

$$\begin{aligned} CL_R &= k_{1,1,2} \cdot V_2 \\ CL_1 &= k_{1,1,1} \cdot V_1 = k_{1,2,2} \cdot V_2 & V_2 &= \frac{k_{1,1,2}}{k_{1,2,1}} \cdot V_1 & V_3 &= \frac{k_{1,1,2}}{k_{1,2,1}} \cdot V_1 & V_4 &= V_3 + V_2 \\ CL_3 &= k_{1,1,3} \cdot V_1 = k_{1,2,3} \cdot V_2 \end{aligned}$$

Программное обеспечение для компартментного моделирования SAAM II версии 2.3.1.1 (Вашингтонский университет и Epsilon Group) использовалось для создания и выполнения этой модели.

Аналогичная модель, но с моделью задержки регуляции усвоения из кишечника, была создана для описания перорально вводимых ¹⁴C]-LPC-DHA и ¹⁴C]-LPC-EPA. Результат демонстрирует очень похожую кинетику, которая не зависит от способа введения.

Профили ¹⁴C]-LPC-DHA и ¹⁴C]-LPC-EPA в плазме крови и крови, полученные в экспериментах на животных, как описано в примере 2, демонстрируют некоторые очень необычные свойства, в частности, быструю и обширную рециркуляцию массы из центрального компартмента. Оценки параметров модели

представлены на панели ниже вместе с основными параметрами из некомпартментного статистического анализа. Панель также содержит аналогичные данные для [¹⁴C]-PC-DHA и [¹⁴C]-PC-EPA для сравнения. (PC = фосфатидилхолин).

Некомпартментный параметр	Единицы	Перорально				В/В	
		EPA-PC	EPA-LPC	DHA-PC	DHA-LPC	EPA-LPC	DHA-LPC
Доза ¹⁴ C-FA	мг/кг	3.413	1.681	3.719	1.694	1.522	1.520
AUC 0-t	мг/г*ч	51.7	34.0	41.7	34.4	34.2	40.9
AUC t-inf	мг/г*ч	6.38	3.69	7.19	5.18	3.34	5.42
AUC 0-inf	мг/г*ч	58.1	37.8	48.9	39.5	37.5	46.3
k _e	1/ч	0.0114	0.0115	0.0108	0.0121	0.0121	0.0113
t/2	ч	60.6	60.4	63.9	57.4	57.3	61.4
F	%	na	91.1	na	76.6	100	100
Cl _{tot} (мл/(кг*ч))	мл/(г BW*ч)	na	na	na	na	40.6	32.8
Vdβ (мл/кг)	мл/кг	na	na	na	na	3356	2908
AUMC 0-inf (мкг/экв./г*ч ²)	МКГ/ экв./г*ч ²	3882.5	2311.8	4027.9	2995.5	2200	3266
MRT (часы)	часы	66.8	61.2	82.4	75.7	59	70
Параметр компартментной модели		EPA-PC	EPA-LPC	DHA-PC	DHA-LPC	EPA-LPC	DHA-LPC
V _c	мл/г BW	1.16500	0.77396	1.07400	0.68477	0.13212	0.25662
k(0,2)	1/ч	0.04700	0.07545	0.06900	0.06421	0.31069	0.14516
k(2,3)	1/ч	0.01700	0.00970	0.01400	0.02007	0.01200	0.01287
k(2,4)	1/ч	0.03850	0.03802	0.05600	0.06183	0.03717	0.02690
k(3,2)	1/ч	0.00850	0.01164	0.00900	0.02893	0.01708	0.01612
k(4,2)	1/ч	0.07800	0.08870	0.22500	0.18635	0.42476	0.15812
k(5,1)	1/ч	2.88600	na	1.13300	na	na	na
k(6,1)	1/ч	0.17600	na	1.32600	na	na	na
k _a	1/ч	1.07200	2.42534	5.53100	1.3376	na	na
k _{a2}	1/ч	na	0.71022	na	0.7892	na	na
k _{a3}	1/ч	na	0.17149	na	0.2241	na	na
k _{i1}	1/ч	na	na	na	na	2.67408	3.16003
k _{i2}	1/ч	na	na	na	na	0.54396	0.70964
k _{i3}	1/ч	na	na	na	na	na	0.10254
k _{o1}	1/ч	na	na	na	na	0.40081	4.82757
k _{o2}	1/ч	na	na	na	na	0.22384	0.59763
k _{o3}	1/ч	na	na	na	na	0.00000	0.35856
HS-coeff1 (L1)	na	na	32	na	28.08	30	4
HS-coeff2 (L2)	na	na	23	na	62.40	26	26
HS-coeff3 (L3)	na	na	1	na	0.74000	na	1
t _{lag}	ч	0.48	0.90	0.93	0.87	0.78	1.22
t _{lag2}	ч	1.02	3.69	1.93	3.25	5.59	4.51
t _{lag3}	ч	23.90	15.97	27.83	27.97	na	22.23
Полученный параметр модели COMP		EPA-PC	EPA-LPC	DHA-PC	DHA-LPC	EPA-LPC	DHA-LPC
V _b	мл/г BW	1.74600	1.65365	1.74900	1.67076	0.30827	0.56506
V ₃	мл/г BW	0.58100	0.87969	0.67600	0.98599	0.17615	0.30844
V ₄	мл/г BW	2.36400	1.33755	4.34300	1.93213	1.64764	1.38958
CL ₀	мл/(г BW*ч)	0.05490	0.04376	0.07430	0.04096	0.03739	0.03506
CL ₃	мл/(г BW*ч)	0.00990	0.00851	0.00960	0.02024	0.00230	0.00394
CL ₄	мл/(г BW*ч)	0.09090	0.05189	0.24180	0.11686	0.05587	0.08757
λ ₁	1/ч	0.00967	0.00732	0.00911	0.00866	0.01025	0.00954
λ ₂	1/ч	0.18907	0.19822	0.34671	0.32440	0.77367	0.33384
λ ₃	1/ч	0.98591	0.01797	0.01729	0.02834	0.01573	0.01580
t _{1/2 λ1}	1/ч	71.7	98.5	76.1	80.7	68.9	73.1
t _{1/2 λ2}	1/ч	4.4	4.70	2.0	2.4	0.9	2.3
t _{1/2 λ3}	1/ч	34.3	40.3	40.1	25.5	47.3	44.0
AUCD-t Плазма крови	МКГ/г*ч	na	34.2	na	34.6	35.5	41.8
AUCO-inf Плазма крови	МКГ/г*ч	na	39.0	na	41.8	41.0	47.9
Площадь Vd/F	МКГ/г*ч	na	6151.8	na	4782.7	na	na
Площадь Vd	мл/кг	na	na	na	na	3802.6	3736.7

Данные и модели, показанные на панелях выше, демонстрируют очевидную и последовательную общность их кинетики. Первичные кинетические детерминанты форм PC у двух жирных кислот неожиданно аналогичны.

Нацеленное и контролируемое введение дозы в глубокие ткани:

При пероральном введении все [¹⁴C]-LPC-DHA, [¹⁴C]-LPC-EPA, [¹⁴C]-PC-DHA и [¹⁴C]-PC-EPA демонстрируют очевидные и последовательные колебания во время усвоения и раннего распределения, данные о времени концентрации в плазме крови и компартментная модель показывают очевидную разницу в колебаниях, наблюдаемых в течение первых 24 ч после приема внутрь, причем LPC показывает наибольшие колебания. Однако наиболее очевидная разница между внутривенно вводимыми [¹⁴C]-LPC-DHA и [¹⁴C]-LPC-EPA и другими формами. Такие быстрые колебания в кривой зависимости концентрации от времени указывают на то, что введенные LPC-EPA и LPC-DHA очень быстро усваиваются некоторыми органами, в частности теми, в которые очень хорошо переливается кровь и которые также несут переносчик Mfsd2a EPA-LPC DHA-LPC, такие как мозг, глазные органы, печень и слизистая оболочка

кишечника. Способность компартментной модели точно описывать наблюдаемые колебания позволяет использовать ее для моделирования эффектов других режимов дозирования. На фиг. 13 представлено графическое представление данных и модели, моделирующей использование долгосрочной постоянной инфузии, а не болюсной инъекции. Моделирование предполагает, что в ткани с большим количеством переливаний, такие как головной мозг, может поступать постоянная и надлежащим образом титрованная доза LPC, связанная с EPA и DHA. Таким образом, это обеспечивает средство, с помощью которого можно снабжать такие глубокие ткани (головной мозг, селезенку, сетчатку, слизистую оболочку кишечника, костный мозг, лейкоциты, печень, репродуктивные органы, кожу (список не исчерпывающий)) терапевтическими концентрациями EPA и DHA. На фиг. 13 показано, как осторожная (такое же количество, как при введении однократной болюсной дозы в течение 12 ч) непрерывная инфузия LPC-DHA в течение 48 ч может создать длительное стабильное плато, которое все же не дает такого же резкого всплеска, как болюс. Болюс вводится в момент времени 0, в то время как инфузия начинается в при 200 ч и длится до 248 ч.

Пример 5. Эффекты композиции, содержащей комбинацию LPC EPA и LPC DHA.

В этом примере представлены данные трехнедельного ежедневного введения доз различных композиций лизофосфолипидов масла криля, содержащих LPC-EPA и LPC-DHA. Представляло интерес исследовать, вызывают ли композиции лизофосфолипидов масла криля повышение LPC-DHA/EPA в плазме крови и увеличение всего содержания EPA и DHA в головном мозге. Содержание EPA, DHA и общего количества омега-3 в этих маслах приведено в табл. 5 ниже. Композиции лизофосфолипидов масла криля различной чистоты и их получение были подробно описаны ранее (WO2019/123015).

Таблица 5

Содержание EPA, DHA и общего количества омега-3 в тестируемых продуктах

	Содержание ЖК в масле (г/100 г)			Фосфолипид-связанный	
	EPA	DHA	Общее количество омега-3	EPA	DHA
Партия A100588-20190924					
Оливковое масло	0	0	0	0	0
Boost	17,3	10,0	35,2	11,1	6,3
Неочищенное (27% LPC)	16,9	9,9	34,7	10,6	6,7
Очищенное (89% LPC)	23,7	11,7	44,0	23,2	11,3

Двадцать четыре самца крысы были разделены на шесть групп и получали ежедневно пероральный желудочный зонд в течение 3 недель, содержащий: группа 1) оливковое масло (0 мг/кг/день EPA и 0 мг/кг/день DHA); группа 2) неочищенное (27% LPC), низкая доза (185 мг/кг/день EPA и 108 мг/кг/день DHA), 3) неочищенное (27% LPC), средняя доза (370 мг/кг/день EPA и 217 мг/кг/день DHA), 4) неочищенное (27% LPC), высокая доза (926 мг/кг/день EPA и 543 мг/кг/день DHA), 5) неочищенное (89% LPC), средняя доза (324 мг/кг/день EPA и 160 мг/кг/день DHA), 6) масло криля от Superba Boost, средняя доза (379 мг/кг/день EPA и 219 мг/кг/день DHA).

LPC-DHA и LPC-EPA экстрагировали из плазмы крови с использованием протокола Блая и Дайера и растворяли в этаноле перед анализом ЖХ-МС/МС. Образцы собирали на исходном уровне (T0), через 10 дней перорального желудочного зондирования (T1) и через 22 дня перорального желудочного зондирования (T2). Результаты представлены на фиг. 14 и 15. Крысы, получавшие композиции лизофосфолипидов масла криля, показали увеличение LPC-DHA в плазме крови в T1 и LPC-EPA в T1 и T2 по сравнению с группой, получавшей оливковое масло, а также дозозависимое увеличение LPC-EPA в плазме крови. В целом, повышение содержания LPC-EPA/DHA в плазме крови указывает на то, что больше EPA и DHA доступно для поглощения головным мозгом через mfsd2a.

После гомогенизации и сушки вымораживанием ткани мозга все ЖК в головном мозге экстрагировали с помощью протокола Блая и Дайера, гидролизовали и анализировали с помощью ВЭЖХ. Как видно на фиг. 16, существует очень сильная зависимость "доза-ответ", при этом более высокие дозы EPA связаны с более высокими концентрациями EPA в головном мозге (нг/мг). Неожиданно не было разницы в концентрации EPA в головном мозге между композициями лизофосфолипидов "неочищенного" и "очищенного" масла криля в аналогичных дозах. Однако крысы, получавшие композиции лизофосфолипидов масла криля, показывают более высокие концентрации EPA в головном мозге, чем крысы, получавшие масло криля от Superba Boost в аналогичных дозах. Это означает, что поглощение EPA головным мозгом из двух композиций лизофосфолипидов масла криля выше, чем у масла криля от Superba Boost, и это связано с относительно более высоким содержанием LPC-EPA в композициях лизофосфолипидов масла криля.

Анализ сложных метиловых эфиров жирных кислот (FAME) с помощью GC-FID использовали для оценки концентрации ДНА в головном мозге по отношению к общему количеству жирных кислот (фиг. 17) и арахидоновой кислоты (ARA; 20:4 n-6) (фиг. 18). Результаты показывают, что соотношение ДНА:общее количество ЖК зависит от дозы, причем высокая доза неочищенного масла показывает самое высокое соотношение, за ней следует средняя доза неочищенного масла. При средней дозе крысы, которым давали неочищенное масло, показали более высокое соотношение ДНА: общее количество ЖК, чем масло криля от Superba Boost, и это, вероятно, связано с более высокими количествами LPC-ДНА и LPC-EPA (и последующим повышением усвоения ДНА/EPA через mfsd2a) в лизофосфолипидном продукте по сравнению с маслом криля от Superba Boost. Аналогично на фиг. 18 снова показан более благоприятный профиль жирных кислот в головном мозге крыс, которым вводили композиции лизофосфолипидов. В данном документе наблюдается дозозависимое уменьшение соотношения АРА:ДНА, при этом высокая доза неочищенного масла имеет самое низкое соотношение. Кроме того, при сравнении аналогичных доз неочищенного масла и масла от Superba Boost данные показывают большее снижение соотношения АРА:ДНА для композиции неочищенного лизофосфолипида по сравнению с маслом криля от Superba Boost.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

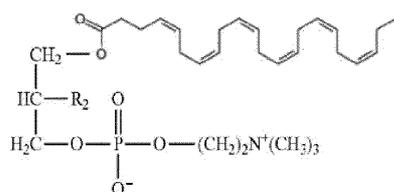
1. Применение фармацевтической композиции для профилактики и/или лечения черепно-мозговой травмы, где

указанная фармацевтическая композиция содержит один или более активных компонентов и один или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ;

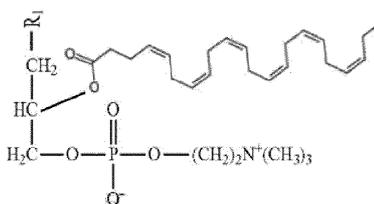
один или более активных компонентов включает соединение формулы 1 или его фармацевтически приемлемую соль и/или соединение формулы 3 или его фармацевтически приемлемую соль; и

указанную фармацевтическую композицию вводят внутривенно;

Формула 1



Формула 3



где R₁ представляет собой OH или O-CO-(CH₂)_n-CH₃;

R₂ представляет собой OH или O-CO-(CH₂)_n-CH₃; и

n равно 0, 1 или 2.

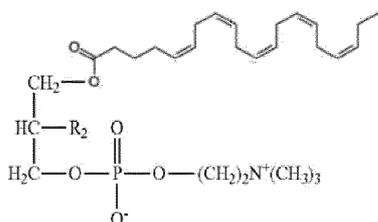
2. Применение по п.1, где одно или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ выбраны из группы, состоящей из одного или более компонентов, подходящих для солюбилизации одного или более активных компонентов; одного или более компонентов с эмульгирующими свойствами; и одного или более компонентов для приведения тоничности в соответствие с физиологическими условиями.

3. Применение по п.1 или 2, где одно или более фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ включает один или более антиоксидантов, таких как α-токоферол, аскорбиновая кислота, мезилат дефероксамина, тиогликолевая кислота.

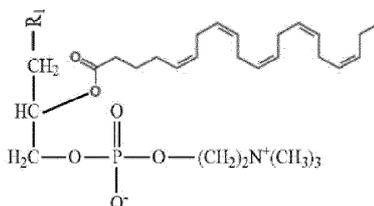
4. Применение по любому из пп.1-3, где указанная фармацевтическая композиция дополнительно содержит по меньшей мере один фармацевтически приемлемый липидный носитель, такой как липосомы.

5. Применение по п.1, где один или более активных компонентов дополнительно содержит соединение формулы 2 или его фармацевтически приемлемую соль и/или соединение формулы 4 или его фармацевтически приемлемую соль;

Формула 2



Формула 4



где R₁ представляет собой OH или O-CO-(CH₂)_n-CH₃;

R₂ представляет собой OH или O-CO-(CH₂)_n-CH₃; и

n равно 0, 1 или 2.

6. Применение по любому из пп.1-5, где R_1 представляет собой OH и R_2 представляет собой OH.

7. Применение по п.5, где R_2 в формулах 1 и 2 представляет собой -OH, и R_1 в формулах 3 и 4 представляет собой -OH, так что формулы 1 и 3 соответствуют lysoPC-DHA, а формулы 2 и 4 соответствуют lysoPC-EPA, и где молярное отношение lysoPC-DHA: lysoPC-EPA находится в диапазоне от 1:1 до 10:1.

8. Применение по п.5, где один или более активных компонентов составляет от 10 до 99% по массе фармацевтической композиции.

9. Применение по любому из пп.1-8, где один или более активных компонентов составляет от 50 до 99% по массе фармацевтической композиции.

10. Применение по любому из пп.1-9, где указанная черепно-мозговая травма представляет собой закрытую черепно-мозговую травму.

11. Применение по любому из пп.1-10, отличающееся тем, что внутривенное введение осуществляют путем одной или более инъекций.

12. Применение по любому из пп.1-11, где указанное внутривенное введение осуществляют с помощью менее 5 инъекций.

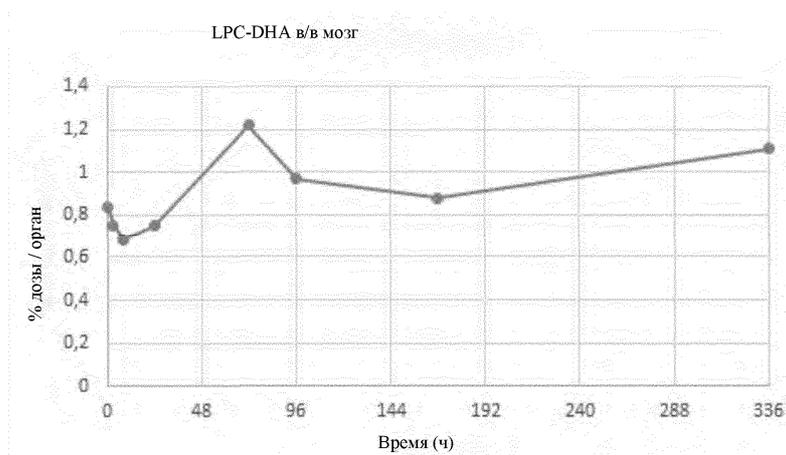
13. Применение по любому из пп.1-12, где указанное внутривенное введение осуществляют путем инфузии в течение более 6 ч.

14. Применение по любому из пп.1-13, где

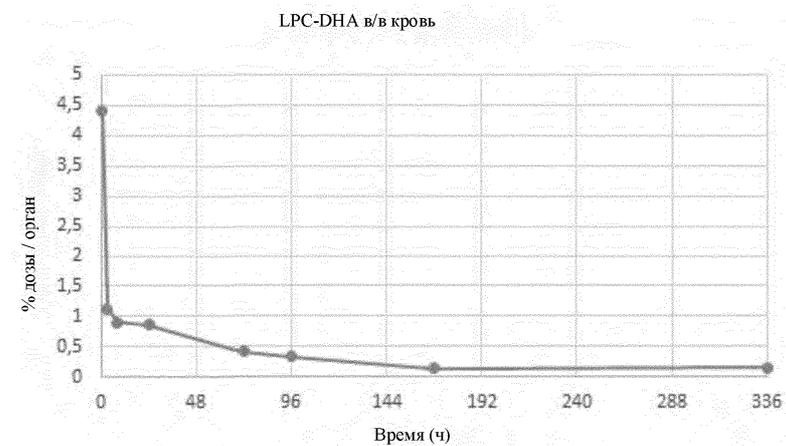
указанную фармацевтическую композицию применяют для профилактики черепно-мозговой травмы; и

указанную фармацевтическую композицию вводят в профилактически эффективном количестве в течение достаточного периода времени до начала деятельности, связанной с риском черепно-мозговой травмы, для снижения риска патологических эффектов черепно-мозговой травмы.

15. Применение по любому из пп.1-14, где черепно-мозговая травма не включает повреждение мозга, вызванное ишемией/реперфузией.

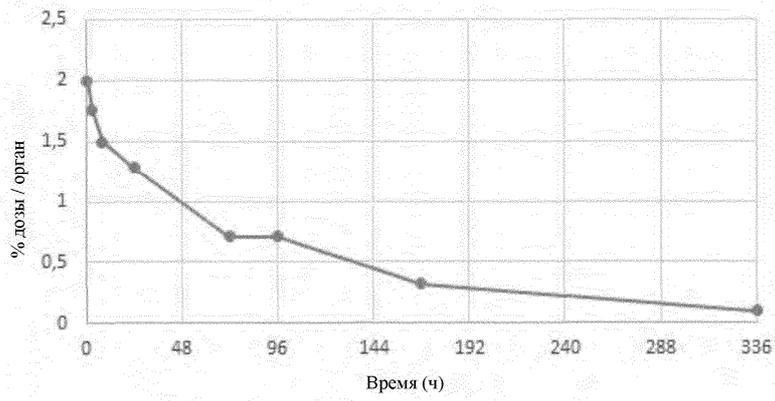


Фиг. 1



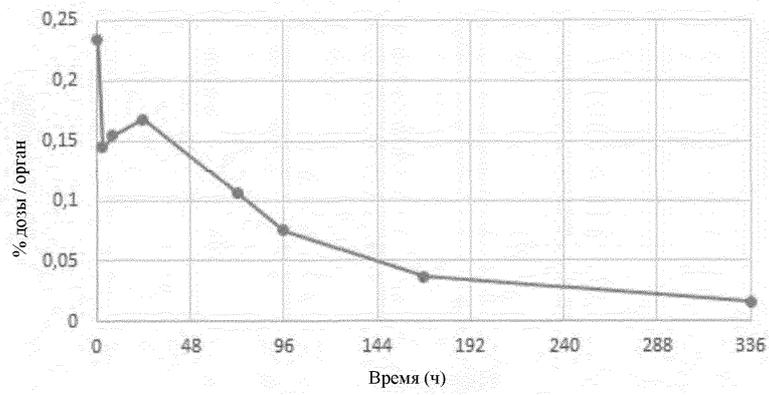
Фиг. 2

LPC-DHA в/в почки



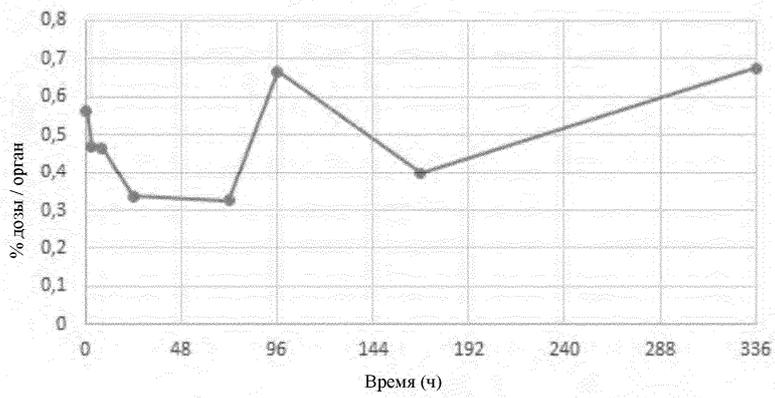
Фиг. 3

LPC-DHA в/в селезенка



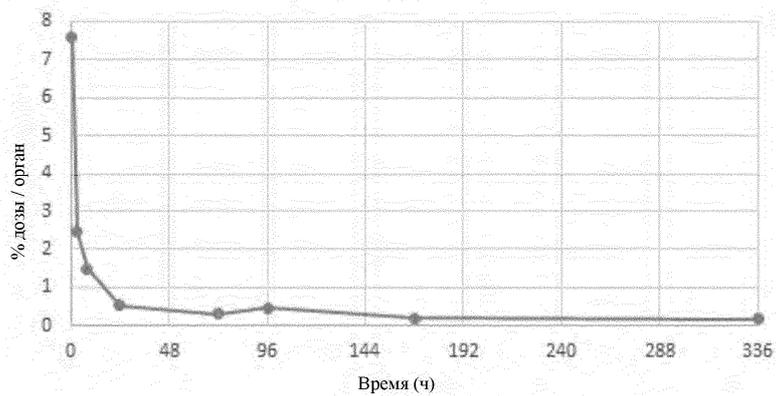
Фиг. 4

EPA-LPC в/в мозг



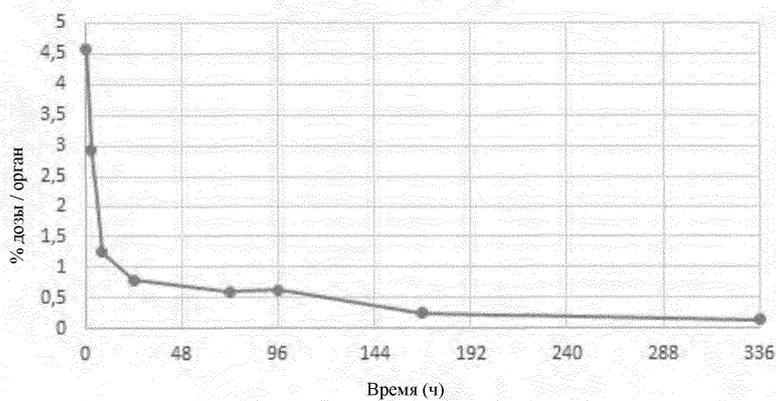
Фиг. 5

ЕРА-LPC в/в кровь



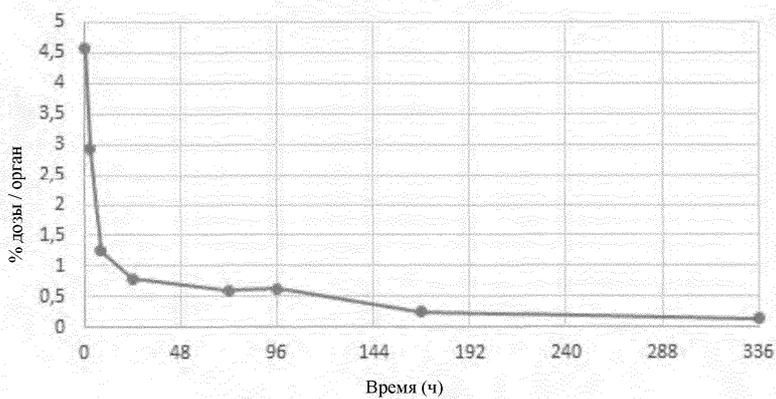
Фиг. 6

ЕРА-LPC в/в почки

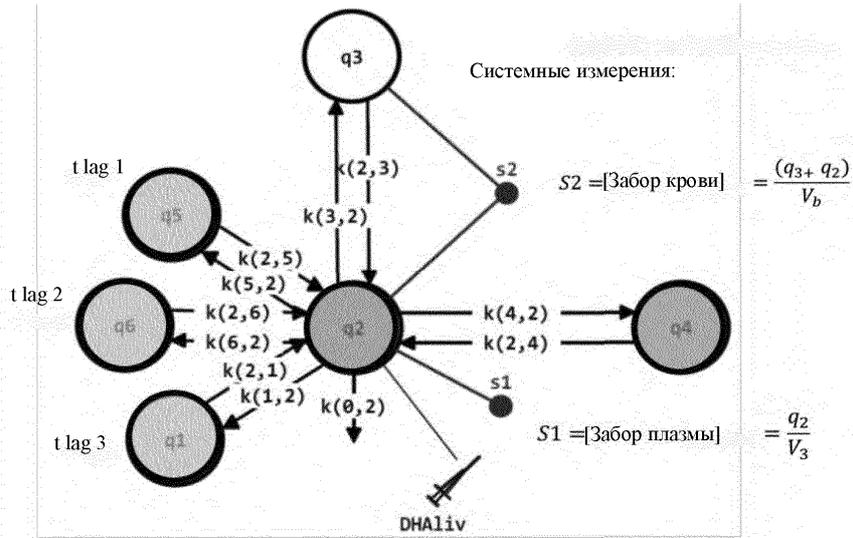


Фиг. 7

ЕРА-LPC в/в почки

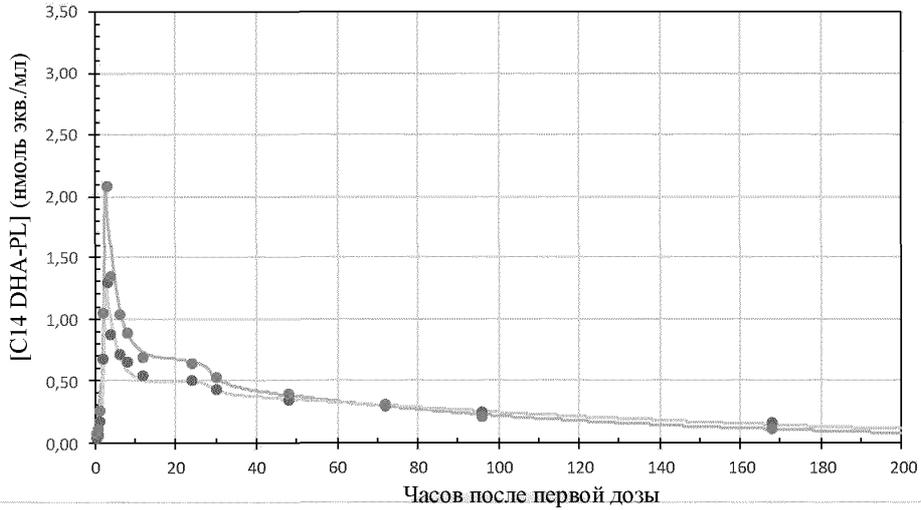


Фиг. 8



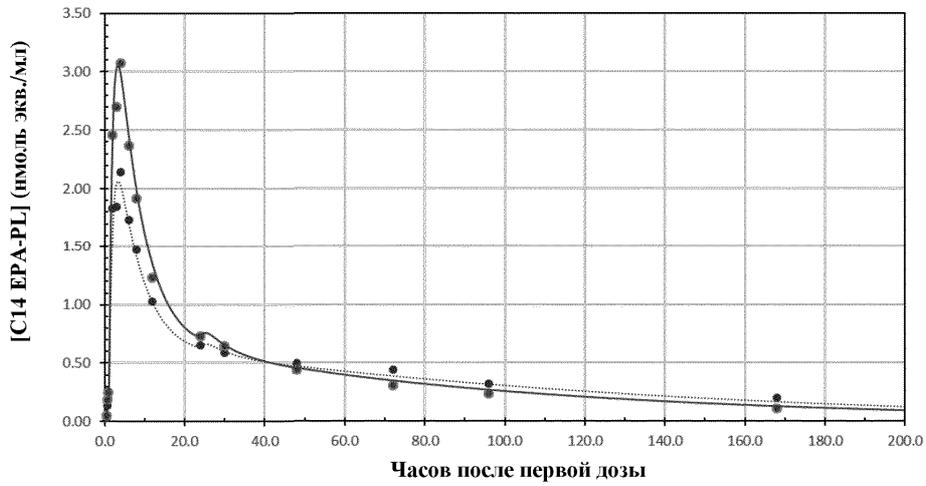
Фиг. 9

Пероральное введение PL-DHA



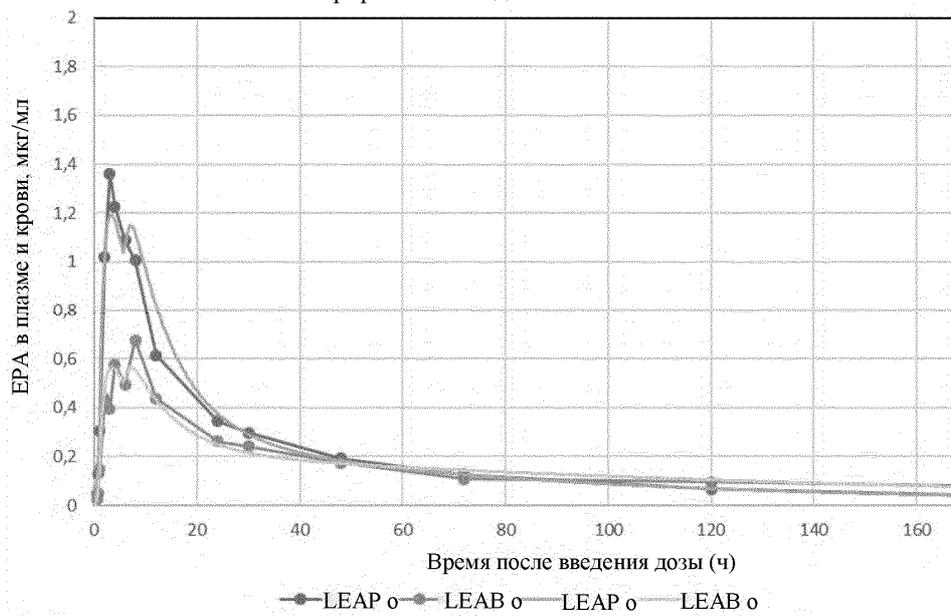
Фиг. 10а

Пероральное введение PL-EPA



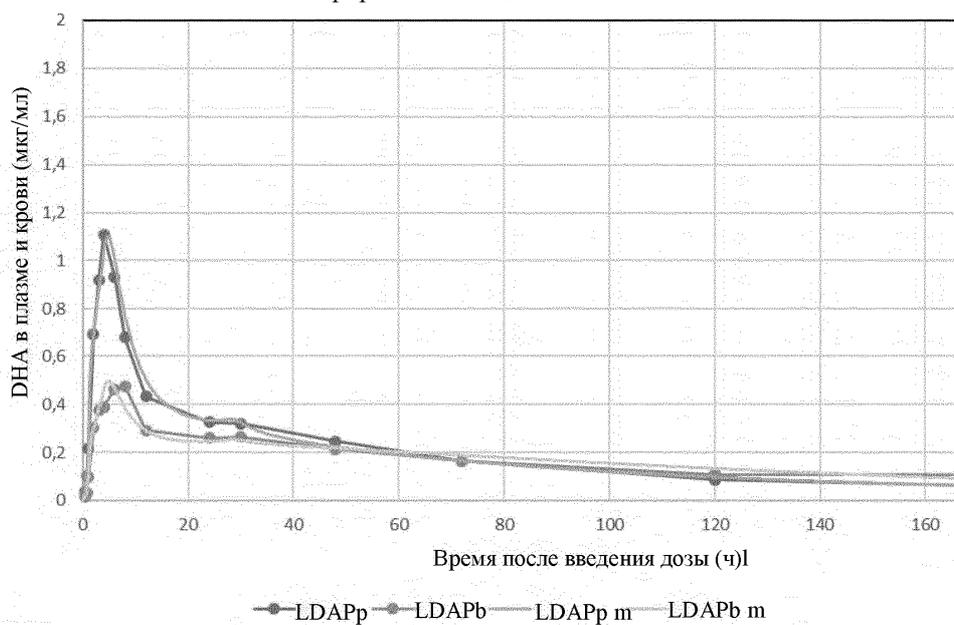
Фиг. 10б

Пероральное введение LPC-EPA



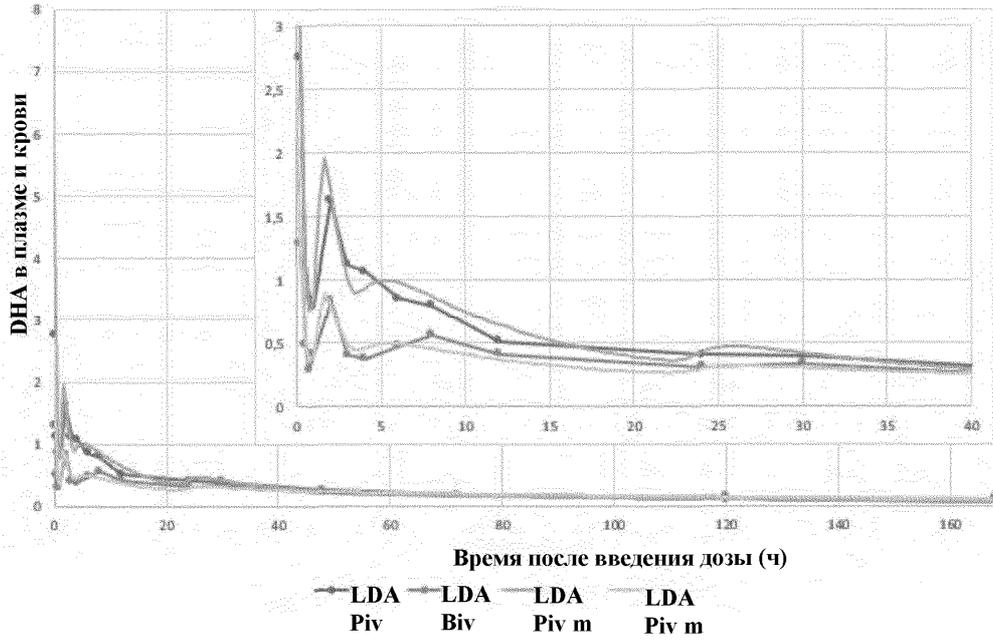
Фиг. 11а

Пероральное введение LPC-DHA



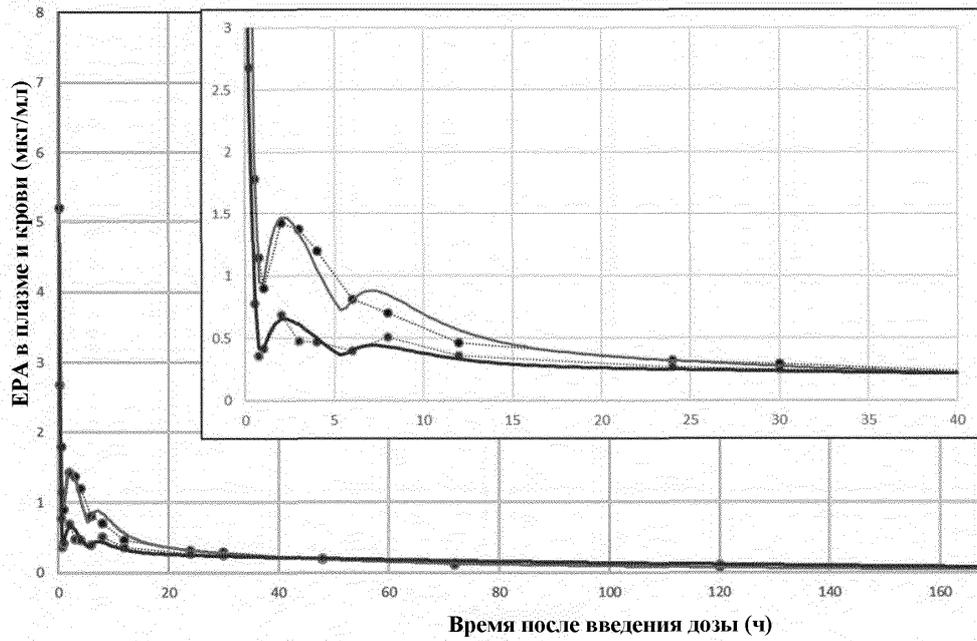
Фиг. 11б

LPC-DHA в/в введение



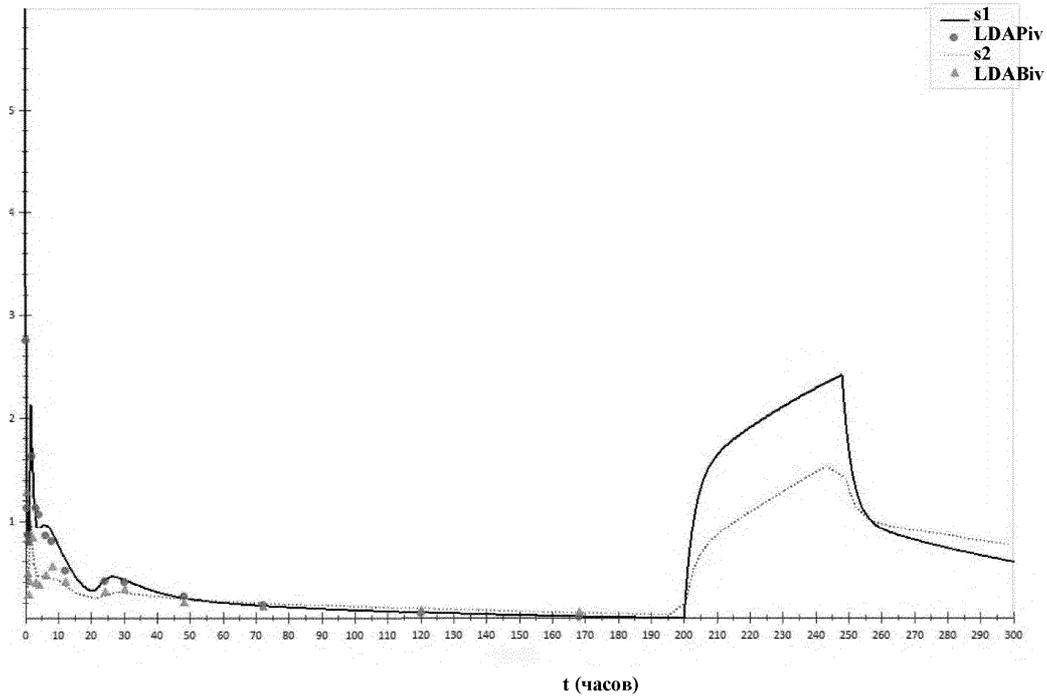
Фиг. 12a

LPC-EPA в/в введение



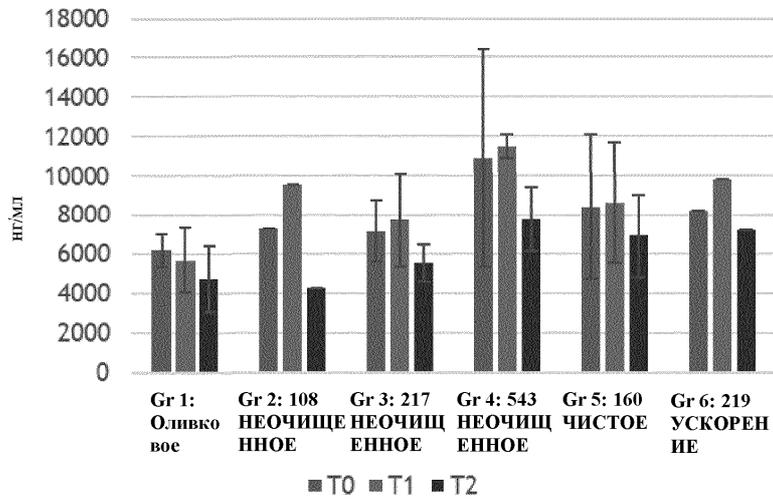
Фиг. 12b

Введение LPC-DHA: непрерывная инфузия в течение 48 ч = такое же количество, как и при однократной инфузии в течение 12 ч



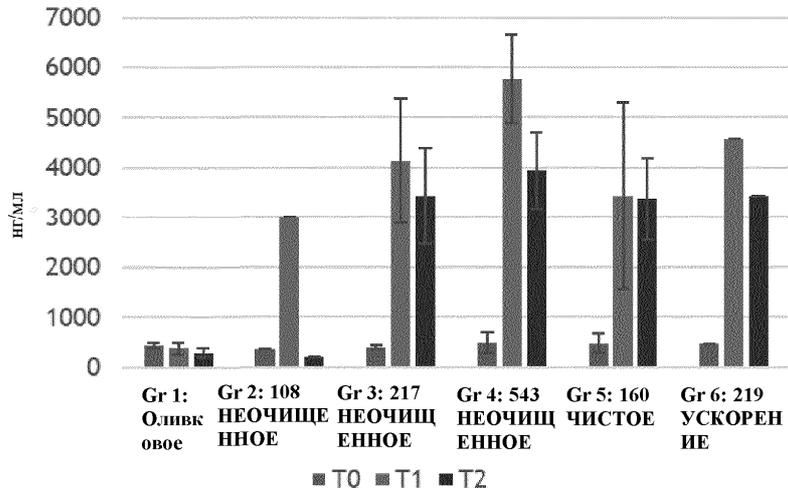
Фиг. 13

LPC-DHA



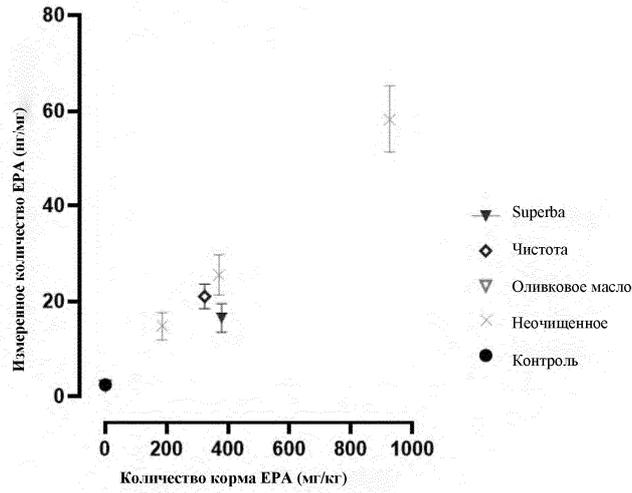
Фиг. 14

LPC-EPA



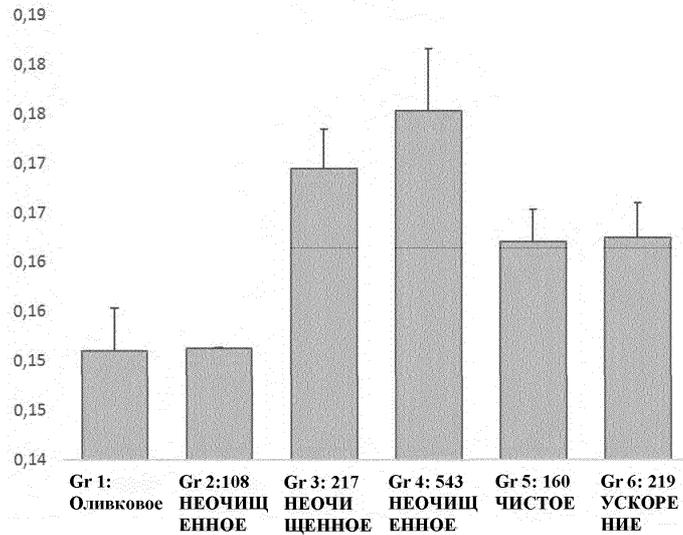
Фиг. 15

EPA

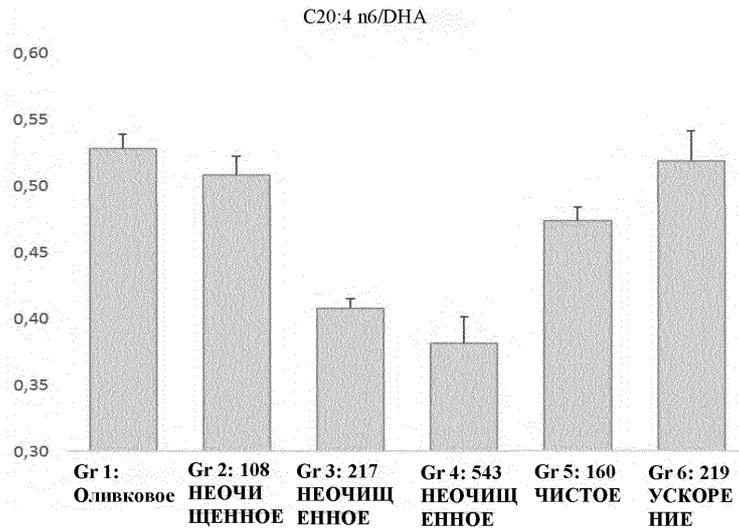


Фиг. 16

Соотношение ДНА: общее количество FA



Фиг. 17



Фиг. 18

