

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 398 015**

51 Int. Cl.:

A61K 9/16 (2006.01)

A61K 9/50 (2006.01)

A61K 9/54 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.01.2009 E 09701269 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.10.2012 EP 2231123**

54 Título: **Métodos y composiciones para la administración oral de agentes terapéuticos de péptidos y proteínas**

30 Prioridad:

08.01.2008 IL 18864708

14.07.2008 US 80295 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

13.03.2013

73 Titular/es:

**OSHADI DRUG ADMINISTRATION LTD. (100.0%)
1/8 SPINOZA STREET
76452 REHOVOT, IL**

72 Inventor/es:

**VOL, ALEXANDER y
GRIBOVA, ORNA**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 398 015 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Métodos y composiciones para la administración oral de agentes terapéuticos de péptidos y proteínas

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas orales, que comprenden una mezcla íntima de ingredientes de material en partículas sólidas dentro de un vehículo de aceite. Preferentemente las composiciones son anhidras. Específicamente, las composiciones farmacéuticas comprenden una mezcla íntima asociada no covalentemente de material en partículas de nanopartículas de sílice farmacológicamente inerte que tiene una superficie hidrófoba, un polisacárido y una proteína o un péptido biológicamente activos, donde la mezcla de material en partículas está suspendida o incluida en un aceite o mezcla de aceites. La presente invención proporciona además, métodos para la fabricación de las mismas y métodos terapéuticos que utilizan las mismas para la administración oral de la proteína o el péptido activo.

Antecedentes de la invención

15 El uso médico de fármacos de proteínas está restringido por medio de tres inconvenientes principales. La primera es su vida media biológica corta que requiere en algunos casos, administraciones frecuentes. La segunda es la degradación rápida que ocurre en los tejidos de la mucosa que generalmente cubren las cavidades corporales. Por último, la mayoría de los fármacos de proteína son moléculas grandes y por consiguiente, no cruzan fácilmente el epitelio intestinal. Como resultado, la biodisponibilidad de fármacos basados en proteínas administradas oralmente es por lo general extremadamente reducida. Por consiguiente, el modo más común de administración de fármacos de proteínas es mediante una vía parenteral. Sin embargo, aparte de la inconveniencia a los pacientes, los sistemas de administración parenteral son también más caros en lo que se refiere a la producción y administración del fármaco. Existe, por consiguiente, una necesidad médica no atendida de un modo de administración no parenteral eficaz de fármacos de proteínas que proporcionen protección contra la degradación biológica y/o que mejoren su transporte a través de las barreras de la mucosa. Aunque se han desarrollado sistemas farmacéuticos no parentales sofisticados tales como los sistemas intra-nasales, la administración oral es más favorable, tiene la principal ventaja de ser cómoda para complacer ampliamente al paciente.

20 La DNasa, por ejemplo, es inestable en presencia de agua, estrés oxidativo, fluctuaciones de temperatura, y condiciones de pH ácidas. La actividad máxima se observa dentro de un rango de pH de 6-8. Estas características crean dificultades para la administración de DNasa oral. Los únicos métodos actualmente disponibles que liberan DNasa activa al plasma son vía la inyección (IV, SC o IM). La RNasa puede desactivarse mediante la interacción mutua entre las diferentes regiones de la molécula de RNasa, y por lo tanto, requiere de formulaciones capaces de prevenir este tipo de interacción.

25 Ejemplos de proteínas biológicamente activas incluyen pero no se limitan a los factores de crecimiento, citoquinas, hormonas del péptido, péptidos analgésicos, enzimas, factores que coagulan la sangre, neurotransmisores del péptido, anticuerpos y puede incluir polímeros sintéticos de aminoácidos. Ejemplos específicos de proteínas o péptidos biológicamente activas incluyen la hormona del crecimiento pituitaria, eritropoietina, DNasa, RNasa, y anticuerpos monoclonales entre otros.

Biopolímeros y su uso en agentes de administración activos

30 Los biopolímeros tales como los polisacáridos se conocen desde hace muchos años. Los polisacáridos se usan ampliamente como excipientes en forma de dosificación oral, como se describe por ejemplo en la patente US 6,667,060 por Vandecruys y la solicitud de patente US 2004/0115264 por Blouquin. Estas referencias ni describen ni sugieren el uso de biopolímeros en combinación con nanopartículas o aceite.

Nanopartículas y su uso en la administración de agentes activos

35 Las nanopartículas de sílice de agentes activo son bien conocidas en la técnica como excipientes farmacéutico y su uso se describe por ejemplo en la Patente US 6,322,765 por Muhlhofer y 6,698,247 por Tennent, entre muchos otros. El revestimiento de un complejo de nanopartículas-biopolímeros con aceite, o utilidad del mismo en la administración oral de agentes activos no se describe ni se sugiere.

40 Los métodos para proporcionar una superficie hidrófoba a las nanopartículas son bien conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo en (Hydrophobic modification of silica nanoparticle by using aerosol spray reactor. Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects 236 (2004) 73-79). Métodos adicionales incluyen el método de micelas inverso (Fu X, Qutubuddin S, Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects 179: 65, 2001), método de precipitación líquida (Krysztafkiewicz A, Jesionowski T, Binkowski S, Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects 173:73, 2000) y método sol-gel (Jean J, Yang S, J. Am. Ceram. Soc. 83(8):1928, 2000; Zhang J, Gao L, Ceram. Int. 27: 143, 2001). El uso de nanopartículas en combinación con biopolímeros, que revisten un complejo de nanopartículas-biopolímero con aceite, o utilidad del mismo en una administración oral de agentes activos no se describe ni sugiere.

45 55 Las patentes US 7,105,229, 6,989,195, 6,482,517, 6,638,621, 6,458,387, 7,045,146, y 5,462,866 entre muchas otros

describen el uso de nanopartículas o micropartículas como excipientes para las proteínas. Estas referencias ni describen ni sugieren una asociación no covalente íntima de nanopartículas con un biopolímero o incrustación de una matriz de nanopartículas-polímeros en un revestimiento de aceite.

5 La US 2007/0154559 por Pai describe una composición oralmente administrable que contiene nanopartículas que comprende un fármaco soluble en agua cargado en un complejo con una sustancia contra iones, un lípido, un polímero, y un emulsor. Las composiciones se forman (a) uniendo iónicamente el fármaco con una sustancia contra-iones; (b) agregando un lípido, un polímero, y un agente de solubilización; disolviendo la mezcla entera; e introduciendo la solución en una solución acuosa que contiene un emulsor; y (c) removiendo al agente de solubilización. La US 2006/0177495 y 2003/0235619 por Allen describen los vehículos de la administración para administración de un agente activo, que comprende nanopartículas compuestas de un polímero hidrófobo biodegradable que forma un centro y una capa anfífilica exterior que rodea al centro del polímero y que contiene un lípido de estabilización.

15 La US 2006/0083781 por Shastri describe nanopartículas que están compuestas de un lípido y un polímero que está compuesto de una porción iónica o ionizable. Estas composiciones también difieren significativamente de aquéllas de la presente invención, *inter alia* en que (a) el polímero no está fuera de las nanopartículas sino que forma una parte de ellos; y (b) el aceite forma una parte de nanopartículas en lugar de revestir la mezcla de nanopartículas-polímeros. Además, no se describe ni sugiere la exclusiva estructura de las composiciones de vehículo de matriz de la presente invención.

20 La WO 96/37232 para Alonso Fernández describe los métodos para la preparación de sistemas coloidales a través de la formación de complejos lípido-polisacáridos iónicos. Los sistemas coloidales se estabilizan a través de la formación de un complejo iónico, en la interfaz, comprendida de un aminopolisacárido positivamente cargado y un fosfolípido negativamente cargado. Estas composiciones también difieren significativamente de aquéllas de la presente invención, *inter alia* en que (a) el polímero no está fuera de los nanopartículas sino que forma una parte de ellos; y (b) el aceite forma una parte de nanopartículas en lugar de revestirlos. Además, no se describe ni sugiere la exclusiva estructura del vehículo de la matriz de la presente invención.

25 La US 6,548,264 por Tan et al. describe nanopartículas revestidas de sílice y un proceso para producir nanopartículas revestidas de sílice. Las nanopartículas revestidas de sílice son preparadas precipitando los centros de tamaño nano de los reactivos disueltos en el compartimiento acuoso de una microemulsión agua en aceite. Un silicato reactivo se agrega para revestir los centros con sílice. El revestimiento con silicato pueden además derivarse con una proteína. La US 2007/0275969 por Gurny describe las composiciones farmacéuticas para la administración oral de agentes farmacéuticos que tienen solubilidad al agua reducida. Los agentes farmacéuticos son solubilizados con un polímero a partir del cual se forman las nanopartículas.

30 En las formulaciones cosméticas, es común usar composiciones que comprenden emulsiones agua en aceite que contienen una fase acuosa dispersa en una fase aceitosa. Existen numerosos ejemplos en los que las nanopartículas de sílice así como los polisacáridos son incluidos en la fase grasa líquida. La US 6,228,377 por ejemplo, describe emulsiones agua-en-aceite que contienen una fase grasa líquida que contiene sílice fumante hidrófoba o hidrófila, un éter de alquilo de polisacáridos ramificado, un surfactante emulsionante y aceite. Estas composiciones difieren significativamente de aquéllas de la presente invención, que incluyen una fase de agua y surfactantes que sirven como la estructura más importante que forma el factor de la composición.

40 Estrategias adicionales

Los métodos para la administración oral de proteínas biológicamente activas y péptidos son el objetivo de los esfuerzos de la investigación extensivos pero que actualmente han probado ser generalmente ineficaces. Se han sugerido varias estrategias para prevenir la degradación de proteínas oralmente administradas, que incluyen el uso de partículas de centro-base (US. 7,090,868 por Gower) y nano-tubos (US. 7,195,780 por Dennis). Se han usado liposomas como un vehículo para las proteínas oralmente administradas, así como emulsiones acuosas y suspensiones (US. 7,316,818; WO 06/062544; US. 6,071,535; y US. 5,874,105 por Watkins) y liposomas llenas de gas (US. 6,551,576; US. 6,808,720; y US. 7,083,572 por Unger et al). Otra composición comprende nanogotas dispersas en un medio acuoso (US. 2007/0184076). Se encuentran estrategias adicionales en WO 06/097793, WO 05/094785, y WO 03/066859 por Ben-Sason, que describen los vehículos de matriz que contienen efectores-péptido que permiten la penetración a través de las barreras biológicas para la administración de proteínas hidrófobas; y EP0491114B1 por Guerrero Gómez-Pamo que describe la preparación de complejos de proteína-polisacáridos no covalentes para la administración oral de sustancias biológicamente activas, estabilizadas mediante precipitados de sales orgánicas. Ninguna de estas referencias describe o sugiere la asociación no covalente íntima de nanopartículas con un biopolímero o una matriz de nanopartículas-polímeros incrustadas en un revestimiento de aceite.

Además de las diferencias perfiladas arriba, ninguna de las referencias anteriores describen o sugieren una biodisponibilidad mejorada de composiciones de la presente invención.

Breve descripción de la invención

La presente invención proporciona composiciones de vehículo de matriz adecuadas para la administración oral de una proteína o agente activo de péptidos que comprende una material en partículas, que comprende nanopartículas farmacológicamente inertes que tiene una superficie hidrófoba, en una asociación no covalente íntima con un polisacárido y la proteína o el péptido, en donde el material en partículas está suspendida, incrustada o dispersa en aceite. La presente invención proporciona además, composiciones farmacéuticas que comprenden una proteína o un péptido biológicamente activos en asociación con esta composición de vehículo de matriz, los métodos de fabricación de las mismas, composiciones farmacéuticas que comprenden la misma en asociación con una proteína biológicamente activa, y métodos terapéuticos que utilizan los mismos.

5 Un vehículo oral eficaz para los fármacos de proteína debe tener la capacidad de ocultar su contenido contra las peptidasas del borde en cepillo y lumbales y tener la capacidad de facilitar la captación del fármaco de proteína, que normalmente es una entidad de peso molecular grande a través del epitelio gastrointestinal (GI). Se describe ahora por primera vez, que las composiciones de la presente invención permiten sorprendentemente la biodisponibilidad oral de proteínas biológicamente activas y péptidos. Mientras que en la técnica anterior se conseguían composiciones de actividad terapéutica muy reducida o nula con las formulaciones orales de agentes de péptido o proteína, la presente invención permite la adsorción en la circulación sistémica del agente de péptido o proteína transportado.

10 En un aspecto, la presente invención proporciona una composición de vehículo de matriz para la administración oral de un agente activo de proteína o péptido, que comprende nanopartículas de sílice farmacológicamente inertes, que tienen una superficie hidrófoba, en donde el tamaño de nanopartículas de sílice está entre 1-100 nanómetros, en asociación no covalente íntima con por lo menos un polisacárido ramificado, y en donde el complejo de nanopartículas-polisacáridos de sílice se incrusta en, dispersa en o suspende en el aceite. En otra modalidad, el aceite de la composición de vehículo de matriz comprende una pluralidad de aceites. En otra modalidad, el peso del material en partículas que incluye nanopartículas de sílice y el polisacárido ramificado no es de más de 25 % del peso total de la composición. Preferentemente el peso de los polisacáridos será mayor que el peso de la sílice. En algunas modalidades, el peso de los polisacáridos será por lo menos dos veces al del sílice, en otras modalidades, el peso de los polisacáridos será 5 veces el de la sílice, en aún otras modalidades, los polisacáridos serán por lo menos 10 veces mayor que el peso de nanopartículas de sílice. Cada posibilidad representa una modalidad separada de la presente invención.

20 En una modalidad preferida de la presente invención, el polisacárido comprende un polisacárido ramificado. En otra modalidad, el polisacárido ramificado se selecciona del grupo que consiste de amilopectina, almidón y glicógeno. En otra modalidad, el polisacárido ramificado es almidón.

25 En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende: (a) nanopartículas farmacológicamente inertes que tienen una superficie hidrófoba, en donde el tamaño de nanopartículas está entre 1-100 nanómetros, en la asociación no covalente íntima con un biopolímero que comprende un polisacárido; y (b) una proteína o el péptido biológicamente activos adherido no covalentemente a las nanopartículas y al biopolímero; en donde la matriz formada por las nanopartículas, biopolímero y la proteína o el péptido biológicamente activos se incrustan en el aceite. De acuerdo con las modalidades actualmente preferidas, el biopolímero comprende una mezcla de polisacáridos. De acuerdo con las modalidades actualmente más preferidas, el biopolímero incluye por lo menos un tipo de polisacárido ramificado.

30 En una modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activos se adhiere no covalentemente a las superficies hidrófobas de las nanopartículas y las superficies hidrófilas del biopolímero. En otra modalidad, las porciones hidrófobas e hidrófilas de la proteína o el péptido biológicamente activos hacen contacto con las superficies hidrófobas de las nanopartículas y superficies hidrófilas del biopolímero, respectivamente. En otra modalidad, la porción hidrófoba de la proteína o el péptido biológicamente activos se adhiere también no covalentemente a las porciones hidrófobas del biopolímero. Cada posibilidad representa una modalidad separada de la presente invención.

35 En otra modalidad, la composición del vehículo de matriz de la presente invención se une mediante fuerzas no covalentes (Figura 1). En otra modalidad, las fuerzas no covalentes entre los componentes de la composición de matriz permiten a la composición de matriz auto-ensamblarse cuando los componentes se mezclan juntos, como se describe en la presente. En otra modalidad, las fuerzas no covalentes causan que las nanopartículas y el biopolímero formen una mezcla íntima. En otra modalidad, la composición de la matriz exhibe una estructura fractal ordenada. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

40 En otra modalidad, el complejo de nanopartículas-biopolímero se dispersa dentro de la fase de aceite de la composición de matriz. En otra modalidad, la fase de aceite se impregna con el complejo de nanopartículas-biopolímero de la composición de la matriz. Como se da a conocer aquí, la presente invención proporciona composiciones en donde las nanopartículas y el biopolímero forman una matriz que la fase de aceite impregna y rodea completamente. Cada posibilidad representa una modalidad separada de la presente invención.

La referencia a nanopartículas de la presente invención que tienen una superficie "hidrófoba" abarca nanopartículas que tienen una superficie modificada para ser hidrófobas. En otra modalidad, las nanopartículas son modificadas revistiendo la superficie con un hidrocarburo. En otra modalidad, el revestimiento causa que las nanopartículas se desplieguen a las porciones del hidrocarburo en su superficie. Los métodos para proporcionar una superficie hidrófoba de nanopartículas son bien conocidos en la técnica, y se describe *inter alia* en la presente. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

En otra modalidad, una composición farmacéutica de la presente invención comprende una mezcla de aceites seleccionados de aceites vegetales naturales y análogos sintéticos de los mismos.

En otra modalidad, una composición de matriz de la presente invención comprende además, un componente de aceite adicional. El término "componente de aceite adicional" abarca un aceite adicional o mezcla de aceites, como se describe en otra parte en la presente. En otra modalidad, el componente de aceite adicional comprende un antioxidante. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

En otra modalidad, una composición de matriz de la presente invención comprende además, un tercer aceite o mezcla de aceites además del aceite adicional descrito arriba o mezcla de aceites. En otra modalidad, el tercer componente de aceite comprende un antioxidante. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

En otra modalidad, una composición de la matriz de la presente invención comprende además una cera.

En una modalidad, la proteína o el péptido de la composición farmacéutica es eritropoietina. En otra modalidad, la proteína o el péptido es la hormona pituitaria del crecimiento. En otra modalidad, la proteína o el péptido es acetato de glatirámico. En otra modalidad, la proteína o el péptido es apolipoproteína péptido A-mimético. En otra modalidad, la proteína o el péptido es un anticuerpo monoclonal. En otra modalidad, la proteína o el péptido es un anticuerpo monoclonal contra la proteína CD20. En otra modalidad, la proteína o el péptido se seleccionan del grupo que consiste de calcitonina, una proteína del factor de necrosis de tumor (TNF), interferón-alfa, interferón-beta, e interferón-gamma. En otra modalidad, una composición de matriz de la presente invención formulada para la administración oral de la presente invención está en una forma seleccionada de una cápsula de gel suave, una cápsula de gelatina dura, y una suspensión.

En otra modalidad, la presente invención proporciona un método de administrar una proteína o un péptido biológicamente activos a un sujeto que necesita del mismo, que comprende administrar oralmente al sujeto, una composición farmacéutica de la presente invención, administrando una proteína o un péptido biológicamente activos a un sujeto.

En ciertas modalidades, la proteína activa o ingrediente del péptido en una composición farmacéutica de la presente invención es capaz de alcanzar el torrente sanguíneo de un sujeto, siguiendo la administración oral, más del 20 % de la actividad biológica intacta, preferentemente más del 30 % de la actividad biológica permanece intacta, más preferentemente por lo menos 40 % de la actividad biológica permanece intacta, más preferentemente por lo menos 50 % de la actividad biológica permanece intacta. En otra modalidad, más del 60 % de la actividad biológica permanece intacta. En otra modalidad, más del 70 % de la actividad biológica permanece intacta. En otra modalidad, más del 80 % de la actividad biológica permanece intacta. En otra modalidad, más del 90 % de la actividad biológica permanece intacta. Sin el deseo de ligar cualquier teoría o mecanismo de acción, se cree que estas propiedades son debido a la protección del agente activo de las enzimas digestivas y fuerzas mecánicas en los intestinos mediante los excipientes de composiciones farmacéuticas de la presente invención.

En algunas modalidades, una composición farmacéutica de la presente invención se diseña para proporcionar la descarga o liberación a corto plazo. La liberación "a corto plazo", como usado en la presente, se refiere a la liberación dentro de 8-12 horas, con actividad máxima de 4 horas después de la administración. En otra modalidad, una composición farmacéutica de la presente invención se diseña para proporcionar la liberación a mediano plazo. La liberación "a mediano plazo", como se usa en la presente, se refiere a la liberación dentro de 12-18 horas, con actividad máxima 4-6 horas después de la administración. En otra modalidad, una composición farmacéutica de la presente invención se diseña para proporcionar la liberación a largo plazo. La liberación "a largo plazo", como se usa en la presente, se refiere a la liberación dentro de 18-48 horas, con actividad máxima 4-8 horas después de la administración. En otra modalidad, una composición farmacéutica de la presente invención se diseña para proporcionar la liberación a muy largo plazo. La liberación a "muy largo plazo", como se usa en la presente, se refiere a la liberación dentro de 18-72 horas, con actividad máxima de 6-8 horas después de la administración. En otra modalidad, las composiciones de liberación a largo plazo de la presente invención exhiben un pico inferior con un final más largo de actividad máxima. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para elaborar una composición de vehículo de matriz, el método comprende las etapas de: (a) secar las nanopartículas mezcladas que tienen una superficie hidrófoba, en donde el tamaño de las nanopartículas está entre 1-100 nanómetros, con un biopolímero que comprende un polisacárido, en el que las nanopartículas forman una asociación no covalente íntima con el biopolímero; y (b)

mezclar las nanopartículas y el biopolímero en un aceite. Preferentemente, las nanopartículas y el biopolímero forman un complejo. En otra modalidad, el complejo se incrusta en el aceite. En otra modalidad, la dimensión de las partículas de la composición de vehículo de matriz está entre 100-500,000 nanómetros (nm). En algunas modalidades preferidas, la dimensión de las partículas está entre 100-50,000 nm. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

En otra modalidad, la presente invención proporciona un método para elaborar una composición farmacéutica, el método comprende las etapas de: (a) secar las nanopartículas mezcladas farmacológicamente inertes que tienen una superficie hidrófoba, en donde el tamaño de las nanopartículas está entre 1-100 nanómetros, con un biopolímero que comprende un polisacárido, en el que las nanopartículas forman una asociación no covalente íntima con el biopolímero; (b) disolver o dispersar una proteína o un péptido biológicamente activos en un aceite; y (c) mezclar la mezcla íntima de nanopartículas y biopolímeros en el aceite, para que las nanopartículas, biopolímeros, y proteínas o péptidos se incrusten en el aceite. Preferentemente, las nanopartículas, biopolímero y proteína o el péptido forman un complejo. En otra modalidad, el complejo se incrusta, dispersa, sumerge o suspende en el aceite. En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activa se adhiere a las superficies hidrófobas de las nanopartículas y las superficies hidrófilas del biopolímero vía las fuerzas no covalentes. En otra modalidad, la dimensión de las partículas de la composición del vehículo de matriz está entre 100-50,000 nanómetros. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

Se comprende explícitamente que dentro del alcance de la presente invención, las composiciones pueden comprender más de una proteína o un péptido biológicamente activos. Por ejemplo, cada una de las proteínas o de los péptidos puede mezclarse con por lo menos un aceite y entonces combinarse con la mezcla íntima de excipientes de material en partículas seco. El aceite o mezcla de aceites usados para cada proteína o péptido puede ser el mismo o diferente. En modalidades alternativas, puede combinarse dos o más péptidos o proteínas diferentes dentro de una sola mezcla de excipientes de material en partículas sólidas y entonces pueden mezclarse con los componentes de aceite. En modalidades alternativas, do so más proteínas activas o péptidos pueden combinarse individualmente con los excipientes de material en partículas y entonces estas mezclas individuales pueden mezclarse además junto con los componentes de aceite.

Como se da a conocer en la presente, se han desarrollado métodos para formular una variedad de proteínas biológicamente activas y péptidos en forma oralmente administrable. En ciertas modalidades preferidas, los componentes están mezclados en un orden particular para producir las composiciones del vehículo de matriz revestido con aceite, que protegen el ingrediente activo de los procesos digestivos en el estómago y el intestino delgado. El biopolímero, particularmente cuando está ramificado, absorbe el esfuerzo hidráulico y mecánico que se experimenta durante la digestión. El revestimiento de aceite constituye una barrera física que proporciona protección adicional contra las enzimas digestivas.

Además, sin el deseo de ligar cualquier teoría o mecanismo de acción, las composiciones del vehículo de matriz de la presente invención son convertidas en el sistema digestivo en partículas de tamaño más pequeño, pero similares en estructura a la composición original (Figura 2), que se absorben de manera similar a los quilomicrones y alcanza el torrente sanguíneo sin experimentar el metabolismo de primer paso en el hígado. La actividad biológica de proteínas y péptidos se preserva ampliamente siguiendo la administración oral en las composiciones de la invención.

Breve descripción de las figuras

Figura 1: Estructura de matriz-vehículo representativa que contiene ribonucleasa y un polisacárido. Superior: Macroestructura que contiene una estructura de fibra ramificada del polisacárido o biopolímero impregnada con las nanopartículas de sílice hidrófobas. Inferior: descripción de la microestructura.

Figura 2: Vista Esquemática de la estructura en el intestino delgado debido a la acción colectiva de los procesos hidrodinámicos y enzimáticos.

Figura 3: A. Actividad de la DNasa en el plasma de ratón después de la administración oral de una composición de matriz DNasa de liberación rápida. B. Actividad de la DNasa en el plasma humano después de la administración oral de 75 mg de una composición oral de DNasa de la presente invención. Cada línea representa un sujeto diferente antes (el primer punto) y después de la admisión de la composición oral de DNasa.

Figura 4: Actividad de la RNasa en el plasma de ratón después de la inyección de RNasa o administración oral de composiciones de matriz RNasa. Primera barra en cada un ade las series: oralmente administrado con RNasa. Segunda barra en cada una de las series: RNasa inyectada. Tercera barra en cada una de las series: composición oral de RNasa de la presente invención.

Figura 5: A. Cuadro de microscopía ligera de Formulación IV del vehículo de matriz de insulina (ejemplo 6). B. Efecto de la administración oral de las composiciones orales de insulina de Actrapid™ de la presente invención en el Nivel de Glucosa Sanguínea (BGL) en ratones diabéticos (tratados con STZ). Los diferentes símbolos representan ratones individuales.

Figura 6: Efecto de la administración oral de las composiciones orales de insulina NovoRapid™ de la presente

invención en BGL en ratones diabéticos (tratados con STZ) . Los diferentes símbolos representan ratones individuales.

Figura 7: Niveles BGL en ratones tratados con STZ después de la administración de 25 IU de insulina (por BIOCON) en PBS (sonda). Los diferentes símbolos representan ratones individuales.

5 Figura 8: A. Curva de dosis respuesta con respecto a las composiciones orales de insulina de la presente invención. (concentración de glucosa sanguínea media basadas en por lo menos 5 ratones). B-D: Datos de ratones individuales a 2 (B), 5 (C), y 10 (D) IU. E. Efecto de insulina inyectada en SC en ratones STZ. F. Efecto de 12 IU de composición de insulina en ratones normales. La interrupción en las figuras B-J indica el tiempo de administración. Eje de las abscisas: tiempo. Eje de las ordenadas: nivel BGL medio, mg/dL, en el rango de 0-500 (UN-E) o 0-160 (F). Los
10 diferentes símbolos representan a los ratones individuales. G,H, I. La Comparación de 10 (G), 5 (H), o composición oral de insulina de IU 2 (I) de la presente invención vs. la inyección de la misma cantidad de insulina.

Figura 9: Eficacia de las composiciones de insulina en sujetos humanos saludables (A) y diabéticos (B). A. 30 IU de la formulación del vehículo de matriz de insulina de liberación a corto plazo se administró a las 12:00, marcado por la raya en el gráfico. B. Niveles de glucosa sanguínea promedio diaria. Gluco-Rite™ se administró en los días 1-12. La
15 composición oral de insulina de la presente invención se administró primero en el día 13 y continuo durante 14 días.

Figura 10: Estudio de Toxicidad de composiciones de insulina. El análisis microscópico de hígado (A); riñón (B); y duodeno (C). En cada caso, los paneles izquierdos son muestras de control y los paneles derechos son muestras tratadas. Para A-B, la parte superior y los paneles inferiores son una amplificación de 40x y 200x, respectivamente. Para C, la parte superior y los paneles inferiores son una amplificación de 100x y 200x, respectivamente.

Figura 11: A. Contexto del análisis HPLC de lipopolisacáridos (LPS): B. Resultados del análisis: suero del control positivo: ratón inyectado con 1 mg LPS (curva A; suero de control Negativo: ratón sin ningún tratamiento (curva B); suero de ratón dado oralmente (por sonda) composición oral de insulina de la presente invención en los días 1-15 junto con 1 mg LPS en los días 14 & 15 (curva C); y ratón dado oralmente en los días 1-15 1ml de PBS, que contiene 1 mg de LPS en los días 14 & 15 (curva D).
20

Figura 12: Nivel de formación del reticulocitos en ratas después de la administración de una composición del vehículo de matriz de eritropoietina (EPO) de la presente invención. La cuenta del reticulocito relativo al eje vertical (% de reticulocitos (células rojas inmaduras) de células sanguíneas rojas).
25

Figura 13: Concentración de EPO en el suero de rata después de la administración oral de la composición oral 150 IU EPO de la presente invención.

Figura 14: Representación de la rueda helicoidal de apolipoproteína A-I de péptidos miméticos 3F-2 y 3F-14. La rueda se proyecta a lo largo del eje de la hélice del N al término C con el lado hidrófobo orientado hacia abajo. La estructura primaria se da arriba de cada diagrama de la rueda. La composición de aminoácidos de ambos péptidos es la misma. La secuencia es diferente. Los signos menos y más denotan las cargas en los aminoácidos en el pH neutro. Las negritas denotan los residuos aromáticos.
30

35 **Descripción detallada de la invención**

La presente invención proporciona las composiciones de vehículo de matriz, que comprenden nanopartículas farmacológicamente inertes, que tienen una superficie hidrófoba, en asociación no covalente íntima con un polisacárido o una proteína estructural de peso molecular alto, en donde el complejo que contiene nanopartículas se suspende, incrusta o dispersa en el aceite. La presente invención proporciona además, composiciones
40 farmacéuticas que comprenden una proteína o un péptido biológicamente activos en asociación con una composición de vehículo de matriz, los métodos para elaborar las mismas, composiciones farmacéuticas que comprenden el mismo en asociación con una proteína biológicamente activa, y métodos terapéuticos que utilizan el mismo.

En una modalidad, la presente invención proporciona una composición de vehículo de matriz, que comprende nanopartículas farmacológicamente inertes que tienen una superficie hidrófoba, en asociación no covalente íntima con un biopolímero que comprende un polisacárido, en donde el diámetro de las nanopartículas está entre 1-100 nanómetros, y el complejo de nanopartículas-biopolímero se incrusta, dispersa, sumerge o suspende en el aceite, y en donde el diámetro de la partícula de la composición de vehículo de matriz está entre 100-500,000 nanómetros (nm). En ciertas modalidades preferidas, el diámetro de partícula está entre 100-50,000 nm. En otra modalidad, la
50 fase de aceite de la composición de vehículo de matriz comprende una pluralidad de aceites. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

En otra modalidad, la composición de vehículo de matriz se une al mismo tiempo mediante fuerzas no covalentes (Figura 1). En otra modalidad, sin el deseo de ligar cualquier teoría o mecanismo de acción, las fuerzas no covalentes entre los componentes de la composición de la matriz permiten a la composición de la matriz autoensamblarse cuando los componentes se mezclan juntos, como se describe en la presente. En otra modalidad,
55 sin el deseo de ligar cualquier teoría o mecanismo de acción, el vehículo de la matriz incluye una fase sólida que

contiene por lo menos dos materiales sólidos farmacológicamente inertes (nanopartículas de sílice y polisacáridos) con propiedades diferentes. En otra modalidad, las fuerzas no covalentes hacen que las nanopartículas y biopolímeros formen una mezcla íntima. En otra modalidad, la composición de la matriz exhibe una estructura fractal ordenada. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

- 5 En otra modalidad, el complejo de las nanopartículas-biopolímero se dispersa dentro de la fase de aceite de la composición de la matriz. En otra modalidad, la fase de aceite se impregna con el complejo de nanopartículas-biopolímero de la composición de matriz. Como se proporciona en la presente, la presente invención proporciona composiciones en donde las nanopartículas y el biopolímero forman una matriz que la fase de aceite impregna y rodea completamente. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.
- 10 El aceite que tiene material en partículas incrustado, disperso, sumergido o suspendido allí, como se usa en la presente, se refiere a material en partículas que está en contacto con el aceite. La composición no necesita ser homogénea con respecto a la distribución del material en partículas. Más bien, el material en partículas tiene la capacidad de ser incrustada, dispersarse, sumergirse o suspenderse en el aceite cuando se agita. El material en partículas no necesita ser completamente homogénea, sino que se caracteriza por su contenido de ingredientes especificados en la presente y su contacto íntimo con el aceite de la presente invención. Las composiciones en donde el material en partículas se aglomera caen dentro del alcance de la presente invención.
- 15

Nanopartículas

- Las nanopartículas de los métodos y composiciones de la presente invención son preferentemente farmacológicamente inertes. En otra modalidad, las nanopartículas están compuestas de materiales que generalmente se consideran seguros (GRAS). En otra modalidad, las nanopartículas son no tóxicas. En otra modalidad, las nanopartículas son no teratogénicas. En otra modalidad, las nanopartículas son biológicamente inertes. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.
- 20

- En otra modalidad, las nanopartículas son nanopartículas de sílice. En una modalidad preferida, las nanopartículas son nanopartículas de sílice fumante. En otra modalidad, las nanopartículas están compuestas de óxido de zinc. En otra modalidad, las nanopartículas están compuestas de carbono. En otra modalidad, las nanopartículas están compuestas de titanio. En otra modalidad, las nanopartículas están compuestas de otra substancia con dureza similar, a la de las nanopartículas de sílice. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.
- 25

- En otra modalidad, las nanopartículas son nanopartículas que contienen sílice. "Nanopartículas que contienen sílice" se refiere preferentemente a nanopartículas que comprenden sílice, un silicato, o una combinación del mismo. "Sílice" se refiere al dióxido de silicio. Las nanopartículas que contienen sílice están disponibles comercialmente, por ejemplo como 99.99 % sílice puro finamente molido. Se entenderá por aquellos experimentados en la técnica, que los grados más bajos de pureza de sílice también son compatibles con la presente invención. El "silicato" se refiere a un compuesto que contiene silicio y oxígeno, por ejemplo, en unidades tetraédricas de SiO_4 . En otra modalidad, el término se refiere a un compuesto que contiene un anión en el que uno o más átomos de silicio centrales son rodeados por ligandos electronegativos. Ejemplos ilimitados de silicatos son los hexafluorosilicatos, silicato sódico (Na_2SiO_3), silicatos de aluminio, silicatos de magnesio, etc., Se entenderá que las nanopartículas en las estructuras de la presente invención pueden ser ambas de un solo tipo o de múltiples tipos, con la condición de que, si los tipos múltiples están presentes, por lo menos un tipo es una nanopartícula que contiene sílice. En otra modalidad, esencialmente todas las nanopartículas son nanopartículas que contienen sílice. El sílice se reconoce ampliamente como un aditivo para alimentos seguro (Decimotercer informe del Comité Especialista en los Aditivos para alimentos FAO/WHO Colectivo, Serie de Informes de Reuniones de Nutrición de la FAO; del Colectivo FAO/WHO Comité Especialista en Aditivos para alimentos que se encuentra en Roma, 27 de mayo-4 de junio de 1969). Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.
- 30
- 35
- 40

- La referencia a las nanopartículas de la presente invención que tienen una superficie "hidrófoba" indica, en una modalidad, que por lo menos 40 % de la superficie de las nanopartículas es hidrófoba. En otra modalidad, por lo menos, 50 % de la superficie es hidrófoba. Por lo menos en otra modalidad, 60 % de la superficie es hidrófoba. En otra modalidad, por lo menos, 70 % de la superficie es hidrófoba. Por lo menos en otra modalidad, 80 % de la superficie es hidrófoba. Por lo menos en otra modalidad, 90 % de la superficie es hidrófoba. Por lo menos en otra modalidad, 95 % de la superficie es hidrófoba. En otra modalidad, 40-100 % de la superficie es hidrófoba. En otra modalidad, 50-100 % de la superficie es hidrófoba. En otra modalidad, 60-100 % de la superficie es hidrófoba. En otra modalidad, 70-100 % de la superficie es hidrófoba. En otra modalidad, 80-100 % de la superficie es hidrófoba. En otra modalidad, 90-100 % de la superficie es hidrófoba. En otra modalidad, 95-100 % de la superficie es hidrófoba. En otra modalidad, 40-60 % de la superficie es hidrófoba. En otra modalidad, 40-50 % de la superficie es hidrófoba. En otra modalidad, 40-70 % de la superficie es hidrófoba. En otra modalidad, 40-80 % de la superficie es hidrófoba. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.
- 45
- 50
- 55

En otra modalidad, la referencia a nanopartículas que tienen una "superficie hidrófoba" abarca nanopartículas que tienen una superficie modificada para ser hidrófobas. En otra modalidad, las nanopartículas son modificadas revistiendo la superficie con un hidrocarburo. En otra modalidad, el revestimiento causa que las nanopartículas

desplieguen porciones del hidrocarburo en su superficie. En otra modalidad, las porciones del hidrocarburo son seleccionadas del grupo que consiste de metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, T-butilo, pentilo, e isopentilo. En otra modalidad, el revestimiento causa las nanopartículas para desplegar las porciones de metilo en su superficie. Los métodos para proporcionar una superficie hidrófoba a las nanopartículas son bien conocidos en la técnica, y se describen *inter alia* en la presente. Como se conoce en la técnica, es posible modificar químicamente la superficie de la sílice fumante mediante reacción química, generando una disminución en el número de grupos silanol. En particular, pueden sustituirse grupos silanol con los grupos hidrófobos para obtener una sílice hidrófoba. Los grupos hidrófobos pueden ser: grupos trimetilsiloxi que se obtienen en particular por el tratamiento de sílice fumante en presencia de hexametildisilazano. Los sílices así tratados se conocen como "sililato de sílice" según el CTFA (6 edición, 1995). Estos se venden por ejemplo, bajo las referencias "Aerosil R812®" por la compañía Degussa y "CAB-OSIL TS- 530®" por la compañía Cabot; grupos dimetilsiloxi o poldimetilsiloxano que se obtiene en particular mediante el tratamiento de sílice fumante en presencia de poldimetilsiloxano o dimetildiclorosilano. Los sílices así tratados se conocen como "sililato de dimetil sílice" según CTFA (6 edición, 1995). Estos se venden por ejemplo, bajo las referencias "Aerosil R972®", "Aerosil R974®" por la compañía Degussa, "CAB-O-SIL T-610®." Y "CAB-O-SIL T-720®", por la compañía Cabot. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

En otra modalidad, las nanopartículas de composiciones de la presente invención son prácticamente insolubles en el agua. "Prácticamente insoluble" se refiere, en otra modalidad, a una substancia que tiene una solubilidad de menos de 100 partes por millón peso/peso (ppm). En otra modalidad, el término se refiere a una solubilidad de menos de 200 ppm. En otra modalidad, el término se refiere a una solubilidad de menos de 80 ppm. En otra modalidad, el término se refiere a una solubilidad de menos de 60 ppm. En otra modalidad, el término se refiere a una solubilidad de menos de 50 ppm. En otra modalidad, el término se refiere a una solubilidad de menos de 40 ppm. En otra modalidad, el término se refiere a una solubilidad de menos de 30 ppm. En otra modalidad, el término se refiere a una solubilidad de menos de 20 ppm. En otra modalidad, el término se refiere a una solubilidad de menos de 15 ppm. En otra modalidad, el término se refiere a una solubilidad de menos de 10 ppm. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

En otra modalidad, el diámetro de nanopartículas de los métodos y composiciones de la presente invención está inclusive entre 5-30 nanómetros. En otra modalidad, el diámetro está inclusive entre 7-40 nanómetros (nm). En otra modalidad, el diámetro está inclusive entre 2-400 nm. En otra modalidad, el diámetro está inclusive entre 2-300 nm. En otra modalidad, el diámetro está inclusive entre 3-200 nm. En otra modalidad, el diámetro está inclusive entre 4-150 nm. En otra modalidad, el diámetro está inclusive entre 4-100 nm. En otra modalidad, el diámetro está entre 5-50 nm inclusive. En otra modalidad, el diámetro está inclusive entre 5-40 nm. En otra modalidad, el diámetro está inclusive entre 6-25 nm. En otra modalidad, el diámetro medio de nanopartículas de sílice hidrófobas usado en la presente invención es 10 - 11 nm. En otra modalidad, el diámetro promedio es aproximadamente 5 nm. En otra modalidad, el diámetro promedio es aproximadamente 6 nm. En otra modalidad, el diámetro promedio es aproximadamente 7 nm. En otra modalidad, el diámetro promedio es aproximadamente 8 nm. En otra modalidad, el diámetro promedio es aproximadamente 9 nm. En otra modalidad, el diámetro promedio es aproximadamente 10 nm. En otra modalidad, el diámetro promedio es aproximadamente 12 nm. En otra modalidad, el diámetro promedio es aproximadamente 14 nm. En otra modalidad, el diámetro promedio es aproximadamente 16 nm. En otra modalidad, el diámetro promedio es aproximadamente 18 nm. En otra modalidad, el diámetro promedio es aproximadamente 20 nm. En otra modalidad, el diámetro promedio es otro diámetro que cae dentro de un rango descrito en la presente. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

En otra modalidad, las nanopartículas de la presente invención caen dentro de un rango de temperaturas de fusión particularmente conveniente para las composiciones de la presente invención. En modalidades específicas, las nanopartículas tienen una temperatura de fusión (T_m) de más de 600 °C. En otra modalidad, la T_m está entre 600-4500 °C. Preferentemente, la T_m está entre 800-4500 °C. En otra modalidad, la T_m es cualquier T_m que cae dentro de un rango descrito en la presente. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

Proporcionar una superficie hidrófoba a nanopartículas

Los métodos para proporcionar una superficie hidrófoba a las nanopartículas son bien conocidos en la técnica y se describen *inter alia*, en Chung et al (Hydrophobic modification of silica nanoparticle by using aerosol spray reactor. Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects 236 (2004) 73-79). Métodos adicionales incluyen el método de las micelas inverso ((Fu X, Qutubuddin S, Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects 179: 65, 2001), liquid precipitation method (Krysztafkiewicz A, Jesionowski T, Binkowski S, Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects 173:73, 2000) and sol-gel method (Jean J, Yang S, J. Am. Ceram. Soc. 83(8):1928, 2000; Zhang J, Gao L, Ceram. Int. 27: 143, 2001).

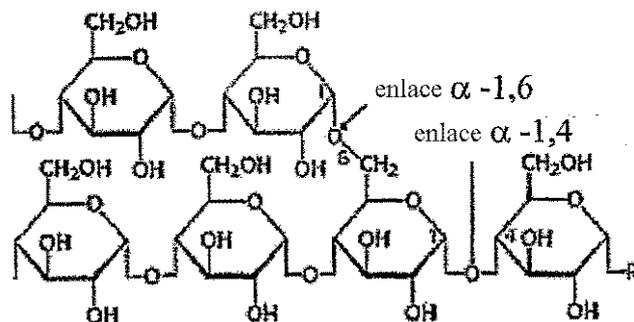
Los métodos adicionales se describen en US. 2007/0172426 y proporciona métodos para proporcionar una superficie hidrófoba a nanopartículas, combinándolos con un material que tiene un primer extremo que absorbe a la superficie de las nanopartículas y un segundo extremo que se extiende fuera de las nanopartículas e imparten hidrofobicidad a las partículas. El material puede ser un compuesto generalmente alifático que tiene un grupo con un extremo polar. El primer extremo de cada molécula del compuesto puede incluir un grupo carboxilo, un grupo amina, un silano, etc., que absorbe la superficie de la partícula. El segundo extremo de cada molécula del compuesto puede

incluir un grupo alcano que se extiende fuera de la partícula. Los materiales usados para proporcionar el revestimiento de superficie hidrófoba incluyen los ácidos grasos saturados tales como el ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico, y ácido esteárico, y variantes insaturadas de los mismos, como el ácido palmitoleico, ácido oleínico, ácido linoleico, y ácido linoléico. Los silanos como el triclorosilano de octadecilo también puede usarse ampliamente para funcionalizar superficies de óxido. La capa de la superficie hidrófoba se proporciona mezclando las nanopartículas en un contenido del material de revestimiento hidrófobo conveniente para revestir las partículas. Un exceso de material de revestimiento hidrófobo generalmente se usa para que las nanopartículas formen una suspensión en el material de revestimiento hidrófobo.

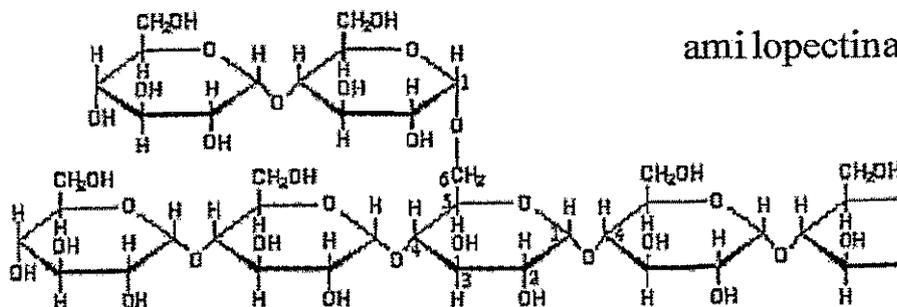
Cada nanopartícula exhibe por lo tanto, una capa hidrófoba en su superficie. Se describen métodos adicionales para utilizar un surfactante de hidrocarburos para revestir las nanopartículas en US. 2006/0053971. Se describen métodos adicionales en la US. 2007/0098990. Los métodos descritos utilizan ácidos orgánicos múltiples en los que el primer ácido es un ácido carboxílico orgánico de peso molecular bajo y el segundo ácido es un ácido carboxílico orgánico de peso molecular alto. Los contenidos de cada una de las solicitudes de patente anteriores se encuentran en la presente incorporados mediante la referencia.

Biopolímeros

Un biopolímero de los métodos y composiciones de la presente invención es preferentemente un biopolímero ramificado. "ramificado" como se usa en la presente abarca ambos polímeros que se ramifican naturalmente y aquéllos diseñados para ser ramificados mediante el tratamiento físico como el térmico y/o tratamiento de ultrasonido. En general, los polímeros ramificados están definidos como polímeros en donde un sustituyente de una subunidad del monómero se reemplaza por otra cadena del polímero enlazado covalentemente. En otra modalidad, el biopolímero ramificado es un polímero reticulado. En otra modalidad, el biopolímero ramificado no es reticulado. Ejemplos ilimitados de polímeros ramificados son glicógeno y amilopectina, formas de almidón encontrado en los animales y plantas, respectivamente. Las estructuras de glicógeno y amilopectina se describen a continuación:



Glicógeno



ami lopectina

En otra modalidad, el biopolímero es un biopolímero fibroso. El "polímero fibroso" se refiere a un polímero en la forma de una red de piezas de hilo discreta. Ejemplos ilimitados de polímeros fibrosos son la goma guar (encontrada por ejemplo, en Benefiber™), colágeno, queratina, fibrina, y elastina. Los biopolímeros puede ser naturalmente fibrosos o hechos fibra mediante el tratamiento físico y químico.

Cada tipo de biopolímero fibroso ramificado representa una modalidad individual de la presente invención.

En otra modalidad, el biopolímero de una composición de la presente invención cae dentro de un rango de

temperaturas de fusión particularmente convenientes para las composiciones de la presente invención. En otra modalidad, el biopolímero tiene una temperatura de fusión bajo 400 °C. En otra modalidad, la T_m está por debajo de 350 °C. En otra modalidad, la T_m está por debajo de 300 °C. En otra modalidad, la T_m está por debajo de 250 °C. En otra modalidad, la T_m está por debajo de 200 °C. En otra modalidad, la T_m está por debajo de 150 °C. En otra modalidad, la T_m está entre 100-400 °C. En otra modalidad, la T_m es cualquier T_m que se cae dentro de un rango descrito en la presente. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

Preferentemente, el biopolímero de los métodos y composiciones de la presente invención se selecciona del grupo que consiste de un polisacárido y una proteína estructural MW alta.

Polisacáridos

El "sacárido" se refiere a cualquier hidrato de carbono simple que incluye a los monosacáridos, derivados del monosacárido, análogos del monosacárido, azúcares, que incluyen aquéllos, que forma las unidades individuales en un polisacárido. El "monosacárido" se refiere a polihidroxialdehido (aldosa) o polihidroxicetona (quetosa) y derivados y análogos de los mismos.

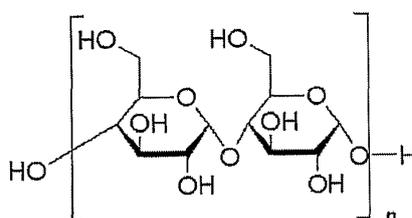
El "polisacárido" se refiere a polímeros formados de aproximadamente 500 hasta más de 100,000 unidades de sacárido unidas entre si mediante enlaces hemiacetales o glicosídicos. El polisacárido puede ser una cadena recta, simplemente ramificada, o de múltiples ramificaciones, en donde cada ramificación puede tener ramas secundarias adicionales, y los monosacáridos pueden ser azúcares D o L-cíclicos normales en las formas piranosa (anillos de 6 miembros) o furanosa (anillos de 5 miembros) como la D-fructosa y D-galactosa, respectivamente, o pueden ser derivados de azúcares cíclicos, por ejemplo, los azúcares amino como la D-glucosamina, azúcares deoxi como D-fucosa o L-ramnosa, fosfatos de azúcar como D-ribosa-5-fosfato, ácidos de azúcar como D-ácido galacturónico, o azúcares multi-derivados como N-acetil-D-glucosamina, ácido N-acetilneuramínico (ácido sialico), o N-sulfato-D-glucosamina. Cuando se aísla de la naturaleza, las preparaciones del polisacárido comprenden moléculas que son heterogéneas en peso molecular. Los polisacáridos incluyen, entre otros compuestos, galactomananos y derivados de galactomanan; los galacto-ramnogalacturones y derivados del galacto-ramnogalacturon, y galacto-arabinogalacturon y derivados del galacto-arabinogalacturon.

El polisacárido usado en los métodos de la presente invención es, en otra modalidad, un polisacárido que se presenta naturalmente. En otra modalidad, el polisacárido es un polisacárido sintético. Ejemplos ilimitados de polisacáridos sintéticos pueden encontrarse en la US. 6,528,497 y en Okada M. et al. Polymer Journal, 15 (11); 821-26 (1983). En otra modalidad, el polisacárido es un polisacárido ramificado. Este término se comprende bien por los experimentados en la técnica y puede referirse a cualquier número y estructura de ramificaciones en los enlaces entre los monómeros del monosacárido. En otra modalidad, el polisacárido es un polisacárido ramificado que se presenta naturalmente. En otra modalidad, el polisacárido es un polisacárido ramificado sintético. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

En otra modalidad, el PM promedio del polisacárido es por lo menos 100 kilodaltones (kDa). En otra modalidad, el PM promedio es por lo menos 150 kDa. En otra modalidad, el PM promedio es por lo menos 200 kDa. En otra modalidad, el PM promedio es por lo menos 300 kDa. En otra modalidad, el PM promedio es por lo menos 400 kDa. En otra modalidad, el PM promedio es por lo menos 500 kDa. En otra modalidad, el PM promedio es por lo menos 600 kDa. En otra modalidad, el PM promedio es por lo menos 800 kDa. En otra modalidad, el PM promedio es por lo menos 1000 kDa. En otra modalidad, el PM promedio está entre 100-1000 kDa. En otra modalidad, el PM promedio está entre 150 - 1000 kDa. En otra modalidad, el PM promedio está entre 200-1000 kDa. En otra modalidad, el PM promedio está entre 100-800 kDa. En otra modalidad, el PM promedio está entre 100-600 kDa. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

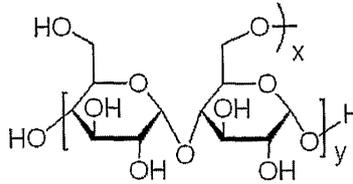
En otra modalidad, el polisacárido se selecciona del grupo que consiste de almidón, dextrina, celulosa, quitina, glucano alfa, y glucano beta y derivados de los mismos. Normalmente, la celulosa, dextrina, almidón y glicógeno son todos polímeros de glucosa y por lo tanto tienen la fórmula $(C_6H_{10}O_5)_n$.

En otra modalidad, el polisacárido es un almidón, que tiene la estructura a continuación. Ejemplos ilimitados de almidón son el almidón de maíz, fécula de papa, almidón de arroz, almidón de trigo, almidón de puro, y almidona de algas. En otra modalidad, el almidón es cualquier otro almidón conocido en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

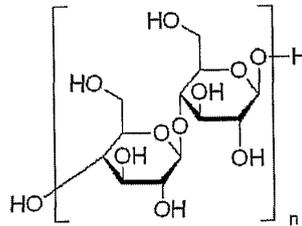


50

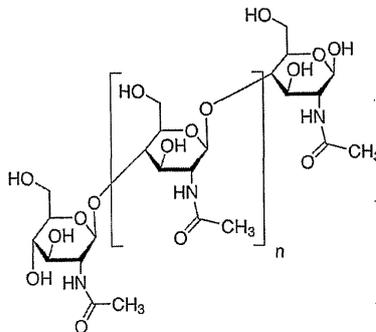
5 En otra modalidad, el polisacárido es una dextrina. "Dextrina" en otra modalidad se refiere a un hidrato de carbono de peso molecular bajo producido por la hidrólisis del almidón. En otra modalidad, el término se refiere a un polímero D-glucosa enlazado a α -(1,4) lineal que empieza con un enlace α -(1,6) o una mezcla del mismo. Las dextrinas están amplia y comercialmente disponibles y pueden producirse *inter alia* por la digestión de amilopectina ramificada o glicógeno con α -amilasa. Un ejemplo ilimitado de una dextrina es una maltodextrina que tiene la estructura debajo. En otra modalidad, la dextrina es cualquier otra dextrina conocida en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.



10 En otra modalidad, el polisacárido es celulosa. Un ejemplo ilimitado de un almidón es α -celulosa, que tiene la estructura debajo. En otra modalidad, la celulosa es cualquier otra celulosa conocida en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.



15 En otra modalidad, el polisacárido es quitina. Un ejemplo ilimitado de quitina tiene la fórmula molecular $(C_8H_{13}NO_5)_n$ y tiene la estructura debajo. En otra modalidad, la quitina es cualquier otra quitina conocida en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.



20 En otra modalidad, el polisacárido es un alfa-glucano. El alfa-glucano de la presente invención puede ser lineal o tener polímeros ramificados de glucosa con enlaces alfa 1-2, alfa 1-3, alfa 1-4, y/o alfa 1-6 glicosídicos. Por ejemplo, los alfa-glucanos tales como alfa-amilosa derivados de plantas son polímeros de glucosa lineales no ramificados con enlaces alfa 1-4 glicosídicos y alfa-glucanos tales como la amilopectina derivados de plantas, son polímeros de glucosa ramificados con enlaces alfa 1-4 glicosídicos en la estructura y enlaces alfa 1-6 en los puntos ramificados. En otra modalidad, el alfa-glucano es cualquier otro alfa-glucano conocido en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

25 En otra modalidad, el polisacárido es un beta-glucano. "Beta-glucano" se refiere a esos polisacáridos que comprenden unidades D-glucopiranosil que son enlazados juntos mediante enlaces beta (1 \rightarrow 3) o (1 \rightarrow 4). Los beta-glucanos ocurren naturalmente en muchos granos de cereal tales como la avena y la cebada. El peso molecular de moléculas beta-glucano que ocurren en los cereales son normalmente de 200 a 2000 kDa. En otra modalidad, el beta-glucano es cualquier otro beta-glucano conocido en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

30 En otra modalidad, la T_m de un polisacárido de una composición de la presente invención cae dentro de un rango de temperaturas de fusión particularmente conveniente para las composiciones de la presente invención. En otra modalidad, el polisacárido tiene una T_m , inferior a 400 °C.

En otra modalidad, la T_m es otra T_m o rango de T_m definida en la presente. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

5 En otra modalidad, una composición farmacéutica de la presente invención comprende además, un biopolímero adicional que es un biopolímero lineal. En otra modalidad, el biopolímero adicional es un polisacárido lineal. En otra modalidad, el biopolímero adicional se selecciona del grupo que consiste de quitina, celulosa, un glucano alfa lineal, y un glucano beta lineal. En otra modalidad, el biopolímero adicional se selecciona del grupo que consiste de quitina, amilosa, celulosa, y glucano beta. Un ejemplo ilimitado de tal combinación es la amilopectina, un biopolímero ramificado, y quitina, un polisacárido lineal. Otros biopolímeros lineales y ramificados descritos en la presente también son adecuados. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

10 En otra modalidad de métodos y composiciones de la presente invención, el biopolímero de la composición es un polisacárido lineal. En esta modalidad, un biopolímero ramificado no se requiere que esté presente.

15 En otra modalidad, el biopolímero adicional de los métodos y composiciones de la presente invención es una fibra, preferencialmente una fibra dietética. La definición del término "fibra" y "fibra dietética" como se usa en la presente incluye hidratos de carbono no disponibles, residuos indigestos, y polisacáridos de células de plantas y lignina, todos de los cuales son resistentes a la hidrólisis mediante las enzimas digestivas humanas. Las fibras preferidas son miembros seleccionados del grupo que consiste de goma guar, pectina, fructo-oligosacáridos y derivados de los mismos. Las cantidades pequeñas de otros compuestos indigestos, como los fitatos, taninos, saponinas y cutinas, pueden ser incluidas en la fibra dietética puesto que estos compuestos son indigestos y están asociados con los polisacáridos de fibra dietéticos. En otra modalidad, la fibra dietética es una fibra insoluble. En otra modalidad, la fibra dietética es una fibra insoluble lineal. En otra modalidad, la fibra dietética es una fibra soluble. En otra modalidad, la fibra dietética es una fibra soluble lineal. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

25 En otra modalidad, una composición de la presente invención comprende un biopolímero ramificado, un polisacárido lineal, y una fibra insoluble. En otra modalidad, una composición de la presente invención comprende un biopolímero ramificado, un polipéptido, y una fibra insoluble. Un ejemplo de ellos, es una composición que comprende amilopectina, un polisacárido ramificado; queratina, un polipéptido; y celulosa, una fibra insoluble. Otros polisacáridos ramificados, polipéptidos, y fibras insolubles descritos en la presente también son convenientes. En otra modalidad, una composición de la presente invención comprende un polisacárido ramificado, un polisacárido lineal, y una fibra insoluble. Un ejemplo de ellos, es una composición que comprende amilopectina, un polisacárido ramificado; quitina, un polisacárido lineal; y celulosa, una fibra insoluble. Otros polisacáridos ramificados y lineales y fibras insolubles descritos en la presente también son convenientes. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

Proteínas estructurales

35 De acuerdo con ciertas modalidades, los ingredientes de material en partículas sólidas secos de composiciones pueden comprender además, una proteína estructural. La proteína estructural de los métodos y composiciones de la presente invención es una proteína estructural de peso molecular alto (MW). En algunas modalidades, la proteína estructural comprende residuos hidrófilos e hidrófobos que interactúan con las regiones hidrófobas e hidrófilas, respectivamente, de la proteína o el péptido biológicamente activo.

40 En otra modalidad, el PM promedio de la proteína estructural es por lo menos 100 kilodalton (kDa). En otra modalidad, el PM promedio es por lo menos 150 kDa. En otra modalidad, el PM promedio es por lo menos 200 kDa. En otra modalidad, el PM promedio es por lo menos 300 kDa. En otra modalidad, el PM promedio es por lo menos 400 kDa. En otra modalidad, el PM promedio es por lo menos 500 kDa. En otra modalidad, el PM promedio es por lo menos 600 kDa. En otra modalidad, el PM promedio es por lo menos 800 kDa. En otra modalidad, el PM promedio es por lo menos 1000 kDa. En otra modalidad, el PM promedio está entre 100-1000 kDa. En otra modalidad, el PM promedio está entre 150 - 1000 kDa. En otra modalidad, el PM promedio está entre 200-1000 kDa. En otra modalidad, el PM promedio está entre 100-800 kDa. En otra modalidad, el PM promedio está entre 100-600 kDa. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

50 La "proteína estructural", en una modalidad, se refiere a una proteína incluida para la estructura que confiere la composición de vehículo de matriz. En otra modalidad, una proteína estructural de la presente invención carece de actividad terapéutica. En otra modalidad, el término se refiere a una proteína que confiere estructura a una célula, membrana celular o membrana extracelular *in vivo*. En otra modalidad, la proteína estructural es una proteína fibrosa. En otra modalidad, la proteína estructural es una escleroproteína. En otra modalidad, la proteína estructural se selecciona del grupo que consiste de elastina, colágeno, queratina, y fibrinógeno. En otra modalidad, la proteína estructural es cualquier otra proteína fibrosa o escleroproteína conocida en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

55 En otra modalidad, la proteína estructural es elastina. Se describen ejemplos ilimitados de proteínas de elastina, *inter alia*, en el Acceso al Banco Genético números NP_031951, NPJ786966, y AAC98394. En otra modalidad, la

elastina es cualquier otra elastina conocida en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

5 En otra modalidad, la proteína estructural es colágeno. Ejemplos ilimitados de proteínas de colágeno incluyen aquéllos codificados por los símbolos del gen COL3A1, COL14A1, COL1 A2, COL5A2, IAI de COLI, COL5A1, COL4A6, COL4A5, COL4A4, COL4A3, COL4A2, COL1A2, COL5A3, COL18A1, COL12A1, COL19A1, COL24A1, COL4A1, y COL2A1. En otra modalidad, el colágeno es cualquier otro colágeno conocido en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

10 En otra modalidad, la proteína estructural es queratina. Ejemplos ilimitados de proteínas de queratina incluyen queratina 18, queratina 14, queratina 3, y queratina 86 (GenBank numero de acceso P05783, P02533, P12035, 043790, respectivamente. En otra modalidad, la queratina es cualquier otra queratina conocida en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

15 En otra modalidad, la proteína estructural es fibrinógeno. El fibrinógeno es una glicoproteína compuesta de tres pares de polipéptidos: dos cadenas alfa, dos beta, y dos gama. Se describen ejemplos ilimitados de fibrinógeno cadenas alfa, beta, y gama, *inter alia*, en los números de acceso al Banco de Genes P02671, P02675, y P02679. En otra modalidad, el fibrinógeno es cualquier otro fibrinógeno conocido en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

20 En otra modalidad, la T_m de una proteína estructural de una composición de la presente invención cae dentro de un rango de temperaturas de fusión particularmente conveniente para las composiciones de la presente invención. En otra modalidad, la proteína estructural tiene una T_m debajo de 400 °C. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

Aceites y revestimientos de aceite

25 La fase de material en partículas sólidas de las composiciones de la presente invención está rodeada por, sumergida en, incrustada en, dispersa en o suspendida en un vehículo de aceite. Normalmente, la fase de aceite, además del revestimiento de la fase sólida, impregna la fase sólida, que está compuesta de nanopartículas, biopolímero, y moléculas farmacológicamente activas. La referencia a un "aceite", "capa de aceite," "fase de aceite," o "revestimiento de aceite" no excluye la presencia de un componente adicional o componentes útiles en los métodos de la presente invención (por ejemplo, un co-factor soluble en grasa o antioxidante). Más bien, el término indica que el aceite, capa de aceite, fase de aceite, o revestimiento está principalmente compuesto de un vehículo de aceite farmacéuticamente aceptable en el que los otros componentes se mezclan y/o disuelven. El vehículo de aceite puede estar compuesto ya sea de un tipo o pluralidad de tipos de aceites, como los descritos en la presente. En otra modalidad, el revestimiento consiste esencialmente de lípidos y/o aceites. En otra modalidad, el revestimiento de la composición comprende un vehículo de aceite farmacéuticamente aceptable. En otra modalidad, el vehículo de aceite es un aceite que se presenta naturalmente. En otra modalidad, el aceite es una mezcla de aceites vegetales naturales. En otra modalidad, el vehículo de aceite es aceite de ajonjolí. En otra modalidad, el vehículo de aceite es aceite de oliva. En otra modalidad, el vehículo de aceite es aceite de linaza. En otra modalidad, el vehículo de aceite se iguala al aceite de primula. En otra modalidad, el vehículo de aceite es aceite de silicona. En otra modalidad, el vehículo de aceite es aceite de espio amarillo. En otra modalidad, el vehículo de aceite se selecciona del grupo que consiste de aceite de ajonjolí, aceite de oliva, aceite de linaza, aceite igual al de primula, aceite de silicio, y aceite de espio amarillo. En otra modalidad, el vehículo de aceite incluye, pero no se limita a, un aceite seleccionado del grupo que consiste de aceite del girasol, aceite de maíz, aceite de soja, aceite de jojoba, aceite de médula, aceite de pepitas de uva, aceite de avellana, aceite de albaricoque, aceite de macadamia y aceite de ricino.

En otra modalidad, el vehículo de aceite es de origen animal, como lanolina.

45 En otra modalidad, el vehículo de aceite es un aceite sintético. En otra modalidad, el vehículo de aceite es un alcohol graso. En ciertas modalidades preferidas, el vehículo de aceite es 2-octildodecanol. En ciertas otras modalidades preferidas, el vehículo de aceite se selecciona del grupo que consiste de un éster de ácido graso y un fenilsilicona. En ciertas modalidades más preferidas, el vehículo de aceite se selecciona del grupo que consiste de feniltrimeticona, un difinildimeticona, y un poli-metilfenilsiloxano.

En otra modalidad, el vehículo de aceite es otro aceite adecuado conocido en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

50 En otra modalidad, el aceite consiste esencialmente de lípidos que ocurren naturalmente y/o aceites. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

55 La "pluralidad de aceites" se refiere, en otra modalidad, a dos o más aceites. En otra modalidad, una composición de la presente invención comprende tres o más aceites. En otra modalidad, una composición de la presente invención comprende cuatro o más aceites. En otra modalidad, una composición de la presente invención comprende más de cuatro aceites. En otra modalidad, la fase de aceite comprende una mezcla de aceites seleccionada de aceites vegetales naturales. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

- 5 En otra modalidad, un componente de aceite de la presente invención comprende un componente capaz de estimular la secreción de sales de la bilis o ácidos de la bilis cuando se ingirieron por un sujeto. En otra modalidad, el componente que estimula la bilis es un aceite. En otra modalidad, el componente es aceite de oliva o un extracto del mismo. En otra modalidad, el componente es cualquier otra sustancia soluble en lípidos que estimula la sal/ácido de la bilis conocida en la técnica. En otra modalidad, la sustancia que estimula la sal/ácido de la bilis es una sustancia individual del vehículo. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.
- 10 En otra modalidad, un componente de aceite de la presente invención contiene una cantidad significativa de uno o más antioxidantes. Por ejemplo, aceite de espino amarillo (oblepicha) contiene una cantidad significativa de beta-caroteno. En otra modalidad, puede usarse cualquier otro aceite enriquecido en uno o más antioxidantes. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.
- 15 En otra modalidad, los componentes de aceite de las composiciones de la presente invención pueden incluir un aceite con una temperatura de fusión relativamente alta. De acuerdo con algunas modalidades, un componente de aceite de la presente invención comprende un componente que tiene una temperatura de fusión (T_m) de por lo menos 5-10 °C. En otra modalidad, el componente de alta T_m es un líquido a la temperatura ambiente. En otra modalidad, el vehículo de aceite es el componente de T_m alta. En otra modalidad, el componente de T_m alta se incluye además de otro vehículo de aceite. Un ejemplo ilimitado de un aceite de T_m alta es un aceite de jojoba. En otra modalidad, la T_m alta del aceite es cualquier otro aceite de temperatura de fusión alta conocido en la técnica. En otra modalidad, el aceite de T_m alta se usa como la mayoría de los vehículos de aceite en el vehículo de matriz de la presente invención. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.
- 20 En otra modalidad, una composición de la matriz de la presente invención comprende además, un componente de aceite adicional. Como se da a conocer en la presente, la mezcla de múltiples componentes de aceite de composiciones de la presente invención de acuerdo con los métodos descritos en la presente, proporciona en la presente una auto-clasificación o auto-organización de la estructura de matriz, debido a la adsorción competitiva y minimización de la energía libre. El término "componente de aceite adicional" abarca un aceite o mezcla de aceites, como se describe en otra parte en la presente. En otra modalidad, el vehículo de aceite del componente de aceite adicional es aceite de oliva. En otra modalidad, el vehículo de aceite es otro aceite adecuado conocido en la técnica. En otra modalidad, el componente de aceite adicional comprende un antioxidante. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.
- 25 En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activo están incluidos en el aceite adicional o mezcla de aceites, en lugar del primer aceite agregado o mezcla de aceites. En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activo se combinan con un antioxidante y aceite (el primero se agrega o aceites adicionales o mezcla de aceites) antes de añadirlos en la fase sólida. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.
- 30 En otra modalidad, el aceite adicional, aceite o mezcla de aceites tienen una viscosidad superior a la del primer aceite adicionado o mezcla de aceites. En otra modalidad, sin el deseo de ligar cualquier teoría o mecanismo de acción, el uso de un aceite de viscosidad superior o mezcla de aceites en esta fase permite la auto-clasificación o auto-organización de la estructura debido a la adsorción competitiva y minimización de la energía libre. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.
- 35 En otra modalidad, una composición de la matriz de la presente invención comprende además, un tercer aceite o mezcla de aceites. En otra modalidad, el tercer componente de aceite comprende un antioxidante. En otra modalidad, el tercer componente de aceite es el aceite de ajonjolí. En otra modalidad, el tercer componente de aceite es otro aceite adecuado conocido en la técnica. En otra modalidad, el tercer aceite, aceite o mezcla de aceites tienen una viscosidad superior a la del aceite adicional o mezcla de aceites. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.
- 40 En otra modalidad, un vehículo de aceite altamente penetrante se incluye en el aceite exterior o mezcla de aceites. Ejemplos ilimitados de aceites altamente penetrantes son el aceite de ajonjolí, aceite de árbol del té (Melaleuca), esencia de lavanda, aceite de almendra, y aceite de semilla de uva. En otra modalidad, el vehículo de aceite altamente penetrante promueve el transporte eficiente de las sustancias en la sangre. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.
- 45 En otra modalidad, una composición de la matriz o composición farmacéutica de la presente invención comprende además, una cera farmacéuticamente aceptable. El término "cera" significa un compuesto lipofílico, que se encuentra en estado sólido a la temperatura ambiente (25 °C), con un cambio de estado sólido/líquido reversible, que tiene un punto de fusión mayor que o igual a 30 °C que puede ser de hasta 120 °C. Trayendo la cera al estado líquido (fundíndola), es posible hacerla miscible con cualquier aceite presente y formar una mezcla microscópicamente homogénea, pero que retorna a la temperatura de la mezcla a temperatura ambiente, obteniéndose la recrystalización de la cera en los aceites de la mezcla. La cera puede ser una cera natural, por ejemplo, cera de abejas, una cera derivada del material vegetal, o una cera sintética preparada mediante esterificación de un ácido graso y un alcohol de cadena larga. Otras ceras adecuadas incluyen ceras de petróleo tales como una cera de parafina. En otra modalidad, la cera estabiliza la composición del vehículo de matriz. En otra
- 50
- 55

modalidad, la inclusión de cera facilita formación de una tableta que contiene la composición del vehículo de matriz. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

Composiciones farmacéuticas

5 En otra modalidad, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende: (a) nanopartículas farmacológicamente inertes que tienen una superficie hidrófoba, en donde el tamaño de las nanopartículas se encuentra entre 1-100 nanómetros, en asociación no covalente íntima con un biopolímero que comprende un polisacárido; y (b) una proteína o un péptido biológicamente activos adherido no covalentemente a las nanopartículas y al biopolímero; en donde la matriz formada por las nanopartículas, biopolímero, y la proteína o el péptido biológicamente activos se incrustan, dispersan, sumergen o suspenden en el aceite. En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activos se adhieren no covalentemente a las superficies hidrófobas de las nanopartículas y las superficies hidrófilas del biopolímero. En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activos también se adhieren no covalentemente a las superficies hidrófobas del biopolímero. En otra modalidad, la dimensión de las partículas de la composición farmacéutica que sigue a su formación, pero previo a la ingestión se encuentra entre 100-500,000 nm. En otra modalidad, la dimensión de las partículas se encuentra entre 100-50,000 nm. En otra modalidad, la dimensión de las partículas se encuentra entre 100-5000 nm. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

20 Varios componentes de las composiciones farmacéuticas de la presente invención, a saber, nanopartículas, biopolímeros, y aceites, se describieron anteriormente en la presente. En otra modalidad, la fase de aceite de la composición del vehículo de matriz comprende una pluralidad de aceites. En otra modalidad, el peso combinado del material en partículas que contiene: nanopartículas, el biopolímero, y la proteína o el péptido no es más del 25 % del peso total de la composición. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

25 En otra modalidad, la composición del vehículo de matriz se une por las fuerzas no covalentes. En otra modalidad, sin el deseo de ligar cualquier teoría o mecanismo de acción, las fuerzas no covalentes entre los componentes de la composición de la matriz permiten a la composición de la matriz autoensamblarse cuando los componentes se mezclan juntos, como se describe en la presente. En otra modalidad, las fuerzas no covalentes causan que las nanopartículas, biopolímero, y proteína/polipéptido formen una mezcla íntima. En otra modalidad, la composición de la matriz exhibe una estructura fractal, ordenada. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

30 En otra modalidad, el complejo de las nanopartículas-biopolímero-proteína/péptido se dispersa dentro de la fase de aceite de la composición de matriz. En otra modalidad, la fase de aceite se impregna con el complejo de nanopartículas-biopolímero-proteína/péptido de la composición de matriz. Como se proporciona en la presente, la presente invención proporciona las composiciones en las que las nanopartículas, biopolímeros, y proteína o péptido forman una matriz que se impregna y que está completamente rodeada por la fase de aceite. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

35 **Proteínas y polipéptidos adecuados como agentes activos en las composiciones de la invención.**

40 "Actividad terapéutica que tiene una proteína o un péptido", como se usa en la presente, se refiere a una proteína o un péptido que exhiben actividad que puede ser terapéutica en un sujeto que necesita de los mismos. En ciertas modalidades preferidas, el término abarca proteínas y péptidos conocidos generalmente por exhibir actividad biológica, sin limitarse a su formulación en las composiciones de la presente invención. En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activos es una glicoproteína o proteína glicosilada. En otra modalidad, la proteína o el péptido es no glicosilada. En otra modalidad, la proteína o el péptido es cualquier otro tipo de proteína o péptido conocido en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

45 El peso molecular (MW) de la proteína o del péptido biológicamente activos es, en otra modalidad, por debajo de 100 kilodaltones (kDa). En otra modalidad, el MW está por debajo de 90 kDa. En otra modalidad, el MW está por debajo de 80 kDa. En otra modalidad, el MW está por debajo de 70 kDa. En otra modalidad, el MW está por debajo de 60 kDa. En otra modalidad, el MW está por debajo de 50 kDa. En otra modalidad, el MW está por debajo de 45 kDa. En otra modalidad, el MW está por debajo de 40 kDa. En otra modalidad, el MW está por debajo de 35 kDa. En otra modalidad, el MW está por debajo de 30 kDa. En otra modalidad, el MW está por debajo de 25 kDa. En otra modalidad, el MW está por debajo de 20 kDa. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

55 En otra modalidad, el MW de la proteína o del péptido biológicamente activos es de más de 100 kDa. En otra modalidad, el MW es 100-5000 kDa. En otra modalidad, el MW es 100-4000 kDa. En otra modalidad, el MW es 100-3000 kDa. En otra modalidad, el MW es 100-2000 kDa. En otra modalidad, el MW es 100-1500 kDa. En otra modalidad, el MW es 100-1000 kDa. En otra modalidad, el MW es 100-800 kDa. En otra modalidad, el MW es 100-700 kDa. En otra modalidad, el MW es 100-600 kDa. En otra modalidad, el MW es 100-500 kDa. En otra modalidad, el MW es 100-400 kDa. En otra modalidad, el MW es 100-300 kDa. En otra modalidad, el MW es 100-200 kDa. En otra modalidad, el MW es 100-150 kDa. En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activo es un polímero sintético de MW desconocido o variable. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la

presente invención.

Como se da a conocer en la presente, las proteínas y péptidos biológicamente activos de una variedad de pesos moleculares pueden incorporarse con éxito en las composiciones del vehículo de matriz de la presente invención. Por ejemplo, se ha utilizado insulina (MW 5,808); Ribonucleasa (MW 14,000); y deoxiribonucleasa (MW de más de 30,000 daltones).

En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activos se selecciona del grupo que consiste de un factor de crecimiento, un citoquina, una hormona del péptido, un péptido analgésico, una enzima, un péptido pequeño, o péptido del factor que coagula la sangre, y un neurotransmisor del péptido. En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activos es un polímero sintético. En otra modalidad, la proteína o el péptido es cualquier otro tipo de proteína o péptido biológicamente activos conocidos en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activo es un factor de crecimiento. Ejemplos ilimitados de factores de crecimiento son el factor de crecimiento derivado de plaqueta (PDGF), factor de crecimiento de células madre (SCF), factor de crecimiento de hepatocito (HGF), factor de crecimiento transformante (TGF), factor de crecimiento del nervio (NGF), factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento del fibroblasto (FGF), factor de crecimiento tipo insulina (IGF). En otra modalidad, el factor de crecimiento es cualquier otro tipo de factor de crecimiento conocido en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activo es una citoquina. Ejemplos ilimitados de citoquinas son el factor de necrosis de tumor, interferón, e interleuquina. En otra modalidad, la citoquina es cualquier otro tipo de citoquina conocido en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activo es un factor hematopoiético. Ejemplos ilimitados de factores hematopoiéticos son eritropoietina, factor estimulante de la colonia, factor estimulante de la colonia de granulocito-macrófago, factor estimulante de la colonia de macrófagos y trombopoietina. En otra modalidad, el factor hematopoiético es cualquier otro tipo de factor hematopoiético conocido en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

En otra modalidad, el péptido biológicamente activo es una hormona del péptido. Ejemplos ilimitados de hormonas del péptido son hormonas liberadoras de hormonas de leuteinización (LH-RH), hormona que libera tirotrópina (TRH), somatostatina, hormona del crecimiento pituitaria, prolactina, hormona adrenocorticotrópica (ACTH), hormona estimulante de melanocitos (MSH), hormona estimulante de la tiroides (TSH), hormona de luteinización (LH), hormona estimulante de los folículos (FSH), vasopresina, oxitoxina, tirocalcitonina, hormona paratiroide (PTH), glucagon, gastrina, secretina, pancreozimina, colecistoquinina, angiotensina, lactogen de placenta humana, gonadotropina corionica humana (HCG), cerúleo, motilina, polipéptido insulínotropico dependiente de glucosa (GIP), y péptido-1 tipo glucagon (GLP-1). En otra modalidad, la hormona del péptido es cualquier otro tipo de hormona de péptido conocida en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

En otra modalidad, el péptido biológicamente activo es un péptido analgésico. Ejemplos ilimitados de péptidos analgésicos son encefalina, endorfina, dinorfina, quiotorfina.

En otra modalidad, el péptido analgésico es cualquier otro tipo de péptido analgésico conocido en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

En otra modalidad, la proteína biológicamente activa es una enzima. Como se proporciona en la presente, las composiciones de la presente invención permiten administrar las enzimas mientras retienen una fracción significativa de su actividad catalítica. Ejemplos ilimitados de enzimas son DNasa, RNasa, dismutasa de superóxido (SOD), uroquinasa, activador del plasminogen del tejido (TPA), asparaginasa, kalikreina, y deshidrogenasa de piruvato. En otra modalidad, la enzima es cualquier otro tipo de enzima conocido en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

En otra modalidad, el péptido biológicamente activo es un neurotransmisor. Ejemplos ilimitados de neurotransmisores del péptido son bombesina, neurotensina, bradikina, y sustancia P. En otra modalidad, el neurotransmisor es cualquier otro tipo de neurotransmisor conocido en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activos es un péptido anticoagulante.

En otra modalidad, el péptido biológicamente activo es un anticuerpo. En otra modalidad, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal. En otra modalidad, el anticuerpo es un anticuerpo de factor de necrosis anti-tumor (TNF). Los anticuerpos Anti-TNF están comercialmente disponibles e incluyen Infliximab™, Etanercept™, y Adalimumab™. En otra modalidad, el anticuerpo es cualquier otro anticuerpo anti-TNF conocido en la técnica. En otra modalidad, el anticuerpo es contra el antígeno carcinoembrionario (CEA). En otra modalidad, el anticuerpo es contra el antígeno del carcinoma ovárico CAI 25. En otra modalidad, el anticuerpo es cualquier otro anticuerpo que tiene actividad

terapéutica conocido en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

5 En otra modalidad, el péptido biológicamente activo es un fragmento del anticuerpo. En otra modalidad, el fragmento del anticuerpo es un fragmento Fc. En otra modalidad, el fragmento del anticuerpo es un fragmento Fab. En otra modalidad, el fragmento del anticuerpo es una cadena ligera. En otra modalidad, el fragmento del anticuerpo es una cadena pesada. En otra modalidad, el fragmento del anticuerpo es cualquier otro tipo de fragmento del anticuerpo conocido en la técnica. En otra modalidad, el fragmento del anticuerpo es un fragmento de un anticuerpo anti-TNF. En otra modalidad, el fragmento del anticuerpo es un fragmento de cualquier otro anticuerpo que tiene actividad terapéutica conocida en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

10 En otra modalidad, el péptido biológicamente activo es un anticuerpo conjugado a un agente farmacéutico. En otra modalidad, el agente farmacéutico es una citoquina. En otra modalidad, el agente farmacéutico es una proteína del factor de necrosis de tumor dominante-negativo (TNF). En otra modalidad, el agente farmacéutico es una proteína del factor de necrosis de tumor (TNF). En otra modalidad, el agente farmacéutico es un isótopo radiactivo. En otra modalidad, el agente farmacéutico es cualquier otro agente farmacéutico conocido en la técnica. En otra modalidad, el agente anticuerpo-farmacéutico conjugado exhibe actividad contra la infección viral. En otra modalidad, el agente anticuerpo-farmacéutico conjugado exhibe actividad contra la infección bacteriana. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

En otra modalidad, el péptido biológicamente activo es un fragmento del anticuerpo conjugado a un agente farmacéutico.

20 En otra modalidad, el péptido biológicamente activo se selecciona del grupo que consiste de calcitonina, eritropoietina, hormona pituitaria del crecimiento, una proteína del factor de necrosis de tumor dominante-negativo (TNF), interferón-alfa, interferón-beta, interferón-gama, y un anticuerpo del factor de necrosis anti-tumor (TNF).

25 En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activos es un DNasa. El término incluye endodeoxirribonucleasas y exodeoxirribonucleasas. Las DNasas son fosfodiesterasas capaces de hidrolizar el ácido desoxirribonucleico en deoxinucleotidos 3' o 5'-fosfato individuales en la hidrólisis del ácido desoxirribonucleico (ADN). Ejemplos ilimitados de DNasa son DNasa I3 DNasa II, y proteínas con las secuencias establecidas en el Banco de Genes con número de acceso YP_001911052, CAA62587, Q8WZ79, y NP_650672. En otra modalidad, la DNasa es cualquier otra DNasa conocida en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

30 En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activos es una RNasa. El término incluye endorribonucleasas y exorribonucleasas. La RNasas son enzimas capaces de degradar poli-ARN. Ejemplos ilimitados de RNasas son RNasa A, RNasa H, RNasa I, RNasa III, RNasa L, RNasa P, RNasa PhyM, RNasa TI, RNasa T2, RNasa U2, RNasa VI, RNasa V, PNPasa, RNasa PH, RNasall, RNasa R, RNasa D, RNasa T, oligorribonucleasa, exorribonucleasa I, y exorribonucleasa II. En otra modalidad, la RNasa se administra junto con un antioxidante. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

35 En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activos es la hormona pituitaria del crecimiento. La hormona pituitaria del crecimiento es una hormona del polipéptido, normalmente los 191 amino ácidos de longitud, secretados por la adenohipofisis de humano (glándula pituitaria anterior), y también conocida como GH o somatotropina. Las secuencias de ejemplos no limitantes de hormonas pituitarias del crecimiento son establecidas en el Banco de Genes número de acceso NM_000515, NM_022559, NM_022560, NM_022561, y NM_022562. En otra modalidad, la hormona pituitaria del crecimiento es cualquier otra hormona pituitaria del crecimiento conocida en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

45 En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activos es Copaxone™. Copolímero 1 (Cop 1), también conocido como Copaxone™ y acetato de glatirámero, es un fármaco para el tratamiento de la esclerosis múltiple. Consiste en un polímero sintético de L-alanina, la L-lisina, L-ácido glutámico y L-tirosina con una fracción molar promedio de 0.141, 0.427, 0.095, y 0.338, respectivamente y un peso molecular promedio de 5,000-9,000 daltones. Además de Copolímero 1, Copaxone™ contiene 40 mg/ml de manitol que aumenta la permeabilidad de BBB. El Copaxone™ es bien conocido en la técnica, y se describe, por ejemplo, en Jacobs L. et al. (Advances in specific therapy for multiple sclerosis. *Curr. Opin. Neurol.* 7:250-4, 1994). En otra modalidad, la composición de la presente invención comprende Copaxone™ como el polipéptido biológicamente activo y además comprende manitol. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

55 En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activos es un péptido apolipoproteína A-1 mimético. Los péptidos de apolipoproteína A-1 miméticos son bien conocidos en la técnica, y se describen, por ejemplo, en Ou J. et al. (L-4F, an apolipoprotein A-I mimetic, dramatically improves vasodilation in hypercholesterolemia and sickle cell disease. *Circulation*, 107:2337-41, 2003).). Un ejemplo ilimitado de un péptido de apolipoproteína A-1 mimético es L-4F. Las estructuras del péptido de apolipoproteína A-1 miméticos adicionales en la Figura 14. En otra modalidad, el péptido de apolipoproteína A-1 mimético es cualquier otro péptido de apolipoproteína A-1 mimético conocido en la técnica. Cada péptido de apolipoproteína A-1 mimético representa una modalidad individual de la presente invención.

En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activos es rituximab. Rituximab (Rituxan®) es una terapia que dirige selectivamente las células B CD20-positivas. El uso de rituximab es bien conocido en la técnica, y se describe, por ejemplo, en Ramos-Casals M. et al. (A systematic review of the off-label use of biological therapies in systemic autoimmune diseases. *Medicine (Baltimore)*. 87:345-64, 2008).

5 En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activos es tirocalcitonina. Ejemplos ilimitados de péptidos de tirocalcitonina se establecen en el banco de Genes número de acceso NM_001741, NM_001033953, y NMJ_001033952. En otra modalidad, la calcitonina es cualquier otra calcitonina conocida en la técnica. En otra modalidad, las composiciones que contienen calcitonina se usan para tratar la osteoporosis. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

10 En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activos es una eritropoietina. Las secuencias de ejemplos ilimitados de péptidos de eritropoietina se establecen en el Banco de Genes número de acceso NM_000799 y AM933611. Otros ejemplos ilimitados de eritropoietina son alfa epoetina que están disponibles comercialmente como Eprex™, Epogen™, y Procrit™; Recormon™ (epoetina beta); Aranesp™ (darbepoetina alfa); y Mircera™ (polietilén metoxi glicol-epoetin beta). En otra modalidad, la eritropoietina es cualquier otra eritropoietina conocida en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

15 En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activos es un interferón-alfa. Las secuencias de ejemplos ilimitados de proteínas de interferón-alfa se establecen en los números de acceso del Banco de Genes NM_024013, NM_000605, NM_002170, NM_002173, NM_021057, NM_002175, NM_021268, NM_002172, NM_006900, NM_002171, NM_021002, NM_002169, NMJ_021068. En otra modalidad, el interferón-alfa es cualquier otro interferón-alfa conocido en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

20 En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activos es un interferón- beta. Las secuencias de ejemplos ilimitados de proteínas de interferón-beta se establecen en los números de acceso del Banco de Genes NM_002176, DJ418445, y AL390882. En otra modalidad, el interferón-beta es cualquier otro interferón-beta conocido en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

25 En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activos es un interferón- gama. Las secuencias de ejemplos ilimitados de proteínas de interferón-gama se establecen en los números de acceso del Banco de Genes números NM_000619, BC070256, V00543, y X13274. En otra modalidad, el interferón-gama es cualquier otro interferón-gama conocido en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

30 En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activos es una ureasa. Las secuencias de ejemplos ilimitados de proteínas de ureasa se establecen en los números de acceso del Banco de Genes AF468788 y M65260. En otra modalidad, la ureasa es cualquier otra ureasa conocida en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

35 En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activos es una catalasa. Las secuencias de ejemplos ilimitados de proteínas de catalasa se establecen en los números de acceso del Banco de Genes NM_001752 y NM_012520. En otra modalidad, la catalasa es cualquier otra catalasa conocida en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

40 En otra modalidad, el polipéptido biológicamente activo es un peptidomimético, o cadena tipo proteína pequeña diseñada para imitar a un péptido.

45 En otra modalidad, "peptidomimético" se refiere a un péptido que contiene un aminoácido o aminoácido análogo que se presenta naturalmente. En otra modalidad, el aminoácido análogo es un residuo D o L que tienen la siguiente fórmula: NH-CHR-CO, en donde R un grupo alifático, un grupo alifático sustituido, un grupo bencilo, un grupo bencilo sustituido, un grupo aromático o un grupo aromático sustituido y en donde R no corresponde a la cadena lateral de un aminoácido que se presenta naturalmente. Este término también se refiere a la contraparte del aminoácido D de aminoácidos que ocurren naturalmente. Los aminoácidos análogos son bien conocidos en la técnica; un número grande de estos análogos se encuentran comercialmente disponibles. En otra modalidad, el uso de aminoácidos que ocurren no naturalmente en el péptido tiene la ventaja que el péptido es más resistente a la degradación por enzimas que no los reconocen.

50 Alternativamente, un grupo funcional puede agregarse a la cadena lateral, anulado desde la cadena lateral o intercambiado con otro grupo funcional. Ejemplos de sustituciones no conservadoras de este tipo incluyen la adición de una amina o hidróxilo, ácido carboxílico a la cadena lateral alifática de valina, leucina o isoleucina, intercambiando el ácido carboxílico en la cadena lateral de ácido aspártico o ácido glutámico con una amina o anulando el grupo amina en la cadena lateral de lisina u ornitina. En aún otra alternativa, la cadena lateral de aminoácidos de sustitución puede tener significativamente diferentes propiedades electrónicas y estéricas del grupo funcional de aminoácidos a sustituirse. Ejemplos de tales modificaciones incluyen triptofano para la glicina, lisina para el ácido aspártico y - (CH₂)₄COOH para la cadena lateral de serina.

55

- Un aminoácido análogo puede sustituirse para los residuos del aminoácido en los compuestos de esta invención ambos como sustituciones conservadoras y no conservadoras. Estas porciones orgánicas peptidomiméticas reemplazan ya sea los residuos del aminoácido de los aminoácidos esenciales y no esenciales o actúan como grupos espaciales dentro de los péptidos en lugar de los aminoácidos anulados (de aminoácidos no esenciales). Las porciones orgánicas peptidomiméticas tienen a menudo propiedades estéricas, electrónicas o configuracionales similares a los aminoácidos reemplazados y tales peptidomiméticos se usan para reemplazar los aminoácidos en las posiciones esenciales, y se consideran sustituciones conservadoras. Sin embargo, tales similitudes no se requieren necesariamente. La única restricción en el uso de peptidomiméticos es que los péptidos mantengan sus propiedades terapéuticas. Los peptidomiméticos pueden producirse mediante técnicas sintéticas orgánicas. Ejemplos de peptidomiméticos adecuados incluyen aminoácidos D de los aminoácidos L correspondientes; tetrazol; isómeros de enlaces de amida; un ácido LL 3 amino 2 propenidona 6 carboxílico. Además de los peptidomiméticos adecuados se incluyen el hidroxil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolino-3-carboxilato; 1,2,3,4 tetrahidro-isoquinolino-3-carboxilato; ácido carboxílico de isoquinolono de histidina (HIC); (2S, 3S) metil fenilalanina (2S, 3R) y metil fenilalanina (2R, 3S) y metil fenilalanine (2R, 3R) y metil fenilalanina.
- Los ejemplos anteriores de peptidomiméticos no significan que estén limitados. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

Componentes adicionales

- En otra modalidad, una composición de la presente invención comprende además, un antioxidante. En otra modalidad, el antioxidante es un antioxidante farmacéuticamente aceptable. En otra modalidad, el antioxidante se selecciona del grupo que consiste de vitamina E, dismutasa del superóxido (SOD), omega-3, y beta-caroteno. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.
- En otra modalidad, la composición comprende además, un mejorador de la proteína o el péptido biológicamente activos. En otra modalidad, la composición comprende además, un cofactor de la proteína o el péptido biológicamente activos. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.
- En otra modalidad, una composición de la presente invención comprende además, un surfactante de grado farmacéutico. Los surfactantes son bien conocidos en la técnica, y se describen, *inter alia*, en Handbook of Pharmaceutical Excipients (eds. Raymond C Rowe, Paul J Sheskey, y Sian C Owen, copyright Pharmaceutical Press, 2005). En otra modalidad, el surfactante es cualquier otro surfactante conocido en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.
- En otra modalidad, una composición de la presente invención comprende un emulsor o emulgente de grado farmacéutico (emoliente). Los emulsores y emulgentes son bien conocidos en la técnica, y se describen, *inter alia*, en el Handbook of Pharmaceutical Excipients (ibid). Ejemplos ilimitados de emulsores y emulgentes son eumulgin, Eumulgin BI PH, Eumulgin B2 PH, alcohol de cetostearil de aceite de ricino hidrogenado, y alcohol cetílico. En otra modalidad, el emulsor o emulgente es cualquier otro emulsor o emulgente conocido en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.
- En otra modalidad, una composición de la presente invención comprende además un estabilizador de grado farmacéutico. Los estabilizadores son bien conocidos en la técnica, y se describen, *inter alia*, en el the Handbook of Pharmaceutical Excipients (ibid). En otra modalidad, el estabilizador es cualquier otro estabilizador conocido en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.
- En otra modalidad, una composición de la presente invención comprende además, un aminoácido seleccionado del grupo que consiste de arginina, lisina, aspartato, glutamato, e histidina. En otra modalidad, las versiones análogas y modificadas de arginina, lisina, aspartato, glutamato e histidina son incluidas en los términos "arginina," "lisina," "aspartato," "glutamato" y "histidina", respectivamente. En otra modalidad, el aminoácido proporciona protección adicional de ribonucleasa u otras moléculas activas. En otra modalidad, el aminoácido promueve interacción de la proteína o el péptido biológicamente activos con una célula objetivo. En otra modalidad, el aminoácido está contenido en un componente de aceite de la composición. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.
- En otra modalidad, una composición de la presente invención comprende además, uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, en los que se mezcla la composición del vehículo de matriz. En otra modalidad, los excipientes incluyen uno o más polisacáridos adicionales. En otra modalidad, los excipientes incluyen uno o más ceras. En otra modalidad, los excipientes proporcionan un sabor deseado para la composición. En otra modalidad, los excipientes influyen en la consistencia del fármaco, y forma de la dosificación final tal como una cápsula de gel o una cápsula de gelatina dura.
- Ejemplos ilimitados de excipientes incluyen: agentes antiespumantes (dimeticona, simeticona); conservadores antimicrobianos (cloruro de benzalconio, cloruro de benzeltonio, butilparabeno, cloruro de cetilpiridinio, clorobutanol, clorocresol, metilfenol, etilparaben, metilparaben, sodio de metilparabeno, fenol, alcohol de feniletilo, acetato fenilmercurico, nitrato fenilmercurico, benzoato de potasio, sorbato de potasio, propilparabeno, propilparabeno de sodio, benzoato de sodio, deshidroacetato de sodio, propionato de sodio, ácido sórbico, timerosal, timol); agentes

quelantes (edetato de disodio, ácidos y sales de etilendiamintetraacético, ácido edético); agentes de revestimiento (carboximetil-celulosa de sodio, acetato de celulosa, ftalato de acetato de celulosa, etilcelulosa, gelatina, glaseado farmacéutico, hidroxipropil celulosa, hidroxipropil metilcelulosa, ftalato de hidroxipropil metilcelulosa, copolímero de ácido metacrílico, metilcelulosa, glicol de polietileno, ftalato de acetato de polivinilo, laca, sacarosa, dióxido de titanio, cera de carnauba, cera microcristalina, zein); agentes colorantes (caramelo, rojo, amarillo, negro o mezclas, óxido férrico); agentes formadores de complejos (ácidos y sales de etilendiamintetraacético (EDTA), ácido edético, etanolamida de ácido gentísico, sulfato de oxiquinolina); desecantes (cloruro de calcio, sulfato de calcio, dióxido de silicio); agentes emulsionantes y/o de solubilización (acacia, colesterol, dietanolamina (adjunto), monoestearato de glicerilo, alcoholes de lanolina, lecitina, mono- y di-gliceridos, monoetanolamina (adjunta), ácido oleínico (adjunto), alcohol de oleilo (estabilizador), poloxamero, estearato de polioxietileno 50, aceite de ricino polioxil 35, aceite de ricino hidrogenado polioxil 40, éter de oleilo polioxil 10, éter de cetostearilo polioxil 20, estearato polioxil 40, polisorbato 20, polisorbato 40, polisorbato 60, polisorbato 80, diacetato de propilenglicol, monoestearato de propilenglicol, sulfato láurico de sodio, estearato de sodio, monolaurato de sorbitan, monooleato de sorbitan, monopalmitato de sorbitan, monoestearato de sorbitan, ácido esteárico, trolamina, cera emulsionante); Sabores y perfumes (anetol, benzaldehído, vanilín etílico, mentol, salicilato de metilo, glutamato de monosodio, aceite de flor de naranja, menta, esencia de menta, alcohol de menta, esencia de rosa, agua de rosas más fuerte, timol, tintura de bálsamo de tolú, vainilla, tintura de vainilla, vanillina); Humectantes (glicerina, glicol de hexileno, propilenglicol, sorbitol); Polímeros (por ejemplo, acetato de celulosa, celulosas de alquilo, hidroxialquilcelulosas, polímeros acrílicos y copolímeros); agentes de suspensión y/o incrementadores de la viscosidad (acacia, agar, ácido algínico, monoestearato de aluminio, bentonita, bentonita purificada, bentonita de magma, carbomero 934p, calcio de carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, carboximetilcelulosa de sodio 12, carragenina, carboximetilcelulosa celulosa de sodio microcristalina, dextrina, gelatina, goma guar, hidroxietil celulosa, hidroxipropil celulosa, hidroxipropil metilcelulosa, silicato aluminio de magnesio, metilcelulosa, pectina, óxido de polietileno, alcohol de polivinilo, povidona, alginato de propilenglicol, dióxido de silicio, dióxido de silicio coloidal, alginato de sodio, tragacanto, goma de xantano); agentes endulzantes (aspartame, dextratos, glucosa, excipiente de glucosa, fructosa, manitol, sacarina, sacarina de calcio, sacarina de sodio, sorbitol, solución de sorbitol, sacarosa, azúcar comprimible, azúcar de confitería, jarabe); Esta lista no significa que sea exclusiva, pero en cambio es meramente representativa de las clases de excipientes y excipientes particulares que pueden usarse en las composiciones de dosificación orales de la presente invención. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

En otra modalidad, el peso del material en partículas de la composición de la presente invención no es más del 33 % en peso de la fase de aceite. En el caso de un vehículo de matriz que no contiene un compuesto activo, el material en partículas está compuesta de nanopartículas y biopolímeros. En el caso de una composición farmacéutica del vehículo de matriz, el material en partículas está compuesta de las nanopartículas, el biopolímero, y el compuesto activo. El peso de la fase de aceite es el peso del vehículo de aceite más aceites adicionales mezclados con estos y las sustancias disueltas allí, en su caso, para todos los componentes de aceite combinados. En otra modalidad, el peso del material en partículas no es más del 30 % en peso de la fase de aceite. En otra modalidad, el peso del material en partículas no es más del 25 % en peso de la fase de aceite. En otra modalidad, el peso del material en partículas no es más del 20 % en peso de la fase de aceite. En otra modalidad, el peso del material en partículas no es más del 15 % en peso de la fase de aceite. En otra modalidad, el peso del material en partículas no es más del 10 % en peso de la fase de aceite. En otra modalidad, el peso del material en partículas no es más del 8 % en peso de la fase de aceite. En otra modalidad, el peso del material en partículas no es más del 5 % en peso de la fase de aceite. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

En otra modalidad, el peso de material en partículas no es más del 75 % en peso total de la composición. En otra modalidad, el peso de material en partículas no es más del 50 % en peso total de la composición. En otra modalidad, el peso del material en partículas no es más del 30 % en peso total de la composición. En otra modalidad, el peso del material en partículas no es más del 25 % en peso total de la composición. En otra modalidad, el peso del material en partículas no es más del 20 % en peso total de la composición. En otra modalidad, el peso del material en partículas no es más del 15 % en peso total de la composición. En otra modalidad, el peso del material en partículas no es más del 10 % en peso total de la composición. En otra modalidad, el peso del material en partículas no es más del 8 % en peso total de la composición. En otra modalidad, el peso del material en partículas no es más del 6 % en peso total de la composición. En otra modalidad, el peso del material en partículas no es más del 5 % en peso total de la composición. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

Métodos de administración

En otra modalidad, la presente invención proporciona un método de administrar una proteína o un péptido biológicamente activos a un sujeto que necesita de los mismos, que comprende administrar oralmente al sujeto una composición farmacéutica de la presente invención, administrando así, una proteína o un péptido biológicamente activos a un sujeto.

En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activos es DNasa. En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activos es RNasa. En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activos es la tirocalcitonina. En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activos es el eritropoietina. En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activos se selecciona del grupo que consiste de calcitonina,

eritropoietina, hormona pituitaria del crecimiento, proteína del factor de necrosis de tumor dominante-negativo (TNF), proteína del factor de necrosis de tumor (TNF), interferón-alfa, interferón-beta, e interferón-gama. En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activos es cualquier otra proteína o péptido biológicamente activos conocido en la técnica. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

- 5 El tamaño, propiedades, y clasificación de la proteína o del péptido biológicamente activos pueden ser cualquiera de aquéllos descrito en la presente. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

Métodos de Formulación

En otra modalidad, la presente invención proporciona un método para elaborar una composición de vehículo de matriz, el método comprende las etapas de: (a) secar la mezcla de nanopartículas que tiene una superficie hidrófoba, en donde el tamaño de las nanopartículas se encuentra entre 1-100 nanómetros, con un biopolímero que comprende un polisacárido, para que las nanopartículas formen una asociación no covalente íntima con el biopolímero; y (b) mezclando las nanopartículas y el biopolímero en un aceite. Preferentemente, las nanopartículas y el biopolímero forman un complejo. En otra modalidad, el complejo se incrusta, dispersa, sumerge o suspende en el aceite. En otra modalidad, la dimensión de las partículas de la composición de vehículo de matriz se encuentra entre 100-500,000 nanómetros. En otra modalidad, la dimensión de las partículas de la composición de vehículo de matriz se encuentra entre 100-50,000 nanómetros. En otra modalidad, la dimensión de las partículas se encuentra entre 100-5000 nm. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención. Los métodos de formulación de la presente invención abarcan las modalidades en las que los componentes adicionales están presentes en la etapa (a). En otra modalidad, más de un tipo de biopolímero está presente junto con las nanopartículas. En otra modalidad, un polisacárido ramificado y una fibra dietética están presentes junto con las nanopartículas. En otra modalidad, un polisacárido ramificado y un polisacárido lineal están presentes junto con las nanopartículas. En otra modalidad, un biopolímero ramificado, un polisacárido lineal, y una fibra insoluble están presentes junto con las nanopartículas.

En otra modalidad, el método para elaborar la composición del vehículo de matriz, comprende la etapa de: mezclar nanopartículas de sílice que tienen una superficie hidrófoba y un biopolímero que comprende un polisacárido y una proteína estructural de peso molecular alto en un aceite, para que las nanopartículas formen una asociación no covalente íntima con el biopolímero.

En otra modalidad, la presente invención proporciona un método para elaborar una composición farmacéutica, el método comprende las etapas de: (a) secar la mezcla de nanopartículas farmacológicamente inertes que tienen una superficie hidrófoba, en donde el tamaño de las nanopartículas se encuentra entre 1-100 nanómetros, con un biopolímero que comprende un polisacárido, para que las nanopartículas formen una asociación no covalente íntima con el biopolímero; (b) disolver una proteína o un péptido biológicamente activos en un aceite; y (c) mezclar las nanopartículas y biopolímero en el aceite, en el que las nanopartículas, biopolímero, y proteína o péptido se incrustan, dispersan, sumergen o suspenden en el aceite. Preferentemente, las nanopartículas, biopolímero, y proteína o péptido forman un complejo. En otra modalidad, el complejo se incrusta, dispersa, sumerge o suspende en el aceite. En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activos se adhiere a las superficies hidrófobas de las nanopartículas y las superficies hidrófilas del biopolímero vía las fuerzas no covalentes. En otra modalidad, la dimensión de las partículas de la composición del vehículo de matriz se encuentra entre 100-50,000 nanómetros. En otra modalidad, la dimensión de las partículas se encuentra entre 100-5,000 nm. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

En otra modalidad, la etapa (b) del método anterior comprende la etapa de disolver directamente una proteína liofilizada o péptido en el aceite o mezcla de aceite. En otra modalidad, una solución de la proteína o del péptido biológicamente activos se mezcla con el aceite o la mezcla de aceite y la fase acuosa pueden entonces removerse. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activos forman una suspensión cuando se mezclan con el aceite o mezcla de aceite. En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activo se disuelven en el aceite o mezcla de aceite. Como se da a conocer en la presente, las proteínas y péptidos cargados que se esperarían tuvieran solubilidad reducida en aceite, como Copaxone, pueden ser incorporados en las composiciones de matriz que contienen aceite de la presente invención. Sin el deseo de enlazar cualquier teoría o mecanismo de acción, ésta puede ser una consecuencia de adsorción de los péptidos hacia la fase sólida de composiciones de la presente invención. La adsorción probablemente será mediada por la interacción de las regiones hidrófobas del péptido con la superficie de nanopartículas, mientras las regiones hidrófilas del péptido interactúan con las regiones hidrófilas del polisacárido, cada una vía las fuerzas no covalentes. En otra modalidad, la proteína o el péptido se mezclan con el aceite en presencia de un alcohol. En otra modalidad, el glicol de polietileno está presente. En otra modalidad, el glicol de polietileno tiene un peso molecular en el rango de 200-8000 daltones. En otra modalidad, la proteína o el péptido se mezcla con el aceite en presencia de perfluorocarbono. En otra modalidad, el perfluorocarbono es un líquido a temperatura ambiente. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

En otra modalidad, la proteína o el péptido se mezcla con el aceite bajo condiciones anhidras. En otra modalidad, la humedad está presente. En otra modalidad, una solución acuosa de la proteína o el péptido se mezcla con el aceite.

Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.

- 5 Las propiedades y clasificación de las nanopartículas, biopolímero, y proteína o péptido biológicamente activos de los métodos anteriores pueden ser cualquiera de aquéllos descritos en la presente. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención. "Aceite" como se hace referencia en los métodos de la presente invención, puede referirse ya sea a un solo aceite, una mezcla de aceites, o una fase de aceite. Como se describe en la presente, una mezcla de aceites o fase de aceite comprenderá normalmente un vehículo de aceite. En otra modalidad, la mezcla de aceites o fase de aceite comprende además, un aceite adicional o aceites o un componente adicional o componentes. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.
- 10 En otra modalidad, etapa (a) de un método de formulación de la presente invención comprende además, la etapa de confirmar que las nanopartículas y el biopolímero se homogenizan apropiadamente. En otra modalidad, cualquiera de las siguientes tres pruebas se utilizan: (a) la mezcla parece homogénea; (b) el contenido de la mezcla es menor que la suma de contenidos de los 2 componentes; y (c) la mezcla no se sumerge cuando se coloca en la superficie de un cuerpo de agua inmóvil. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.
- 15 La etapa de mezclado se realiza, en otra modalidad, usando un mezclador de corte elevado. En otra modalidad, la etapa de mezclado se realiza usando un mezclador de gran velocidad. En otra modalidad, la etapa de mezclado se realiza usando cualquiera de otros medios adecuados para generar una fase sólida homogénea de nanopartículas y un biopolímero. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.
- 20 En otra modalidad, un método de la formulación de la presente invención comprende además, la etapa de agregar a un aceite adicional después de la adición del primer aceite agregado o mezcla de aceites. El término "aceite adicional" abarca un aceite o mezcla de aceites, como se describe en otra parte en la presente. En otra modalidad, el componente de aceite adicional comprende un antioxidante. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.
- 25 En otra modalidad, la proteína o el péptido biológicamente activos se incrustan en el aceite adicional o mezcla de aceites, en lugar del primer aceite agregado o mezcla de aceites.
- En otra modalidad, el aceite adicional, aceite o mezcla de aceites tiene una viscosidad superior a la del primer aceite agregado o mezcla de aceites. En otra modalidad, sin el deseo de ligar cualquier teoría o mecanismo de acción, el uso de un aceite de viscosidad superior o mezcla de aceites en esta fase permite la formación de estructuras ordenadas en la composición.
- 30 En otra modalidad, un método de la presente invención comprende la etapa de agregar un tercer aceite o mezcla de aceites después de la adición del aceite adicional descrito arriba o mezcla de aceites. En otra modalidad, el tercer componente de aceite comprende un antioxidante. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.
- 35 En otra modalidad, un método de formulación de la presente invención comprende además, la etapa de agregar una cera farmacéuticamente aceptable después de la adición del primer aceite agregado o mezcla de aceites. En otra modalidad, la cera es una sustancia con propiedades similares a la cera de abejas. En otra modalidad, la cera es una sustancia que tiene las siguientes propiedades: (a) plástica (maleable) a la temperatura ambiente normal; (b) tiene un punto de fusión arriba de aproximadamente 45 °C (113 °F); (c) una viscosidad reducida cuando se funde, relativa a los plásticos típicos; (d) insoluble en el agua; y (e) hidrófoba. En ciertas modalidades preferidas, la cera es cera de abejas. En otra modalidad, la cera estabiliza la composición del vehículo de matriz. En otra modalidad, la inclusión de cera facilita la formación de una tableta que contiene la composición del vehículo de matriz. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.
- 40 En otra modalidad, la cera se calienta como parte de un método de la presente invención. En otra modalidad, la cera se pulveriza. En otra modalidad, la cera se calienta y pulveriza. En otra modalidad, el calentamiento y/o la pulverización se realizan previo al mezclado con los otros componentes. En otra modalidad, la cera de inicio permanece caliente mientras se mezcla con los otros componentes. En otra modalidad, el calentamiento y/o la pulverización se realiza durante el mezclado con los otros componentes. En otra modalidad, el calentamiento y/o la pulverización se realiza tanto antes como durante el mezclado con los otros componentes. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.
- 45 En otra modalidad, un vehículo de aceite altamente penetrante se incrustan en el aceite exterior o mezcla de aceites. En otra modalidad, el vehículo de aceite altamente penetrante promueve el transporte eficaz de las sustancias en la sangre. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.
- 50 En otra modalidad, un método de formulación de la presente invención comprende además, la etapa de incluir un aminoácido en un aceite o mezcla de aceites. En otra modalidad, el aminoácido se incrusta en el aceite agregado final o mezcla de aceites. En otra modalidad, el aminoácido es un aminoácido cargado. En otra modalidad, el aminoácido se selecciona del grupo que consiste de arginina, lisina, y derivados de los mismos. En una modalidad, se incluye en un antioxidante, mejorador, o cofactor. Cada posibilidad representa una modalidad individual de la presente invención.
- 55

Como se da a conocer en la presente, se han desarrollado métodos para formular una variedad de proteínas biológicamente activas y péptidos en una forma oralmente administrable. En ciertas modalidades preferidas, los componentes se mezclan en un orden particular para producir una suspensión de composiciones de vehículo de matriz que protegen el ingrediente activo de los procesos digestivos en el estómago. Sin el deseo de ligar cualquier teoría de mecanismo de acción, el biopolímero, particularmente cuando se ramifica, absorbe esfuerzos hidráulicos y mecánicos experimentados durante la digestión. El revestimiento de aceite constituye una barrera física que proporciona protección adicional contra las enzimas digestivas.

Sin el deseo de apegarse a ninguna teoría o mecanismo de acción, la secreción de ácidos de la bilis causa dispersión de la suspensión de aceite en partículas más pequeñas, que pueden absorberse en el intestino delgado. El tamaño de las nanopartículas influye en la magnitud de dispersión de la fase sólida dentro del aceite, debido a que es la única estructura de los vehículos de la matriz de la presente invención. Aun cuando la dimensión de las partículas se reduce después de atravesar el estómago y entrar al intestino delgado, las partículas permanecen dentro de un rango del tamaño de 30-1000 nm, demasiado grande para ser el sustrato para las lipasas y peptidasas, conservando el efecto protector de la composición. En ciertas modalidades preferidas, las partículas permanecen dentro de un rango del tamaño de 30-700 nm después de atravesar el estómago e ingresar al intestino delgado (Figura 2). Ventajosamente, las partículas revestidas con lípidos de este tamaño se absorben de manera similar a los quilomicrones mediante vasos lácteos, que son vasos linfáticos que se originan en las vellosidades del intestino delgado. Las partículas absorbidas de esta manera pueden alcanzar el torrente sanguíneo sin experimentar el metabolismo de primer paso, preservando ampliamente la actividad biológica del agente activo.

Las siguientes fórmulas e información proporcionan una guía para aquellos experimentados en la técnica para la práctica de la presente invención:

Las cantidades relativas de nanopartículas y biopolímeros son calculadas de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$V_{SF}^I * Eb_{SF}^I * (1 \pm 0.3) = V_{SF}^{II} * Eb_{SF}^{II}$$

En la ecuación anterior:

V_{SF}^I y V_{SF}^{II} son los contenidos de las nanopartículas y biopolímeros, respectivamente.

Eb_{SF}^I es la energía de enlace molecular de las nanopartículas (normalmente más del 3 eV).

Eb_{SF}^{II} es la energía del enlace de hidrógeno o molecular más bajo en el biopolímero.

Los vehículos de matriz para cualquier proteína o péptido de interés pueden diseñarse usando los siguientes principios:

1. La concentración requerida del agente activo en la última formulación se determina en base a la experiencia previa, farmacocinéticos y farmacodinámicos.

2. Basado en lo anterior, se estima la concentración molar de la sustancia activa y área de superficie total de las nanopartículas y biopolímeros.

3. El área de absorción del producto activo se estima, en base a la estructura tridimensional y peso molecular del producto activo. En el caso de una molécula globular, el área de absorción es 30-40 % de la superficie esférica de la molécula. En el caso de una molécula alargada, el área de absorción se estima para ser la misma que el área de una sola tira con la longitud de la molécula y el ancho de la ramificación molecular de la molécula más ancha. Se estiman otras moléculas como una combinación de ambas geometrías.

4. El espesor del revestimiento de aceite protector se estima en base a la estructura tridimensional de la molécula activa. Debe ser por lo menos 10 veces el diámetro de una molécula globular o el tamaño de la ramificación máximo de una molécula alargada. El espesor del revestimiento de aceite de vehículos de matriz de la presente invención se determina mediante las siguientes propiedades del aceite o mezcla de aceites: (a) la viscosidad y la temperatura de fusión; (b) acidez; y (c) concentración de grupos polares.

5. Se calcula el área estimada de las nanopartículas necesaria para la formación del vehículo de matriz de la presente invención. El área debe ser por lo menos 10 veces más grande que el área de absorción estimada del producto activo como se determina en la etapa 3.

6. Se calcula el área estimada del biopolímero necesario para la formación del vehículo de la matriz de la presente invención. El área debe ser por lo menos 10 veces más grande que las nanopartículas como se determina en la etapa 5.

7. Se elige el primer aceite en el que la molécula activa se agrega, preferentemente como un aceite que tiene una viscosidad relativamente reducida y concentración reducida de grupos polares. Ejemplos adecuados incluyen al aceite de primula, aceite de ajonjolí, y aceite de silicio.

8. La inserción de ambas fases sólidas en este aceite conduce a la adsorción de las nanopartículas hacia la superficie del biopolímero. Esto conserva la integridad del revestimiento de aceite protector.

9. Se agrega un segundo componente de aceite. El segundo aceite se elige en base a su viscosidad que es correspondiente con la proporción deseada de liberación de la molécula activa del vehículo de la matriz.

- 5 10. Un tercer componente de aceite se agrega para mejorar la interacción entre la molécula activa y su objetivo y además proteger la molécula activa de la degradación. Por ejemplo, el aceite de espinillo amarillo contiene una cantidad significativa de antioxidantes, vitamina E y beta-caroteno que protegen la molécula activa de los radicales activos y oxidación.

Se demuestran los principios de la presente invención por medio de los siguientes ejemplos no restrictivos.

10 **Ejemplos**

EJEMPLO 1: Liberación a mediano plazo de la composición del vehículo de matriz DNasa:

La siguiente la formulación (Formulación de DNasa I) se diseñó para una liberación a mediano plazo de DNasa:

- 15 Se combinaron 30 ml de aceite de jojoba y 120 ml de aceite de espinillo amarillo (Oblepicha) en un vaso de precipitados y se agitó durante 2 minutos (min) a 100 rpm con un agitador magnético. 7 gramos (g) de DNasa se agitaron en la mezcla de aceite a 20 rpm durante 2 min, después a 50 rpm durante 5 min. 18 g de polisacáridos de arroz (Ambrotose™, Mannatech Inc, Coppell, TX 75019, US.) se pesaron usando una balanza analítica, combinado con 3 g de sílice hidrófoba humeada R972 (Degussa Inc), y se mezclaron mediante un vórtice a 900 rpm durante 5 min. La asociación entre el Ambrotose™ y la sílice se determinó por la capacidad de la mezcla para flotar después de colocarse en la superficie del vaso de precipitado lleno con agua. La mezcla de Ambrotose™/sílice se agregó a la solución de aceite-DNasa y se agitó durante 15 minutos a 50 rpm. Se agregaron 75ml de aceite de oliva, y la mezcla se agitó a 50 rpm durante 3 min. El contenido llegó a ser hasta 300 ml con el aceite de ajonjolí, y la mezcla se agitó a 50 rpm durante 20 min. El producto se almacenó para refrigerarse (3-8 °C).

En algunos experimentos, el producto se empaqueta en cápsulas de revestimiento entérico de gelatina, como aquellas comercialmente disponibles de Shionogi y Company, Ltd, Japón.

- 25 En los experimentos adicionales, la vitamina E se incrusta en cualquiera de uno de los aceites usados para revestir la matriz.

EJEMPLO 2: Liberación lenta de la composición del vehículo de matriz DNasa:

La siguiente formulación (Formulación de DNasa II) se elaboró para proporcionar la liberación lenta:

- 30 Se combinaron 60 ml de aceite de jojoba y 120 ml de aceite de espinillo amarillo (Oblepicha) en un vaso de precipitado y se agitó durante 2 minutos (min) a 100 rpm con un agitador magnético. Se agitaron 6 g de DNasa en la mezcla de aceite a 20 rpm durante 2 min, después 50 rpm durante 5 min. 3 g de Benefiber™ (Novartis Nutrition GmbH, Alemania) y 1.2 g de sílice fumante hidrófoba R972 (Degussa Inc), se mezclaron mediante un vórtice a 900 rpm durante 5 min. La asociación entre el Benefiber™ y la sílice se determinó por la capacidad de la mezcla de flotar después de colocarse en la superficie del vaso de precipitado lleno de agua. La mezcla de Benefiber™/sílice se agregó después a la solución de aceite-DNasa y se agitó durante 25 minutos a 50 rpm. Se agregaron 75 ml de aceite de oliva, y la mezcla se agitó a 50 rpm durante 3 min. El contenido llegó a ser de hasta 300 ml con el aceite de ajonjolí, y la mezcla se se agitó a 50 rpm durante 20 min. El producto se almacenó para refrigerarse (3-8 °C).

En algunos experimentos, el producto se empaqueta en cápsulas de revestimiento entéricas de gelatina.

EJEMPLO 3: Perfiles de liberación *in vivo* de composiciones del vehículo de matriz DNasa en ratones:

40 **Métodos Experimentales:**

- La actividad de la DNasa en el suero humano se analizó usando el ensayo de difusión de la enzima radial simple sensible (SRED). En el método de difusión de la enzima radial simple (SRED) para el ensayo de la deoxiribonucleasa I, un contenido precisamente medido de la solución de la enzima se distribuye en un pozo circular con una capa de gel de agarosa en el que el ADN y el bromuro de etidio son uniformemente distribuidos. Una zona oscura circular se forma como la enzima que se difunde radialmente desde el pozo en el gel y digiere el ADN del sustrato. El diámetro del círculo oscuro del ADN hidrolizado aumenta en tamaño con el tiempo y se encuentra en correlación lineal con la cantidad de enzima aplicada al pozo. El método del ensayo puede determinar el picograma para las cantidades del fentogramo de DNasa I en 1 µL de las muestras de suero dentro de 30 min. Una unidad de enzima ensayada corresponde a 0.6 ng de DNasa I de humano purificada. Las condiciones experimentales usadas seguido de las únicas descritas en Nadano D, et al., *Clinical Chemistry* 39: 448-452, 1993. Los resultados experimentales mostrados en la Figura 3B se generaron usando el método SRED. La actividad de la DNasa en el suero de ratones cuyos resultados se muestran en la Figura 3A se midieron usando el Ensayo Med Bio-Samson.

Los datos en la Tabla 1 se generaron usando el método de Burton para medir los niveles de ADN como sigue: la solución de ADN Normal (Sigma Cat. Ningún D-1626) se diluyó en 5, 10, 20 y 50 µg/ml en 10 mmol/Tris-amortiguador HCl, pH 8.0, con 10 mmol/l MgCl₂, para generar una curva estándar usando el método de difenilamina (Burton K, Determination of DNA concentration with diphenylamine (DPA). En Methods in Enzymology ed. Grossman, L& Moldave, K. Vol. XIIB, pp. 163-166. New York; Academic Press. 1968). La cantidad de ADN en el suero humano se determinó como sigue: 200 µl de una muestra del plasma se mezcló con 200 µl de 1N HClO₄ y 600 µl de DPA. Las muestras se incubaron a 37 °C durante 20 horas y después se centrifugaron durante 10 min (15,000 g, 25 °C). 300 µl del sobrenadante se transfirieron a una placa de 96 pozos y se midió la absorción de la muestra a 600 nm.

10 **RESULTADOS**

Comparación entre la actividad de la DNasa *in vivo* de una composición de DNasa de liberación-rápida de la presente invención (también llamada Oshadi DNasa oral), inyectado DNasa y administrando oralmente DNasa. Aun cuando el 50 % de la actividad de la DNasa inicial de la DNasa Oshadi oral se retuvo después de 12 horas, no se detectó ninguna actividad después de sólo 6 horas durante para aquellos inyectados y oralmente administrados con DNasa. (Figura 3A).

En otro experimento, 75 mg de la composición oral del vehículo de matriz DNasa a mediano plazo descrito anteriormente, se administraron a sujetos humanos, y se midió la actividad del suero de la DNasa. Se observó la actividad potente en todos los sujetos a 4, 8, y 12 horas después de la administración (Figura 3B).

En otro experimento, 20 mg/día de la composición del vehículo de matriz DNasa a mediano plazo descrita arriba, se administró oralmente a 4 sujetos humanos durante una semana, y la concentración del ADN libre en el suero se midió en cada sujeto independientemente. Todos los sujetos exhibieron un declive en la concentración de ADN libre en el suero de la sangre (Tabla 1).

Tabla 1: Comparación de la concentración de ADN libre en el suero humano antes y después del tratamiento con DNasa.

Sujeto	ADN libre antes del tratamiento µgr/ml	ADN libre después del tratamiento µgr/ml
#1	170.07	136.33
#2	292.31	180.91
#3	189.42	130.71
#4	214.03	197.43

Los Ejemplos anteriores muestran que la proporción de liberación de las composiciones de la matriz de la presente invención puede modularse fácilmente según las necesidades del sujeto y el agente terapéutico.

EJEMPLO 4: Preparación de la composición del vehículo de matriz RNasa (Formulación RNasa I)

Se pesaron 12 g de polisacáridos de arroz Ambrotose™ con una balanza analítica, combinada con 4 g de sílice hidrófoba R972, y se mezclaron mediante un vórtice a 900 rpm durante 5 min. La asociación entre el Ambrotose™ y la sílice se determinó por la capacidad de la mezcla de flotar después de colocarse en la superficie de vaso de precipitado lleno de agua. 120 ml de aceite de linaza y 60 ml de aceite de espio amarillo (Oblepicha) se combinaron en un vaso de precipitado y se agitaron durante 2 minutos a 100 rpm con un agitador magnético. Se pesaron 8 g de RNasa con una balanza analítica y se agitaron en una mezcla de aceite a 20 rpm durante 1 min, después a 50 rpm durante 3 min. La mezcla de Ambrotose™/sílice se agregó a la solución de aceite-RNasa y se agitó durante 20 minutos a 50 rpm, se agregaron 60 ml de aceite de oliva, y la mezcla se agitó a 50 rpm durante 4 min. 10 tabletas de aminoácidos deshidratados "Plus" (Ácido L-glutámico, Glicina, L-lisina, L-Arginina; de Mannatech Inc, Coppell, TX 75019, US.) se pulverizaron, cernieron para remover los residuos, después se agitaron en la mezcla a 20 rpm durante 30 min. El contenido llegó a ser hasta de 400 ml con aceite de ajonjolí, y la mezcla se agitó a 50 rpm durante 5 min. El producto se almacenó para su refrigeración (3-8 OC).

En algunos experimentos, el producto se empaqueta en cápsulas de revestimiento entéricas de gelatina.

EJEMPLO 5: Perfil de liberación in vivo de la composición del vehículo de matriz RNasa.

La actividad de la RNasa se midió usando el Ensayo Med Bio Samson como sigue: Se incubaron 30 µl de suero durante 10 min con 1 mg de ARN de levadura. Se observó y se midió la reducción en la concentración del ARN fotométricamente.

RESULTADOS

Una comparación entre la actividad de la RNasa *in vivo* de una composición del vehículo de matriz RNasa administrada (formulación III-ejemplo 4) (también llamada RNasa Oshadi oral), RNasa inyectada y RNasa administrada oralmente (control). La actividad de RNasa se midió 3, 6 y 17 horas después de la administración de RNasa. Aún cuando la formulación continuó impartiendo actividad RNasa durante el tiempo entero probado (17 horas), la actividad de la RNasa inyectada alcanzó niveles de RNasa bajos después de sólo 6 horas. Además, la actividad de RNasa máxima en ese momento fue 3 veces superior en la composición del vehículo de matriz de RNasa que la RNasa inyectada. La RNasa oralmente administrada no confirió ninguna actividad perceptible (Figura 4).

EJEMPLO 6: Preparación de composiciones del vehículo de matriz de insulina.

10 La composición del vehículo de matriz Actrapid™ (Formulación V) se produjo, usando los siguientes ingredientes:

aceite de oliva, 11 ml –

Benefiber™, 3 g,

insulina Actrapid™, 9 ml

aceite Oblepicha 9 ml

15 sílice Hidrófoba R972, 1.2 g

aceite de ajonjolí hasta 75 ml.

El Benefiber™ (Novartis Nutrition GmbH, Alemania) y la sílice se colocaron en un vaso de precipitado y se mezclaron mediante un vórtice a 900 rpm durante 5 min. La asociación entre el Benefiber™ y la sílice se determinó por la capacidad de la mezcla para flotar después de colocarse en la superficie de un vaso de precipitado lleno de agua. La insulina Actrapid™ se agregó y se agitó durante 15 minutos a 50 rpm. El aceite de ajonjolí y el aceite de espino amarillo (oblepicha) se combinaron en un vaso de precipitado y se sometieron a un vórtice de configuración reducida durante 15 minutos. El aceite de oliva se agregó a los aceites y se agitaron con una varilla de vidrio. La mezcla de la fase sólida y la mezcla de aceite se combinaron y mezclaron a 100 rpm con un agitador magnético. El contenido llegó a ser hasta de 75 ml con aceite de ajonjolí y se agitó con una varilla de vidrio. En los experimentos con animales, la composición se administró mediante sonda. El producto contuvo 12 IU/ml de insulina y se empaquetó en cápsulas de revestimiento entéricas de gelatina.

Una composición del vehículo de matriz de insulina adicional (Formulación VI) se preparó usando insulina de NovoRapid™, utilizando el protocolo anterior. En este caso se usó la insulina de NovoRapid™ en lugar de la insulina Actrapid™.

30 Se diseñó una formulación de Actrapid™ adicional (Formulación II) usando los siguientes ingredientes durante la liberación de insulina a corto plazo:

Insulina Actrapid™, 1 ml

aceite de oliva 1.5 ml,

Ambrotose™, 0.7 g.

35 Sílice R972, 0.1 g

Aceite de Oblepicha 1.5 ml

aceite de primula tardía, hasta 5 ml

Se combinaron 0.7 g de polisacáridos de arroz (Ambrotose™, Mannatech Inc, Coppel, TX 75019, US.) con 0.1 g de sílice hidrófoba humeada R972 (Degussa Inc), y se mezclaron mediante un vórtice a 900 rpm durante 5 min. La Asociación entre el Ambrotose™ y la sílice se determinó por la capacidad de la mezcla de flotar después de colocarse en la superficie de un vaso de precipitado lleno de agua. 1 ml de insulina Actrapid™ se agregó y se agitó durante 15 minutos a 50 rpm. Se agregaron 1.5 ml. de aceite de oliva y se agitaron durante 2 minutos a 100 rpm con un agitador magnético. Se agregó el aceite de espino amarillo (oblepicha) y se agitó durante 2 minutos a 100 rpm con un agitador magnético. El contenido llegó a ser hasta 5 ml con el aceite de primula tardío y se agitó a 50 rpm durante 20 min. El producto se almacenó para su refrigeración (3-8 °C). En una preparación individual, la cantidad de los ingredientes se dobló, produciendo resultados idénticos.

La concentración final de insulina fue de 20 IU/ml. Para la administración humana, el producto se empaquetó en forma de un revestimiento entérico de gelatina.

50 Una composición del vehículo de matriz de insulina adicional (Formulación IV) se preparó usando la insulina de BIOCON, utilizando el siguiente protocolo y los ingredientes establecidos en la Tabla 2, usando métodos similares a

aquellos establecidos en los ejemplos anteriores. Un cuadro de microscopía ligera de la composición se muestra en la Figura 5 A.

1. Mezclar oblepicha + aceite de oliva + 1/3 de aceite de ajonjolí.
2. Agregar polvo de insulina Insugen™ (BIOCON) en la mezcla de los aceites y la mezcla.
- 5 3. Mezclar la fibra + quitina + amilopectina + sílice.
4. Agregar la mezcla de la etapa 3 a la mezcla de aceites e insulina de la etapa 2 y mezclar.
5. Agregar el resto del aceite de ajonjolí y mezclar.

Tabla 2. Ingredientes para la preparación de la composición del vehículo de matriz BIOCON.

Formulación IV			
Polvo de insulina (BIOCON), mg	36.4	109.2	182
Aceite de olivo, ml	33	33	33
Aceite de espino amarillo (Oblepicha), ml	42	42	42
Aceite de ajonjolí, ml	Hasta 100	Hasta 100	Hasta 100
Amilopectina, g	11.25	11.25	11.25
Quitina, g	1.9	1.9	1.9
Sílice R972, g	2.5	2.5	2.5
Concentración final de insulina, IU/ml	10	30	50

10 EJEMPLO 7: Eficacia de la composición de insulina oral de la presente invención en ratones diabéticos:

MATERIALES Y MÉTODOS EXPERIMENTALES

La diabetes se indujo mediante estreptozotocina en ratones BALB/c macho adultos (7-10 semanas de edad), con un peso de 23-28 g. Los ratones de control se hicieron coincidir para la edad y peso.

15 Tratamiento de la diabetes mediante estreptozotocina inducida (STZ): La diabetes se indujo mediante 2 inyecciones de 500 y 700 µl de 1.5 mg/ml de estreptozotocina, separadas durante 48 horas, en ratones machos adultos BALB/c (7-10 semanas de edad), de un promedio peso de 23-28 g. Los ratones no tratados de aproximadamente la misma edad y peso se usaron como control. Los niveles de glucosa sanguínea (BGL) se evaluaron 48 horas después de la inyección STZ mediante un glucómetro FreeStyle™ estándar (Abad Diabetes Cere Inc, Alameda, CA) de las muestras sanguíneas de las venas de la cola.

20 Las composiciones de insulina se administraron oralmente a los ratones mediante sonda (contenido de 1 ml), sin la previa suspensión de comida o agua. Durante el experimento, a los ratones se les proporcionó como de costumbre comida y agua.

Composiciones: En el primer experimento se utilizaron las Formulaciones V y VI descritas en el Ejemplo 6. El segundo experimento utilizó la Formulación IV descrita en el Ejemplo 6.

25 **Concentración de insulina en la sangre.** Las concentraciones de insulina sanguínea se detectaron mediante ELISA (kit Human Insulin ELISA, Linco).

Grupos de tratamiento:

1. Grupo control 1: ningún tratamiento con STZ, ninguna administración de insulina.
2. Grupo control 2: ningún tratamiento con STZ, la composición de insulina oral de la presente invención se administró vía sonda.
3. Grupo control 3: STZ no tratado, ninguna administración con insulina.
4. Ratones diabéticos (tratados con STZ); insulina administrada mediante inyección de SC.
5. Ratones diabéticos (tratados con STZ); la insulina fue administrada vía sonda.
6. Ratones diabéticos (tratados con STZ); se administró la insulina usando la composición de insulina oral de la presente invención vía sonda.

7. Ratones diabéticos (tratados con STZ); el vehículo de la matriz (sin insulina) se administró mediante sonda como control.

RESULTADOS

5 En un primer experimento, la diabetes se indujo mediante estreptozotocina (STZ) en ratones BALB/c machos adultos, seguido por la administración de Actrapid™—(12 IU) y NovoRapid™ - (9.5 IU) en base a las composiciones de insulina (Formulación V y Formulación VI) de la presente invención. Ambas composiciones reducen significativamente los niveles de glucosa sanguínea (Figura 5B y 6, respectivamente). En contraste, los ratones tratados con STZ que recibieron las composiciones del vehículo de matriz vacías (carente de insulina), insulina Actrapid™ o insulina NovoRapid™ oralmente administrada, o Insulina 25 IU (BIOCON) suministrada en PBS (sonda) 10 (Figura 7) no exhibieron una reducción significativa en los niveles de glucosa sanguínea. Los ratones normales (no tratados con STZ) que recibieron las composiciones de insulina no exhibieron ninguna reducción significativa en el nivel de glucosa sanguínea. En contraste, los ratones normales y diabéticos inyectados con insulina, exhibieron síntomas de hipoglucemia que es en algunos casos fatal.

15 En un segundo experimento, una composición de insulina (Formulación IV) de la presente invención se administró oralmente a ratones tratados con STZ mediante sonda (contenido de 1 ml) en dosificaciones que van desde 2-10 IU. Una reducción dosis-respuesta en los niveles de glucosa sanguínea se observó durante 9-12 horas; sin embargo, los niveles raramente se dejaron caer debajo de 100 mg/dL (Figura 8 A-D). La presencia de insulina humana en la sangre después de la administración de la composición del vehículo de matriz de insulina se confirmó por ELISA. En contraste, la inyección hipodérmica de 10 IU de insulina causó hipoglucemia cercana a la mortal (Figura 8E). Los 20 ratones normales que reciben 2, 5, o 10 IU composiciones del vehículo de matriz de insulina exhibieron sólo una reducción ligera en el nivel de glucosa sanguínea (Figura 8F), mientras que aquellos que recibieron insulina inyectada experimentaron una caída precipitada y ocasionalmente fatal en los niveles de glucosa. Como se mencionó antes, los ratones tratados con STZ que recibieron las composiciones del vehículo de matriz vacías (carente de insulina), insulina oralmente administrada, o no fueron tratados o no exhibieron una reducción en el nivel de glucosa 25 significativa.

En otro experimento, la comparación directa de 10, 5, o 2 IU de composiciones del vehículo de matriz de insulina (Formulación IV) vs. la inyección de la misma cantidad de solución de insulina (la formulación estándar) en ratones de 14-25 g reveló que los ratones tratados con la composición de insulina oral de la presente invención mantuvieron niveles de glucosa sanguínea normal durante los períodos más largos de tiempo comparados a la insulina inyectada a los ratones. Estas observaciones reflejan la biodisponibilidad incrementada de insulina cuando se administró 30 dentro de la composición de vehículo de matriz de la presente invención. Además, los ratones administrados con las composiciones del vehículo de matriz no presentaron hipoglucemia, mientras que los ratones inyectados exhibieron hipoglucemia severa (Figura 8G, H, I para 10, 5, y 2 IU, respectivamente).

35 La indicación para la biodisponibilidad incrementada de la insulina administrada oralmente usando las composiciones de la presente invención en comparación con la insulina inyectada puede encontrarse calculando las "Áreas Efectivas". El "Área efectiva" se define como la suma de los cambios netos en los valores del nivel de glucosa sanguínea (BGL) relativos al nivel basal, a lo largo de un período de tiempo definido, calculado como sigue:

1. Obtener un promedio básico de BGL durante cada momento.
2. Para cada momento, sustraer el valor BGL en los grupos tratados (la composición de insulina oral de la presente 40 invención e insulina inyectada) del promedio de la línea base.
3. Sumar los valores obtenidos en la etapa 2 durante todos los momentos.

Para obtener los valores en la Tabla 3, las "áreas efectivas" calculadas de diferentes tratamientos se sustrajeron y dividieron.

Tabla 3. Zonas efectivas de las composiciones del vehículo de matriz de insulina orales contra la insulina inyectada.

Grupo	valor
10 IU: (inyección-composición del vehículo de matriz)	-1042.7 mg/dL
5 IU: (inyección-composición del vehículo de matriz)	340.29 mg/dL
2 IU: (inyección-composición del vehículo de matriz)	834.4 mg/dL

45

Grupo	valor
10IU: inyección/composición del vehículo de matriz	0.64
5 IU: inyección/composición del vehículo de matriz	1.32
2 IU: inyección/composición del vehículo de matriz	3.73
10IU inyección/ 5 IU inyección	1.32
10IU inyección/ 2 IU inyección	1.61
10IU composición del vehículo de matriz/ 5 IU composición del vehículo de matriz	2.74
10IU composición del vehículo de matriz/ 2 IU composición del vehículo de matriz	9.45

5 Como se muestra en la Tabla 3, las proporciones 10IU/5IU y 10IU/2IU relativamente reducidas para la insulina inyectada indican que estas dosis son una metodología de la dosis de saturación para los ratones. En contraste, las proporciones relativamente grandes para las composiciones del vehículo de matriz de insulina indican que están lejos de las dosis de saturación. Así, las composiciones del vehículo de matriz de la presente invención son más tratables para obtener una dosificación exacta dentro de su rango terapéutico, en comparación con las formulaciones de insulina inyectadas normalmente.

10 A continuación, el efecto de la composición de insulina oral de la presente invención se probó en dos sujetos humanos, uno saludable y uno diabético. 30 IU de la composición del vehículo de matriz Actrapid™ (Formulación II) redujo los niveles de glucosa sanguínea en el sujeto saludable de 105 a 80-90 mg/dL más un período de prueba de seis horas (Figura 9A). El sujeto informó un grado inusual de hambre, pero por otra parte, ninguna reacción adversa. En contraste, la administración de insulina inyectada a sujetos saludables se conoce por causar hipoglucemia, en algunos casos severa, con acompañamiento de reacciones adversas.

15 Se administraron 10 IU de la formulación 3 veces por día durante 14 días a un sujeto de 67 años de edad, que tiene el tipo diabetes I/II que exhibió niveles de glucosa de más de 170 cuando no se trató y 130-170 cuando recibió Gluco-Rite™. Al tomar la formulación V, los niveles de glucosa de la sangre cayeron un promedio de aproximadamente 130 (Figura 9B). El sujeto informó sentirse bien durante el período entero en el que recibió la composición de insulina oral de la presente invención. El sujeto ha continuado tomando las composiciones 3-4 veces por día, como sea necesario, dando como resultado, niveles de glucosa bien controlados sin reacciones adversas. En contraste, el sujeto tuvo una historia amplia de sensaciones intensas de miedo y malestar después de recibir diferentes formulaciones de insulina inyectadas.

25 Se confirmó la presencia de niveles de insulina elevados en la sangre de un sujeto diabético posterior a la administración de la composición de insulina mediante ELISA. Así, las composiciones del vehículo de matriz de la presente invención son capaces de administrar oralmente varias formas de insulina en una forma biológicamente activa que puede tratar eficazmente la diabetes. Estas tienen la ventaja adicional de no inducir la hipoglucemia en sujetos diabéticos o normales.

EJEMPLO 8: Estudio de toxicidad debido a la administración oral crónica de composiciones de insulina

MATERIALES Y MÉTODOS EXPERIMENTALES

30 Se usaron quince ratones machos Balb/C de 10 semanas de edad. A los ratones se les administró 1 ml diario de la composición del vehículo de matriz de insulina (25IU/ml) (grupo experimental) o PBS (grupo control vía sonda) vía una sonda durante 15 días. En el día 14 y 15, se administraron oralmente a los ratones 100 ng de lipopolisacáridos (LPS) junto con las composiciones del vehículo de matriz de insulina o PBS. Se administraron a los ratones de control negativo 1 ml PBS mediante sonda durante 13 días, y 100 ng de LPS en 1 ml de PBS por sonda en el día 14 y 15. Se inyectaron los ratones de control positivos con 1 mg de PBS. Después de 3 horas de administración de LPS, los ratones se sacrificaron, la sangre se reunió (para la detección de LPS) y el gastro-sistema, hígado y riñones se fijaron en paraformaldehído (PFA) 4 % para un análisis histológico.

40 **Seguimiento del animal y análisis macroscópico:** Los ratones se pesaron cada 3 días, y se detectó diariamente su condición. Después de sacrificarse, todos los órganos o tejidos se investigaron para la presencia de cambios patológicos.

Colección de órganos internos y fijación: En el día 15, los ratones se sacrificaron y su sistema gastro, riñón, e hígado se recolectaron de la cavidad abdominal, se pesaron y se fijaron en una solución de formalina al 10 %.

Recolección de la sangre y preparación del plasma: La sangre se reunió del corazón de los ratones en tubos que contenían EDTA. El plasma fue separado de la sangre mediante centrifugación; al principio durante 15 min a 3000x_g_{max} seguido por 15 minutos a 16,000x_g_{max}. El sobrenadante se removió, se colocó en un nuevo tubo y se almacenó a -20 °C.

Detección de LPS en el suero del ratón: El LPS en el suero del ratón se detectó por HPLC. El suero tomado en el día 15 de los grupos descritos arriba, se preparó para el análisis de HPLC mediante la adición de 0.1 M de EDTA.

RESULTADOS

Se investigó la toxicidad de la administración crónica de composiciones de insulina orales de la presente invención. Ningún cambio patológico se observó en la conducta de los animales. Su piel estaba en condición normal, tenía una apariencia lisa, limpia y luminosa. No se detectó ninguna pérdida de peso; los ratones ganaron peso normalmente.

Análisis macroscópico:

El análisis macroscópico de órganos internos no reveló ninguna evidencia de alguna patología. Los órganos de todos los ratones se desarrollaron normalmente, tenían el tamaño normal, forma, apariencia (luminosos y lisos), y peso, estaban normalmente coloreados, y estaba en su ubicación normal. El análisis microscópico no mostró ninguna evidencia de patología en los tejidos de ratones en todos los grupos (hígado - Figura 10A; riñón - Figura 10B; duodeno - Figura 10C).

El suero de los ratones tratados y no tratados también se probó para la presencia de LPS. El LPS no estuvo presente en el suero de los ratones suministrados con la composición de insulina oral de la presente invención + LPS (Figura 11, curva C), ni en el suero de ratones dados con 1 ml de PBS + LPS (Figura 11, curva D), mostrando que ni la composición del vehículo de matriz ni la sonda comprometieron la integridad de los revestimientos gastrointestinales de los ratones. El suero de ratones inyectados con 1mg de LPS en 1 ml de PBS sirvió como un control positivo (Figura 11, curva A), y los ratones no tratados sirvieron como control negativo (Figura 11, curva B).

EJEMPLO 9: Preparación de la composición del vehículo de matriz eritropoietina:

Se produjo una composición del vehículo de matriz de eritropoietina (EPO), usando los siguientes ingredientes:

EPREX™ epoetin alfa 1ml,

Aceite de oliva 7 ml,

Ambrotose™, 0.6

Sílice 0.1 g,

Aceite de Oblepicha, 8 ml,

Aceite de linaza

La composición se preparó como se describió anteriormente en los Ejemplos anteriores. El contenido en esta composición llegó a ser hasta 20 ml con el aceite de linaza. La última concentración de EPO fue 150 IU/ml.

EJEMPLO 10: Perfil de liberación *in vivo* de la composición del vehículo de matriz de eritropoietina:

El perfil de liberación *in vivo* de la composición del vehículo de matriz de EPO del Ejemplo 9 se determinó en las ratas. La cuenta del reticulocito relativa se midió después de la administración oral de la composición de la matriz que contenía 200 IU EPO. La composición de EPO se administró dos veces en los días 1 y 4 del estudio; las muestras de sangre se obtuvieron en el día 10 (2 dosis; 5 ratas). Como un control, se administró el vehículo de la matriz sin EPO (5 ratas). La administración del vehículo de matriz EPO estimuló potencialmente la formación del reticulocito (Figura 12).

EJEMPLO 11: Actividad de EPO en ratas normales y anémicas administradas con la composición del vehículo de matriz de eritropoietina:

Las ratas macho SD se sometieron a una cirugía de nefrectomía para remover 5/6 de los riñones, para servir como un modelo de falla de riñón; las ratas de control permanecieron intactas. 1 ml de la composición del vehículo de matriz EPO del Ejemplo 9 se administró oralmente a las ratas mediante sonda, se administró en total 150 IU EPO. Los niveles de EPO se midieron por ELISA (Human EPO Immunoassay by Quantikine™ IVD) en distintos momentos, entre 1-24 horas después de la administración de EPO. La EPO se absorbió eficazmente en ratas normales y con nefrectomía (Figura 13).

En otros experimentos, 150 IU EPO se administró oralmente en una composición del vehículo de matriz en los días 1 y 5 o se administró hipodérmicamente en días 1 y 5. Se realizaron conteos de reticulocitos y hemoglobina en sangre en diferentes momentos, entre 2-5 semanas después de la administración de EPO. La composición del vehículo de matriz de EPO fue igualmente eficaz como la EPO inyectada. Los datos de un lapso de tiempo representativo se describen en la Tabla 4.

5

Tabla 4. Comparación del efecto a largo plazo promedio (un mes desde la primera administración de EPO) de administración oral de la composición del vehículo de matriz de EPO vs. Inyección SC de EPO.

	EPO oral	EPO inyectada subcutáneamente
WBC	4.02	1.86
RBC	7.968	7.436
HGB	14.84	14.18
HCT	43.08	40.66
MCV	54.08	54.66
MCH	18.62	18.968
MCHC	34.46	34.84
RDW	13.16	18.62
PLT	760.4	708.2
MPV	4.96	4.84
RET %	3.674	3.034
RET#	0.2941	0.22578

EJEMPLO 12: Preparación de una composición del vehículo de matriz de la Hormona de Crecimiento (GH).

10 Se produjo una composición del vehículo de matriz de la Hormona de Crecimiento (GH) usando los siguientes ingredientes:

Polvo de hormona de crecimiento-ver abajo	24 mg
Amilopectina de maíz (Catalogo Fluka Número 22720)	3.5 gr
Sílice R972	0.7 gr
Aceite de oliva	20 ml
Aceite de Oblepicha	30 ml
Aceite de ajonjolí	Hasta 70 ml

15 La hormona de crecimiento Genotropin™ se obtuvo de Pharmacia y Upjohn, en la forma de un polvo liofilizado que contenía somatotropina [origen del rADN] que es una hormona del polipéptido de ADN de origen recombinante. Tiene 191 residuos de aminoácidos y un peso molecular de 22,124 daltones. La secuencia del aminoácido del producto es idéntica a la de la hormona de crecimiento humana de origen pituitario (somatotropina).

EJEMPLO 13: Composición del vehículo de matriz TGF-β de liberación a mediano plazo.

20 La siguiente formulación se diseñó para liberar TGFβ a mediano plazo: 30 ml de aceite de ajonjolí y 120 ml de aceite de espino amarillo (oblepicha) se combinaron en un vaso de precipitado y se agitaron durante 3 minutos (min) a 60 rpm con un agitador magnético. 20 gramos (g) TGF-β (53 kD) se agitaron en la mezcla de aceite a 20 rpm durante 4 min, después a 60 rpm durante 7 min. Se pesaron 18 g de amilopectina de maíz (catálogo Fluka número 22720) en una balanza analítica, se combinaron con 3 g de sílice hidrófoba humeada R972 (Degussa Inc), y se mezclaron mediante un vórtice a 900 rpm durante 5 minutos. La asociación entre la amilopectina y la sílice se determinó por la

capacidad de la mezcla a flotar después de colocarse en la superficie de un vaso de precipitado lleno con agua. La mezcla de amilopectina/sílice se agregó a la solución de aceite-TGF- β y se agitó durante 25 minutos a 40 rpm. Se agregaron 75ml de aceite de oliva, y la mezcla se agitó a 50 rpm durante 3 min. El contenido llegó a ser hasta 300 ml con aceite de ajonjolí, y la mezcla se agitó a 50 rpm durante 20 min. El producto se almacenó para su refrigeración (3-8 °C).

En algunos experimentos, el producto se empaqueta en cápsulas de revestimiento entéricas de gelatina, como aquellas comercialmente disponibles de Shionogi y Compañía, Ltd., Japón.

EJEMPLO 14: Preparación de una composición del vehículo de matriz Copaxone™:

Se produce una composición de Copaxone™ (Copaxone-formulación I), usando los siguientes ingredientes:

- 10 Polvo de Copaxone 5 g,
- Aceite de Jojoba 40 ml.
- Aceite de oliva, 50 ml
- Alfa-glucano, 2 g
- Beta-glucano, 2 g
- 15 Amilopectina 7 g
- Sílice R972, 2 g,
- Aceite de espinillo amarillo, 80 ml
- Aceite de ajonjolí hasta 200 ml
- 1. Mezclar el alfa y beta-glucano con la amilopectina durante 10 minutos.
- 20 2. Agregar sílice R972 y mezclar intensivamente durante 15 minutos.
- 3.Verificar la calidad de la mezcla mediante una humectación (el polvo debe flotar en la superficie del agua sin humedecerse).
- 4. Mezclar el aceite de espinillo amarillo (Oblepicha) y el aceite de Jojoba durante 5 minutos.
- 5. Agregar el polvo de Copaxone a la mezcla de aceite de espinillo amarillo y aceite de jojoba. Mezclar suavemente usando un movimiento circular durante 15 minutos.
- 25 6. Agregar la mezcla de la etapa 2 a la mezcla de Copaxone desde la etapa 5 y mezclar suavemente mediante un movimiento circular durante 25 minutos.
- 7. Agregar Aceite de oliva y aceite de ajonjolí, y mezclar usando un agitador magnético durante 40 minutos.

Luego, se produce una composición de Copaxone™ adicional (Copaxone-formulación II), usando los siguientes ingredientes:

- 30 Polvo de Copaxone™, 5 g
- Aceite de espinillo amarillo 30 ml.
- Aceite de oliva, 50 ml
- Beta-glucano, 4 g
- 35 Amilopectina 7 g
- Sílice R972, 2 g
- Cera de abejas, 170 g,

Procedimiento:

- 1. Mezclar el beta-glucano con la amilopectina durante 10 minutos.
- 40 2. Agregar sílice R972 y mezclar intensivamente durante 15 minutos.
- 3. Verificar la calidad de la mezcla mediante humectación (el polvo debe flotar en la superficie del agua sin

humedecerse).

4. Mezclar el aceite de espino amarillo (Oblepicha) y el aceite de oliva durante 5 minutos.

5. Agregar polvo de Copaxone™ para mezclar el espino amarillo y el aceite de oliva. Mezclar suavemente mediante un movimiento circular durante 15 minutos

5 6. Agregar la mezcla de la etapa 2 a la mezcla de Copaxone de la etapa 5 y mezclar suavemente mediante un movimiento circular durante 25 minutos.

7. Calentar la cera de abejas, pulverizarla y combinarla con la suspensión de aceite de la etapa 6. Mezclar y enfriar.

EJEMPLO 15: Preparación de una composición del vehículo de matriz del péptido de Apolipoproteína A-1-mimético.

10 Se produce una composición del péptido A-1-mimético de apolipoproteína, usando los siguientes ingredientes:

Polvo del péptido APO A-1-mimético, 11 g

Aceite de espino amarillo 50 ml

Aceite de oliva 50 ml,

Beta-glucano, 3 g

15 Quitina, 2 g,

Amilopectina 8 g

Sílice R972, 4.5 g

Cera de abejas, 140 g,

Procedimiento:

20 1. Mezclar el beta-glucano con quitina y amilopectina durante 10 minutos.

2. Agregar sílice R972 y mezclar intensivamente durante 15 minutos.

3. Verificar la calidad de la mezcla mediante humectación (el polvo debe flotar en la superficie del agua sin humedecerse).

4. Mezclar el aceite de espino amarillo (Oblepicha) y el aceite de oliva durante 5 minutos.

25 5. Agregar polvo de Apolipoprotein A-I a la mezcla de espino amarillo y aceite de oliva. Mezclar suavemente, usando un movimiento circular durante 25 minutos.

6. Agregar la mezcla de la etapa 2 a la mezcla A-1 de Apolipoproteína de la etapa 5. Mezclar suavemente usando un movimiento circular durante 30 minutos.

7. Calentar la cera de abejas, pulverizarla y combinarla con la suspensión de aceite de la etapa 6. Mezclar y enfriar.

30 **EJEMPLO 16: Preparación de una composición del vehículo de matriz Rituxan® (anticuerpo monoclonal terapéutico):**

Se produce un Rituxan® (MabThera), usando los siguientes ingredientes:

Polvo de Rituxan liofilizado, 7 g.

Aceite de Espino amarillo 40 ml.

35 Aceite de oliva, 40 ml,

Quitina, 3 g,

Amilopectina 8 g –

Sílice R972, 3.2 g,

Cera de abejas, 140 g,

40 **Procedimiento:**

1. Mezclar la quitina y amilopectina durante 10 minutos.
2. Agregar sílice R972 y mezclar intensivamente durante 15 minutos.
3. Verificar la calidad de la mezcla mediante humectación (el polvo debe flotar en una superficie de agua sin humedecerse).
- 5 4. Mezclar el aceite de espino amarillo (Oblepicha) y el aceite de oliva durante 5 minutos.
5. Agregar el polvo de Rituxan® a la mezcla de espino amarillo y aceite de oliva. Mezclar suavemente mediante un movimiento circular durante 15 minutos.
6. Agregar la mezcla de la etapa 2 a la mezcla de Rituxan de la etapa 5 y mezclar suavemente usando un movimiento circular durante 25 minutos.
- 10 7. Calentar la cera de abejas, pulverizarla y combinarla con la suspensión de aceite de la etapa 6. Mezclar y enfriar.

15 La descripción anterior de las modalidades específicas revelarán completamente la naturaleza general de la invención que otros pueden, mediante la aplicación del conocimiento actual, modificar fácilmente y/o adaptar distintas aplicaciones como las modalidades específicas sin la indebida experimentación y sin apartarse del concepto genérico, por consiguiente, tales adaptaciones y modificaciones deberán ser encaminadas hacia su comprensión dentro del significado y rango equivalente de las modalidades descritas. Se entenderá que la fraseología o terminología empleada en la presente tiene como propósito su descripción y no su limitación. Los significados, materiales y etapas para llevar a cabo las distintas funciones descritas pueden tomar una variedad de formas alternativas sin apartarse de la invención.

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica para uso oral que comprende un aceite que tiene materia particulada oleosa suspendida en su interior, en la que la materia particulada comprende:
 - 5 a. un polisacárido en íntima asociación no covalente con nanopartículas de sílice que tienen una superficie hidrófoba, en donde el tamaño de las nanopartículas de sílice está entre 1-100 nanómetros; y
 - b. una proteína o un péptido que tienen actividad terapéutica, asociados no covalentemente con dichas nanopartículas de sílice y el polisacárido.
2. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en la que el polisacárido comprende un polisacárido ramificado.
- 10 3. La composición farmacéutica de la reivindicación 2, en la que dicho polisacárido ramificado se selecciona entre el grupo que consiste en amilopectina, almidón, glucógeno y sus combinaciones y derivados.
4. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, que comprende un polisacárido lineal seleccionado entre el grupo que consiste en celulosa, quitina, alfa glucano, beta glucano y sus combinaciones y derivados.
- 15 5. La composición farmacéutica de la reivindicación 4, que comprende además una proteína estructural seleccionada entre el grupo que consiste en elastina, colágeno, queratina, fibrinógeno y sus combinaciones y derivados.
6. La composición farmacéutica de la reivindicación 1,
 - en donde dicha composición es anhidra; o
 - en donde dicho tamaño de dichas nanopartículas de sílice está entre 5-30 nanómetros; o
 - 20 en donde dichas nanopartículas de sílice tienen una temperatura de fusión de no menos de 600 °C, o en donde dicha superficie hidrófoba de dichas nanopartículas de sílice comprende restos hidrocarburo; o que comprende además una proteína estructural seleccionada entre el grupo que consiste en elastina, colágeno, queratina y fibrinógeno; o
 - 25 en donde dicho polisacárido ramificado tiene una temperatura de fusión de no más de 400 °C; o que comprende además un aminoácido seleccionado entre el grupo que consiste en arginina, lisina, ácido glutámico, ácido aspártico e histidina; o
 - en donde dicho aceite comprende una mezcla de aceites; o
 - en donde dicho aceite comprende una mezcla de aceites seleccionados entre aceites vegetales naturales y sus análogos sintéticos; o
 - 30 en donde dicha composición comprende además un antioxidante; o en donde dicho aceite comprende un aceite que tiene una temperatura de fusión de al menos 5-10 °C, que comprende además preferentemente un componente oleoso adicional; o que comprende además una cera.
7. La composición farmacéutica de la reivindicación 1,
 - 35 en la que dicha proteína o péptido es eritropoyetina; o en la que dicha proteína o péptido es la hormona del crecimiento producida por la pituitaria; o en la que dicha proteína o péptido es acetato de glatiramer; o en la que dicha proteína o péptido es un péptido mimético de la apolipoproteína A-1; o
 - 40 en la que dicha proteína o péptido es un anticuerpo monoclonal dirigido contra la proteína CD20; o en la que dicha proteína o péptido se selecciona entre el grupo que consiste en calcitonina, una proteína del factor de necrosis tumoral (TNF), interferón-alfa, interferón-beta e interferón gamma; o en la que dicha proteína o péptido es ADNasa, ARNasa o ambas.
8. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en la que el peso de dicha materia particulada no es más del 25 % del volumen de dicha composición farmacéutica.
- 45 9. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores para administrar por vía oral una proteína o un péptido biológicamente activos que tienen una actividad terapéutica.
10. La composición de la reivindicación 9,
 - en la que dicha proteína o péptido es una enzima; o
 - en la que dicha proteína o péptido es una hormona peptídica; o
 - 50 en la que dicha proteína o péptido es un anticuerpo; o en la que dicha proteína o péptido es eritropoyetina; o en la que dicha proteína o péptido es la hormona del crecimiento producida por la pituitaria; o en la que dicha proteína o péptido es acetato de glatiramer, o en la que dicha proteína o péptido es un anticuerpo monoclonal dirigido contra la proteína CD20, o en la que

dicha proteína o péptido se selecciona entre el grupo que consiste en calcitonina, una proteína del factor de necrosis tumoral (TNF), interferón-alfa, interferón-beta e interferón gamma; o en la que dicha proteína o péptido es ADNasa, ARNasa, o ambas.

5 11. Un procedimiento de fabricación de una composición farmacéutica formulada para administración por vía oral, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:

a. mezclar nanopartículas de sílice que tienen una superficie hidrófoba, en donde el tamaño de dichas nanopartículas de sílice está entre 1-100 nanómetros, con un polisacárido, en donde dichas nanopartículas forman una íntima asociación no covalente con dicho polisacárido;

10 b. mezclar una proteína o un péptido que tienen una actividad terapéutica con un aceite; y

c. mezclar dichas nanopartículas de sílice y el polisacárido en dicho aceite, en el que dicha proteína o péptido forman una íntima asociación no covalente con dichas nanopartículas de sílice y dicho polisacárido y en el que dichas nanopartículas de sílice, dicho polisacárido y dicha proteína o péptido biológicamente activos se dispersan en dicho aceite.

12. El procedimiento de la reivindicación 11,

15 en el que el polisacárido comprende un polisacárido ramificado, que comprende preferiblemente además un polisacárido lineal o que comprende además preferiblemente de forma alternativa la etapa de añadir una proteína estructural a la mezcla de nanopartículas de sílice y polisacárido; o que comprende además la etapa de añadir una proteína estructural a la mezcla de nanopartículas de sílice y polisacárido, o

20 que comprende además la etapa de añadir un componente oleoso adicional después de la adición de dicho aceite; o

que comprende además la etapa de añadir una cera tras la adición de dicho aceite; o

en el que dicha proteína o péptido está en una forma liofilizada seca previa a la etapa (b); o

en el que dicha proteína o péptido están disueltos en una solución acuosa antes de la etapa (b).

25

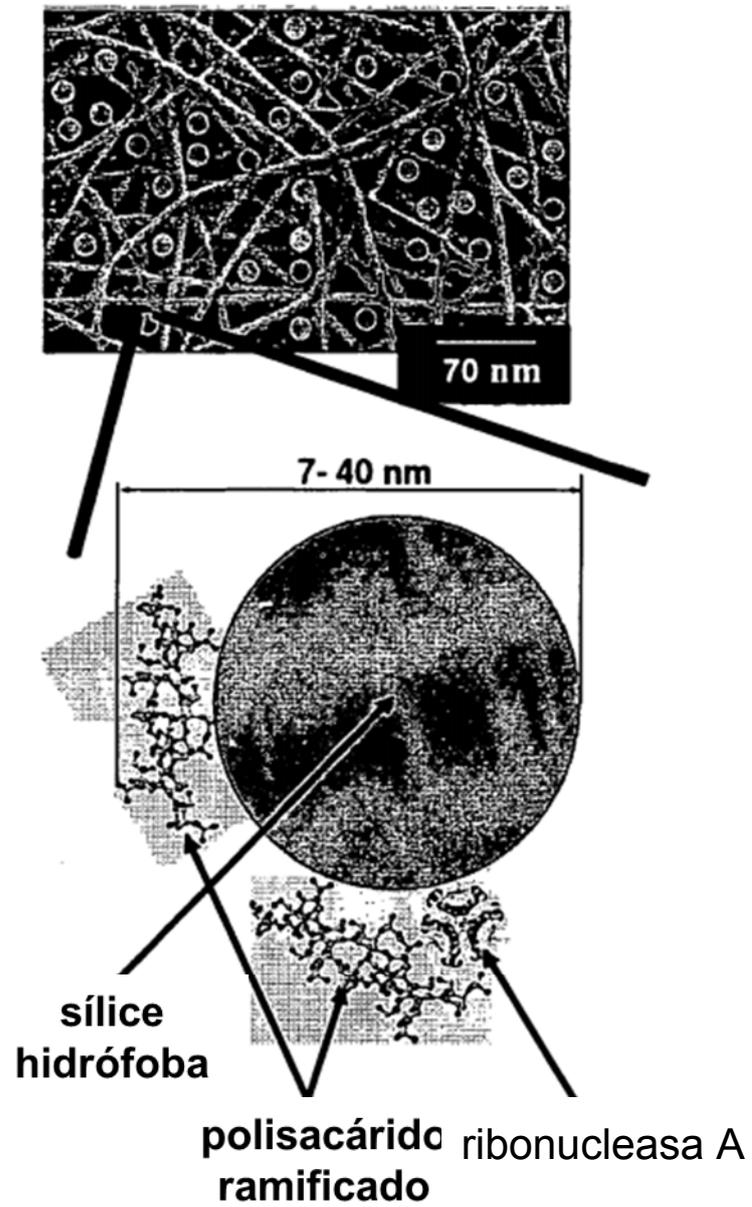


Figura 1

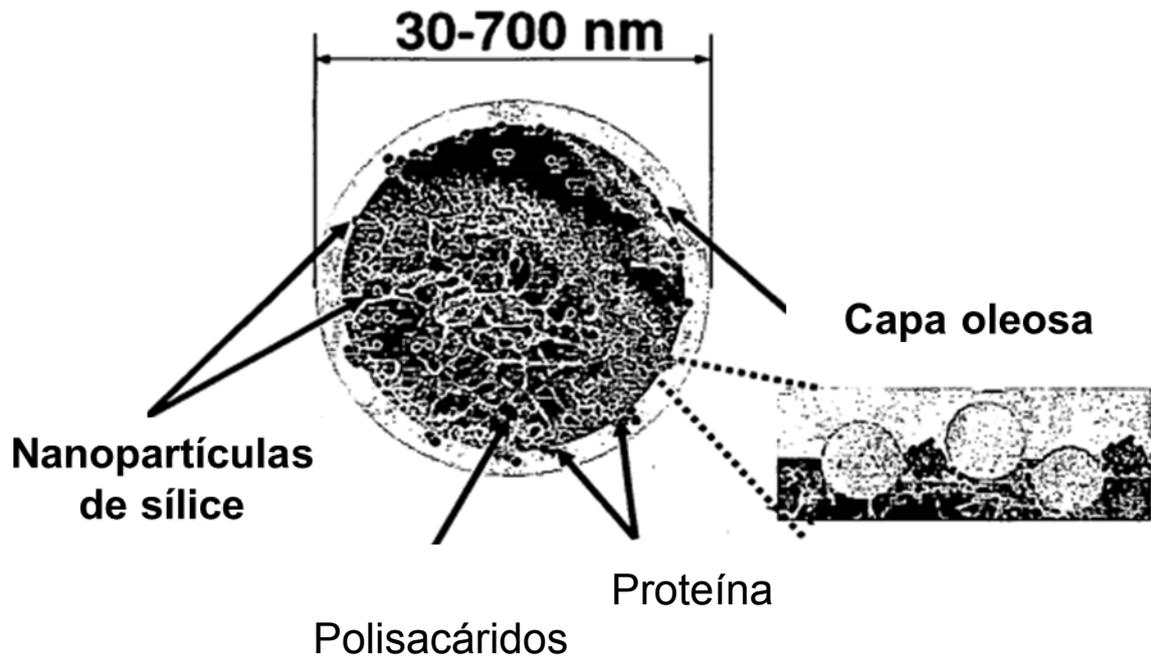


Figura 2

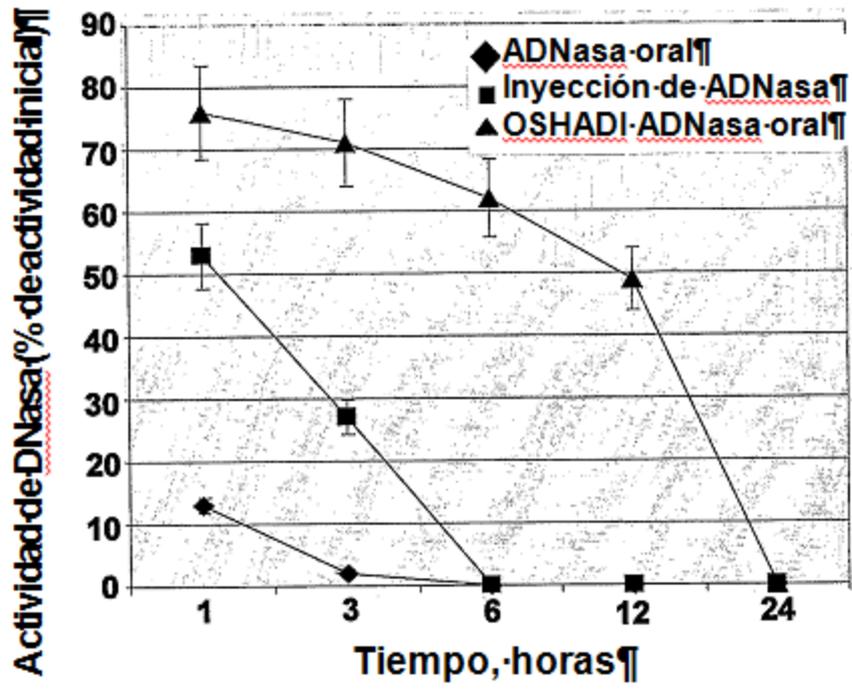


Figura 3A

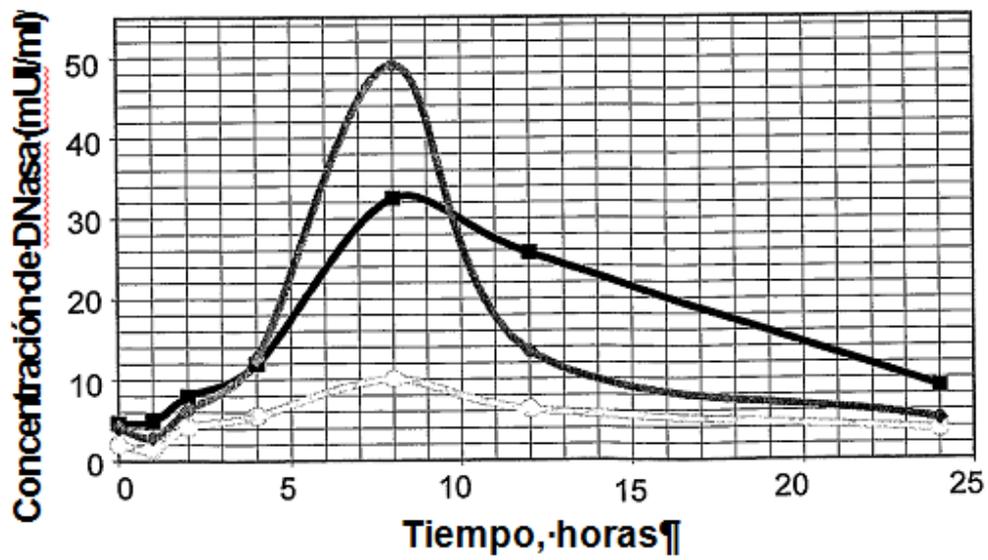


Figura 3B

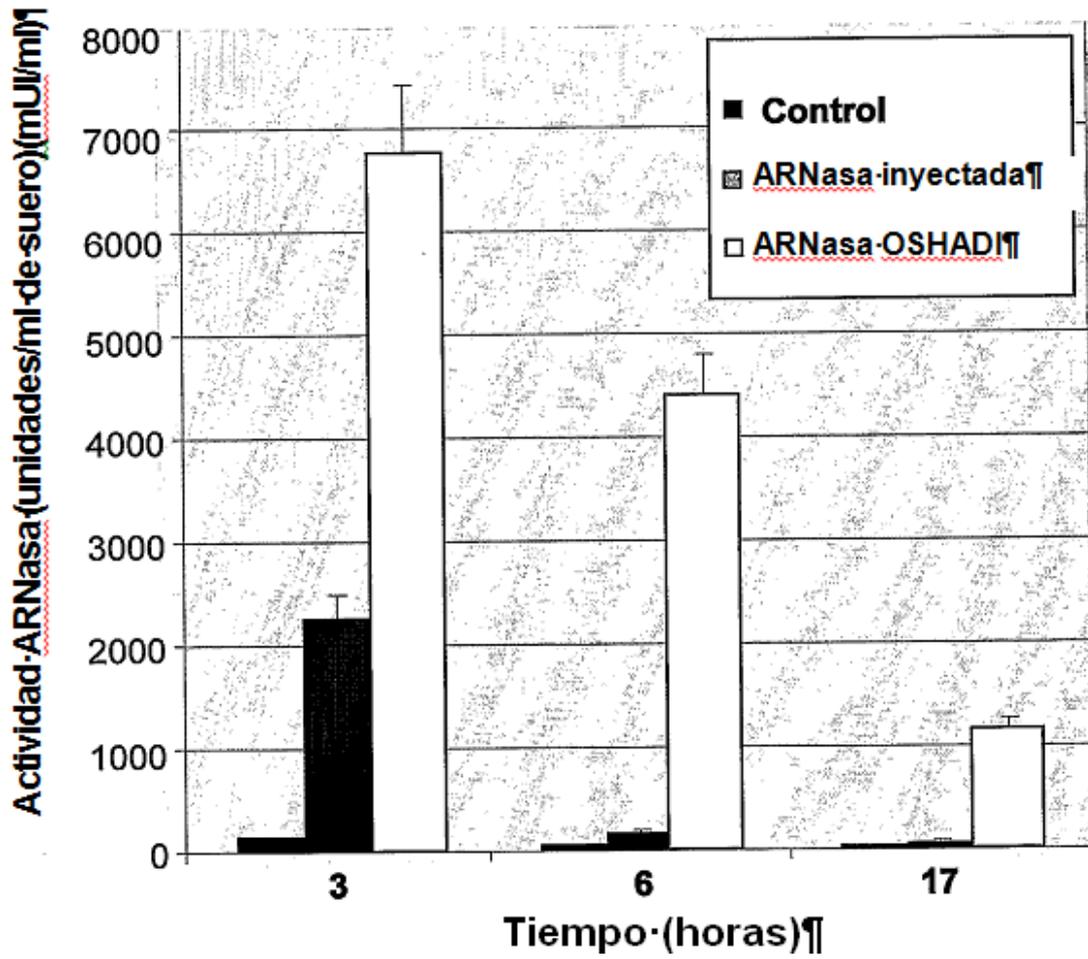


Figura 4

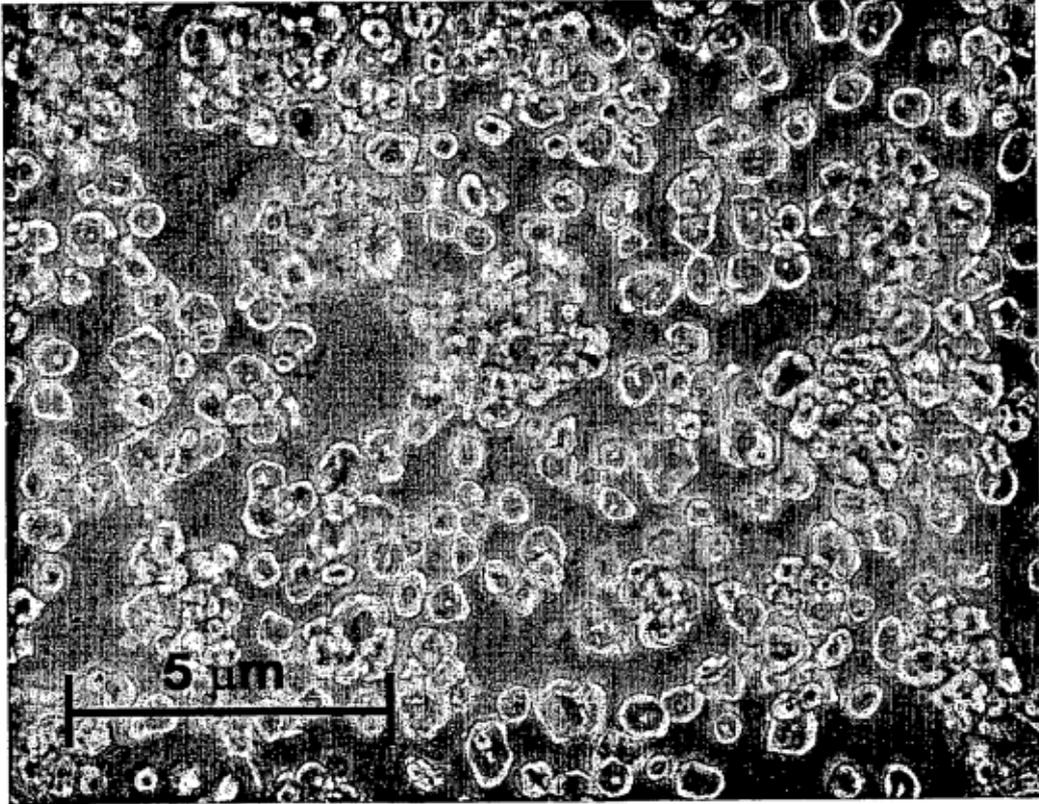


Figura 5A

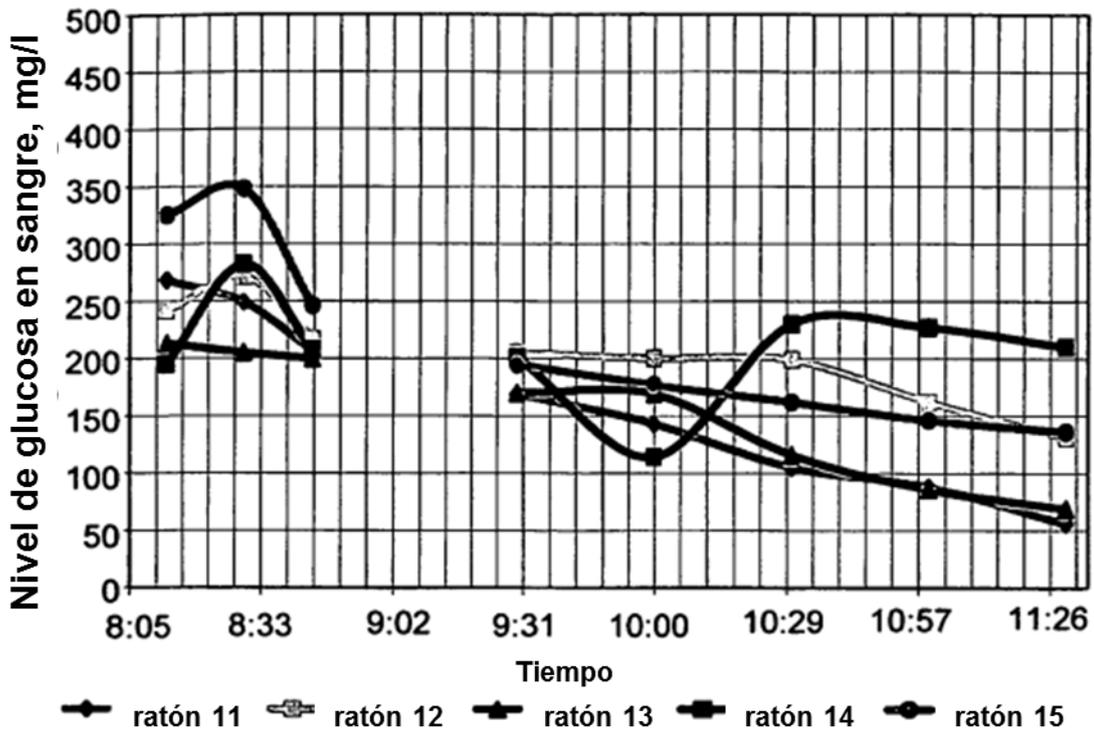


Figura 5B

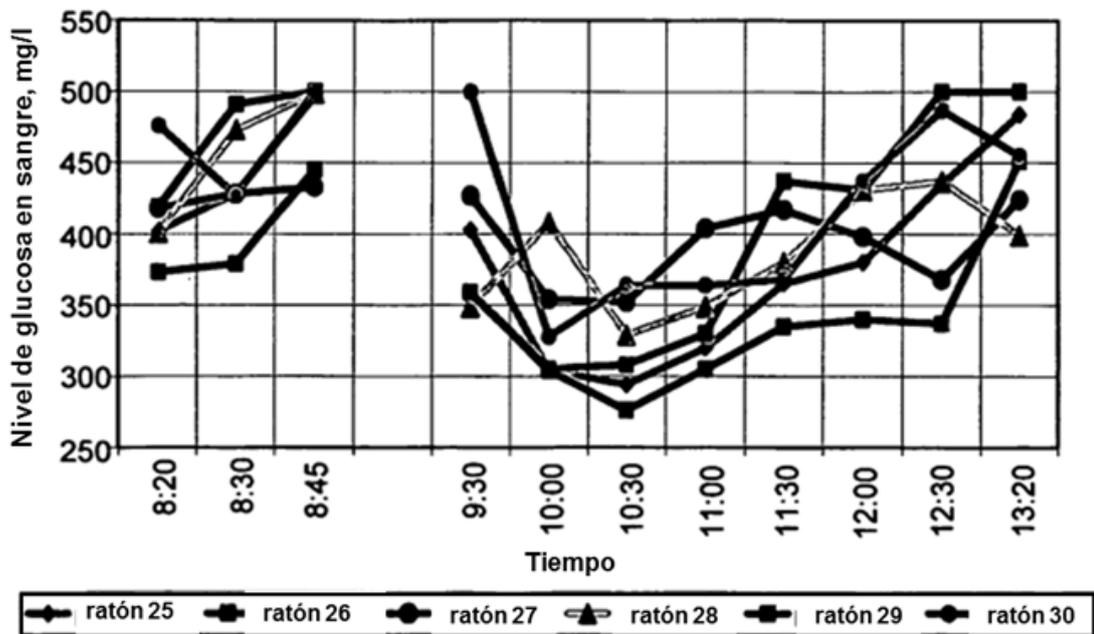


Figura 6

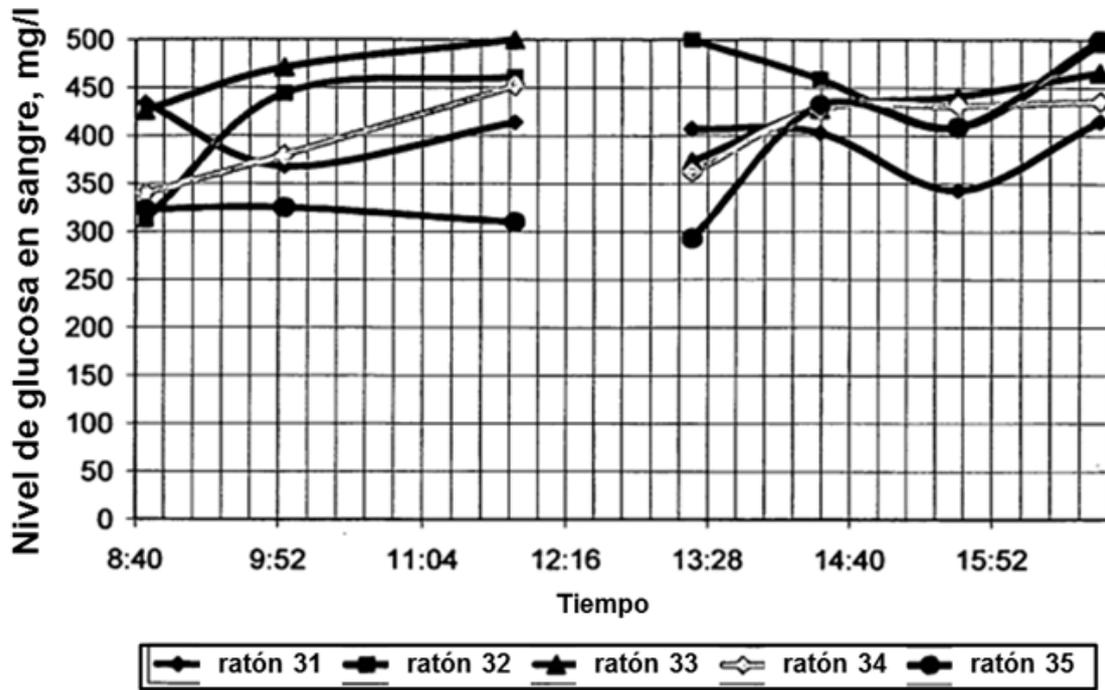


Figura 7

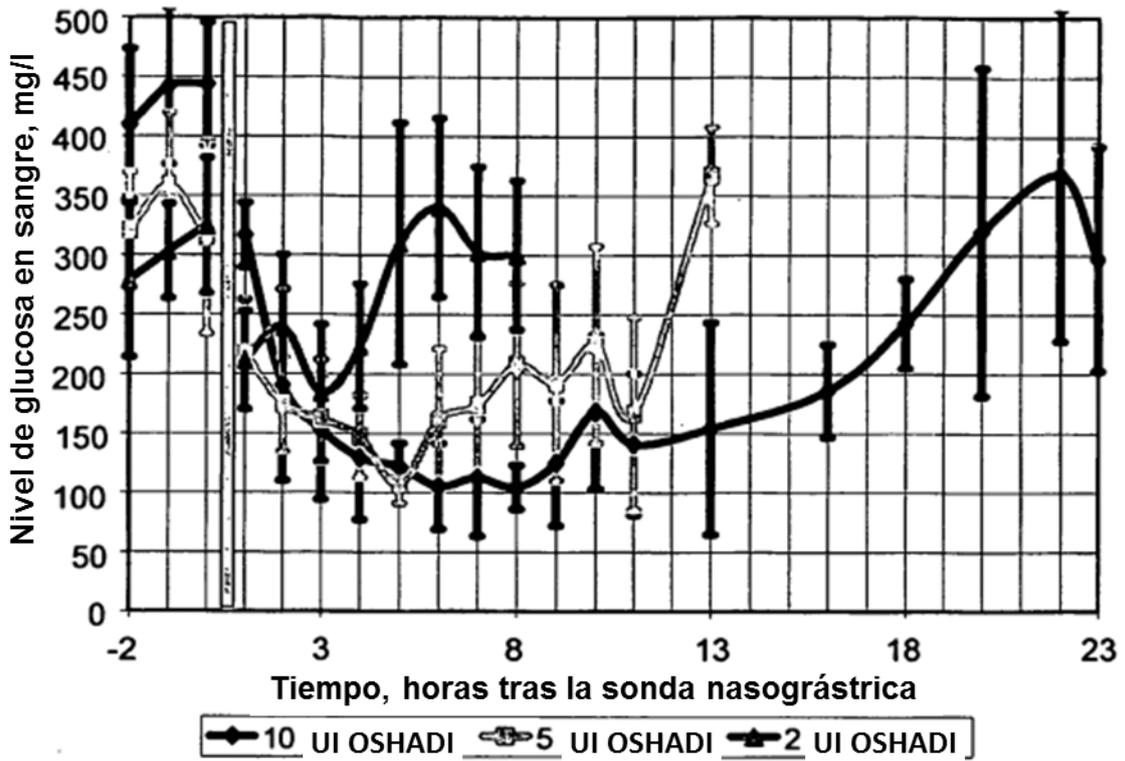


Figura 8A

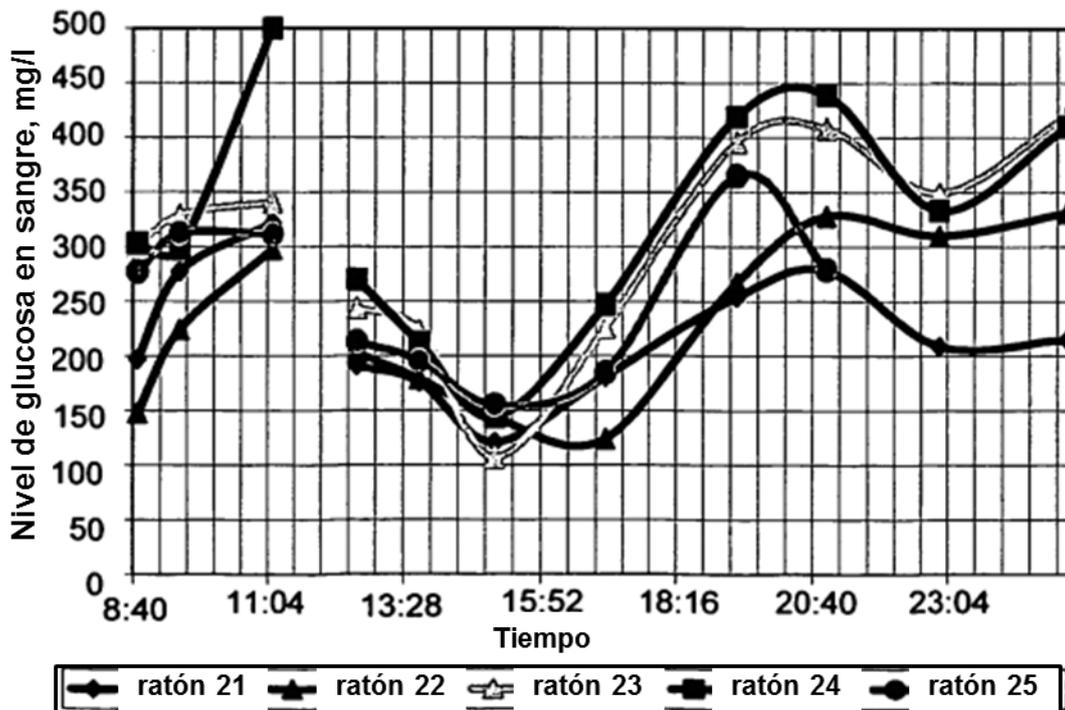


Figura 8B

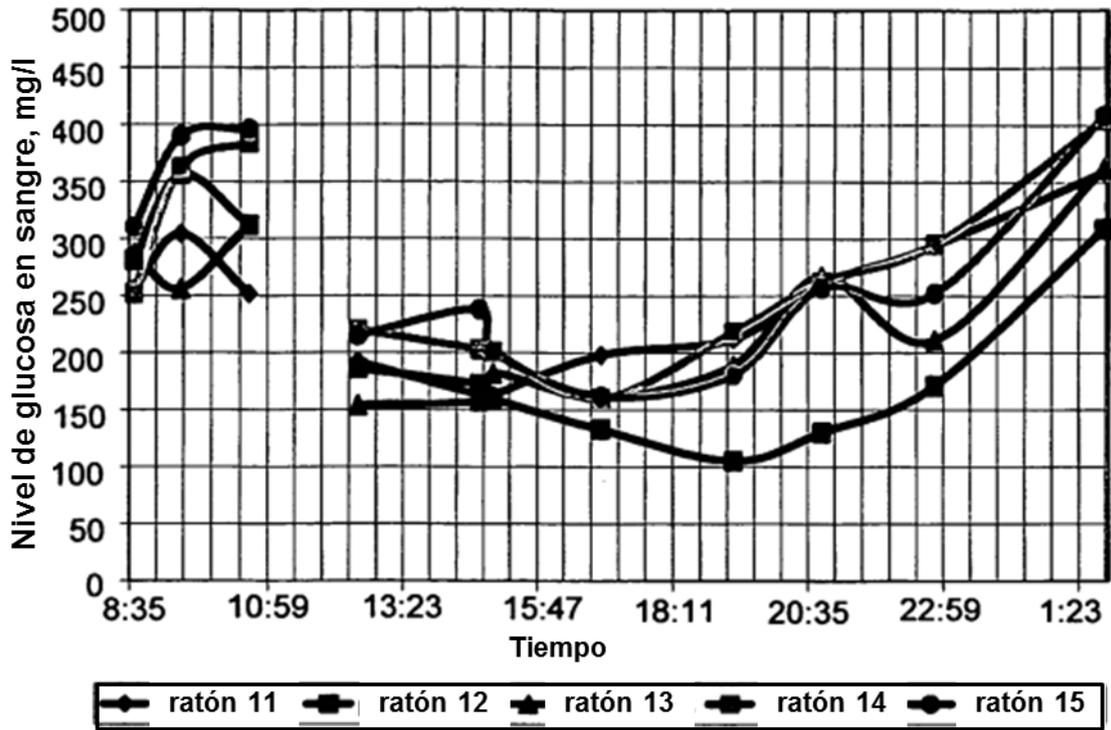


Figura 8C

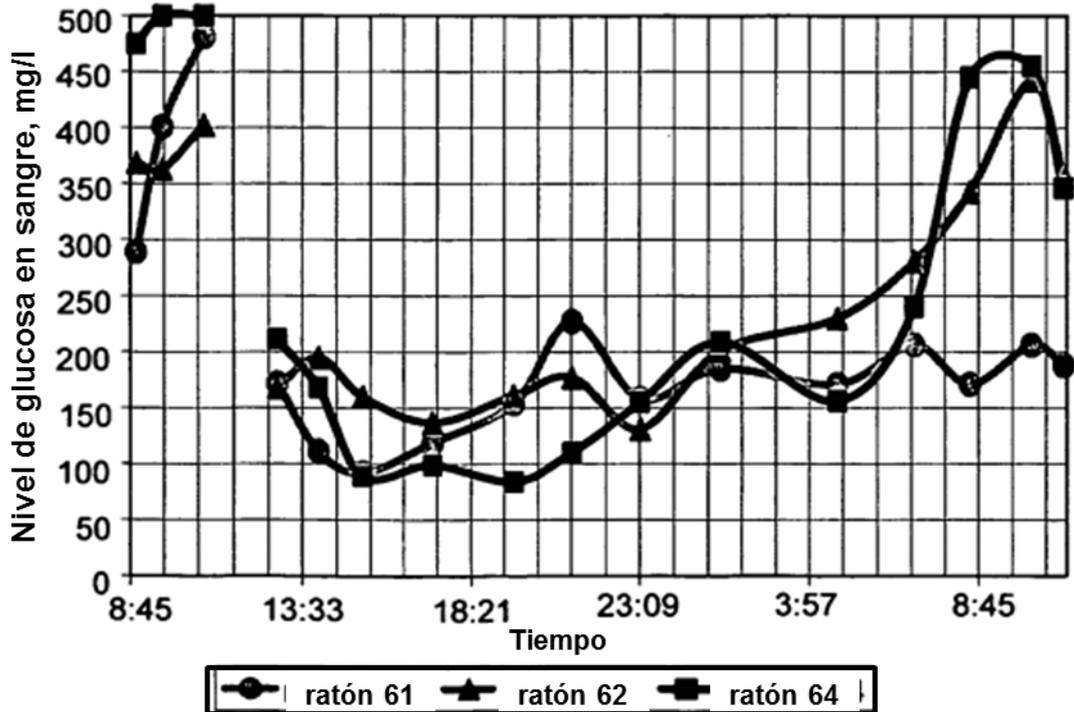


Figura 8D

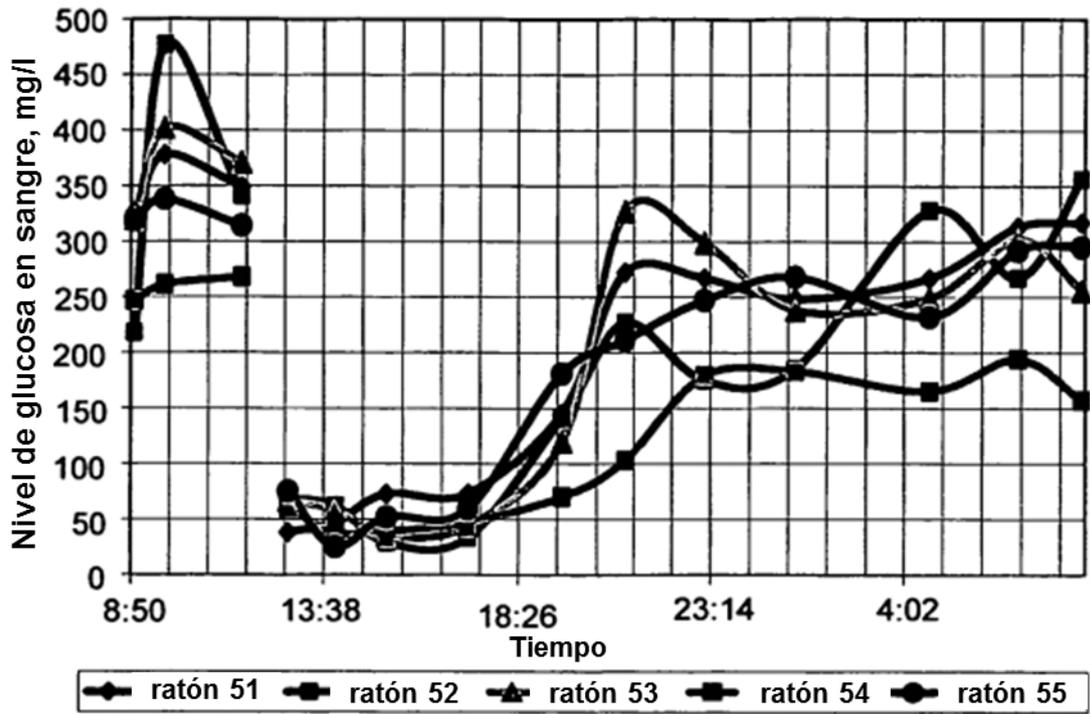


Figura 8E

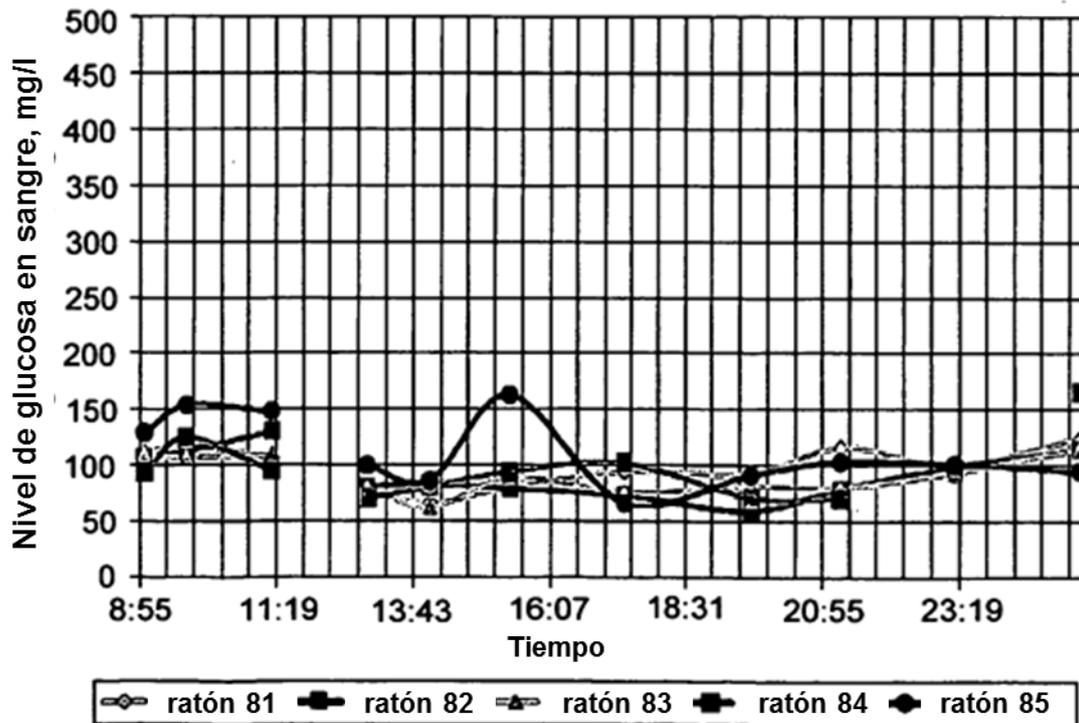


Figura 8F

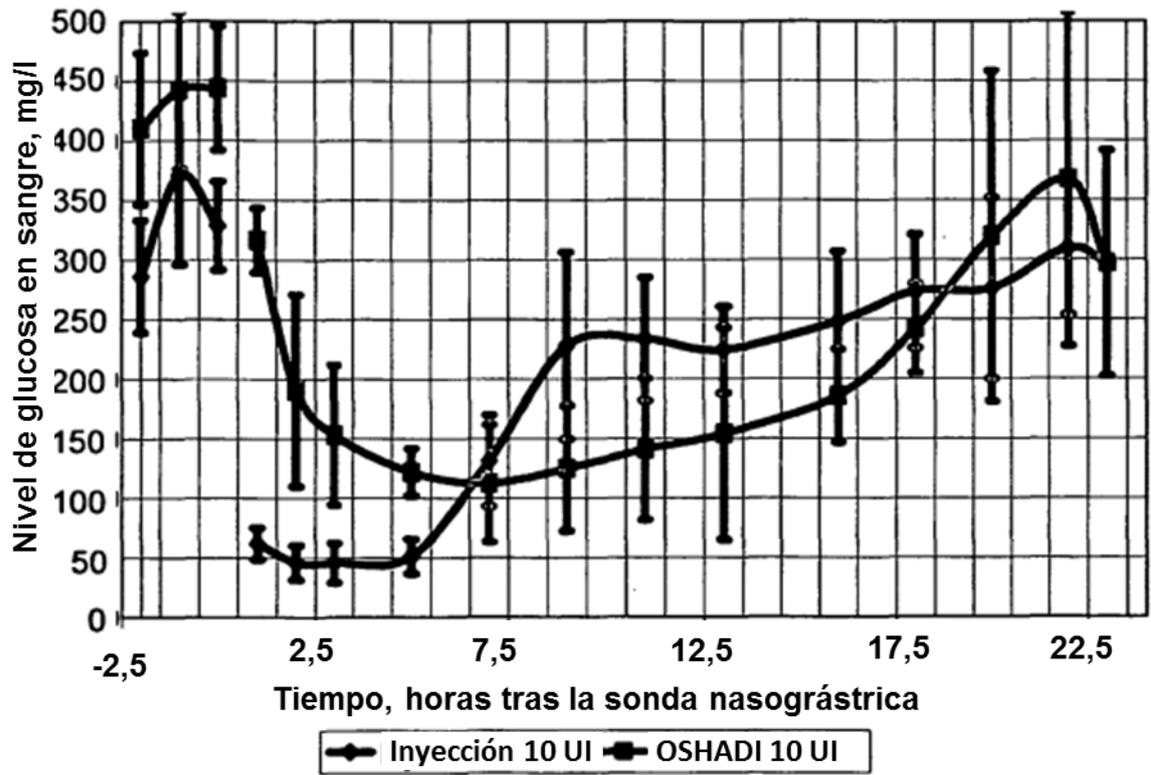


Figura 8G

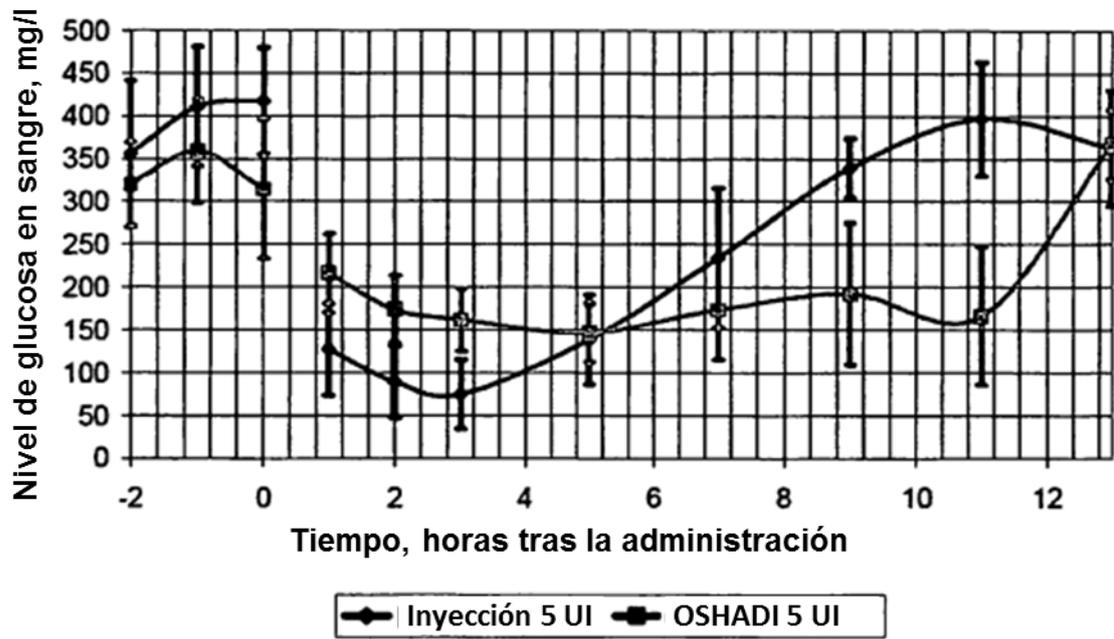


Figura 8H

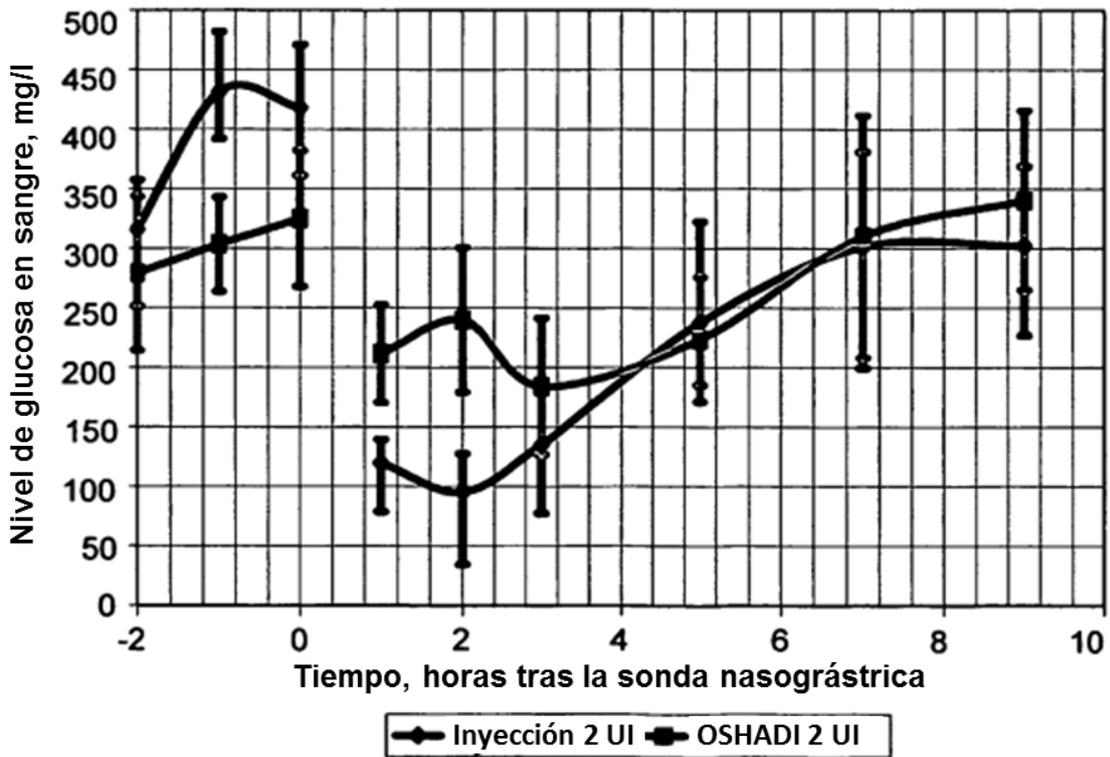


Figura 8I

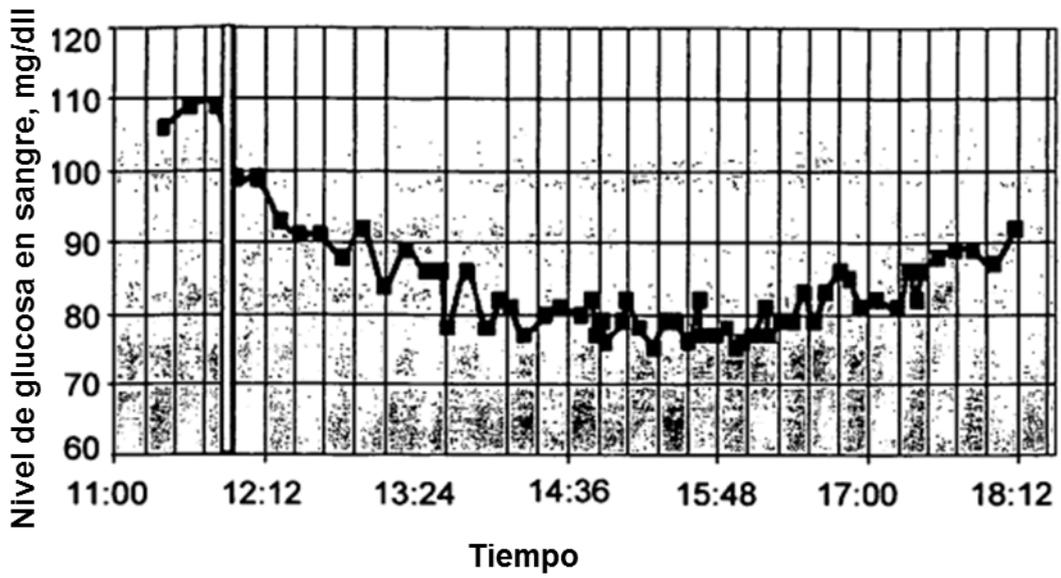


Figura 9A

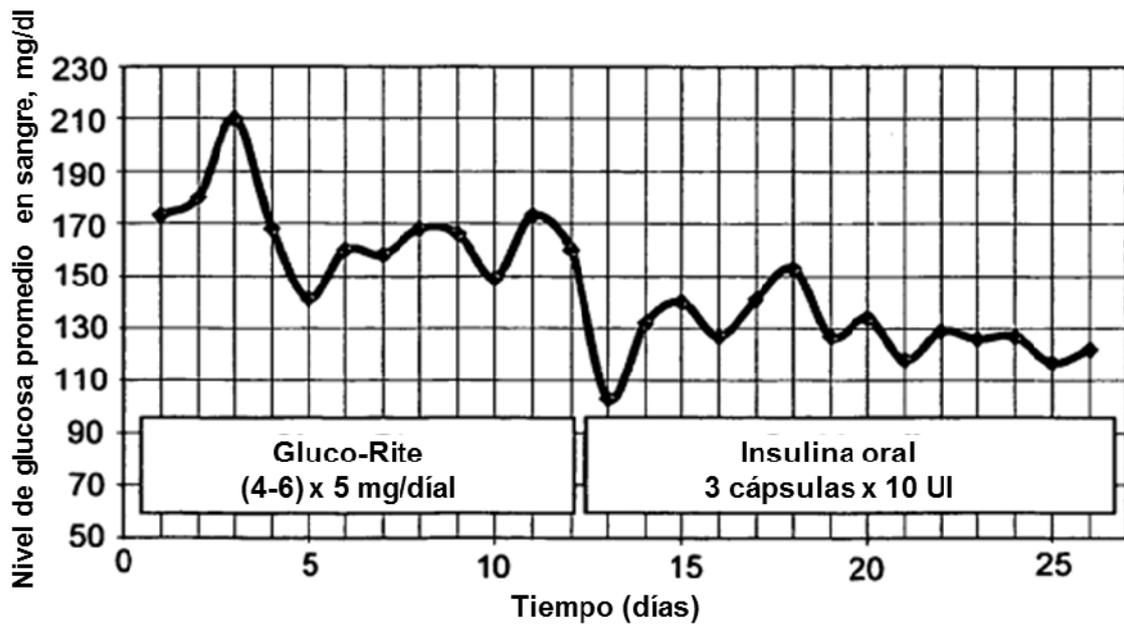


Figura 9B

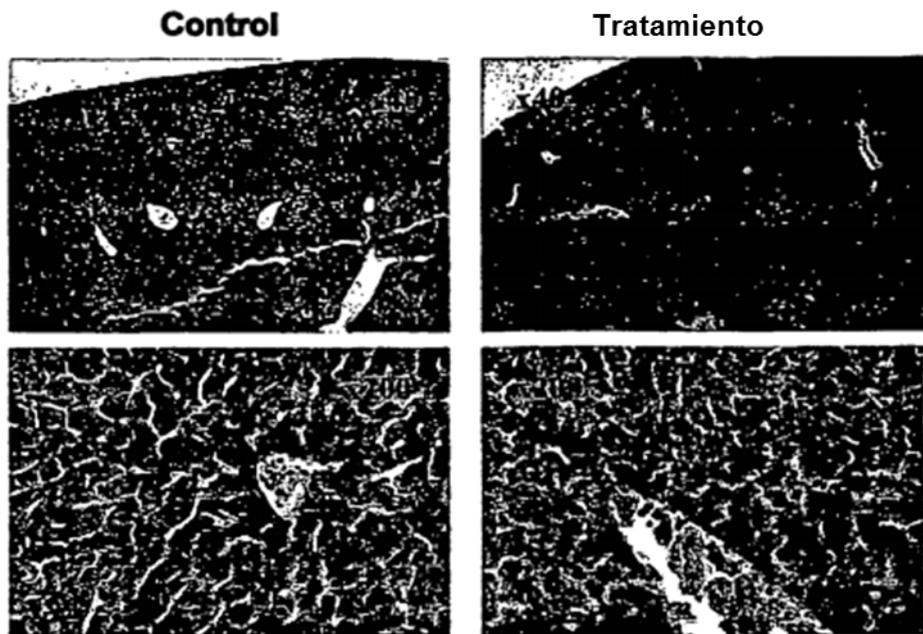


Figura 10A

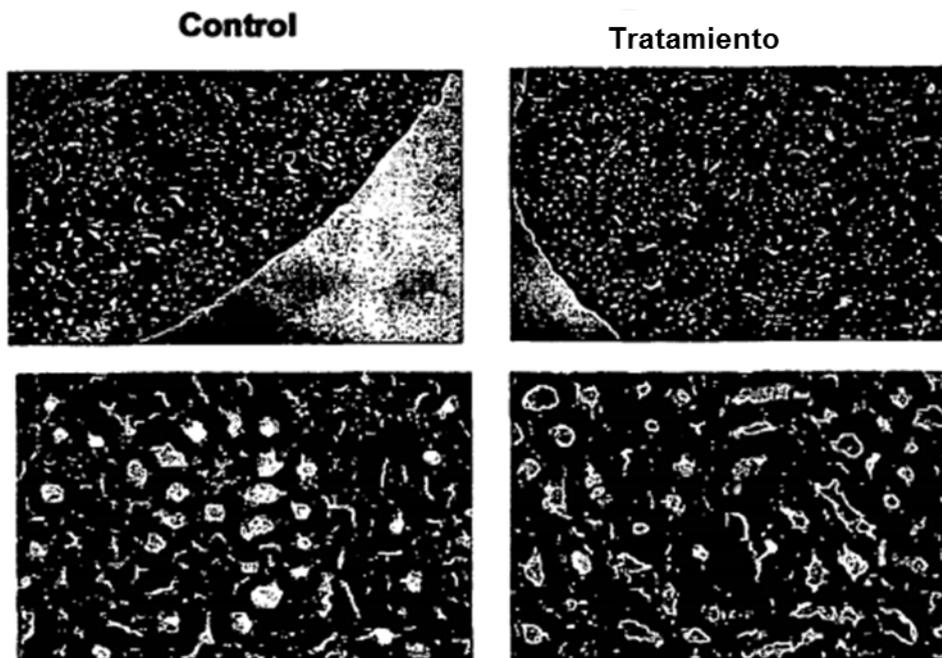


Figura 10B

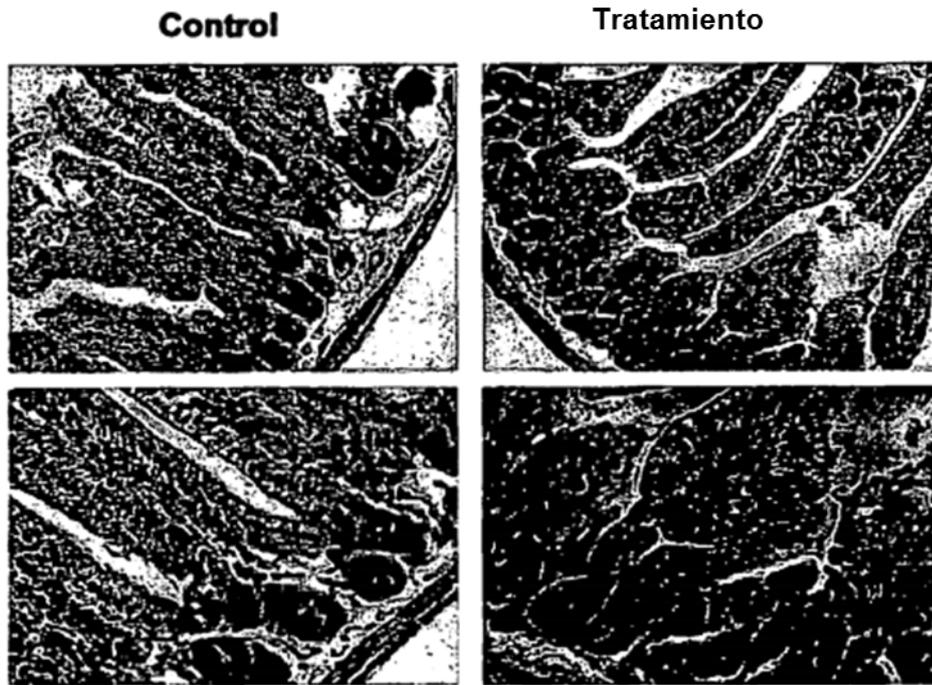


Figura 10C

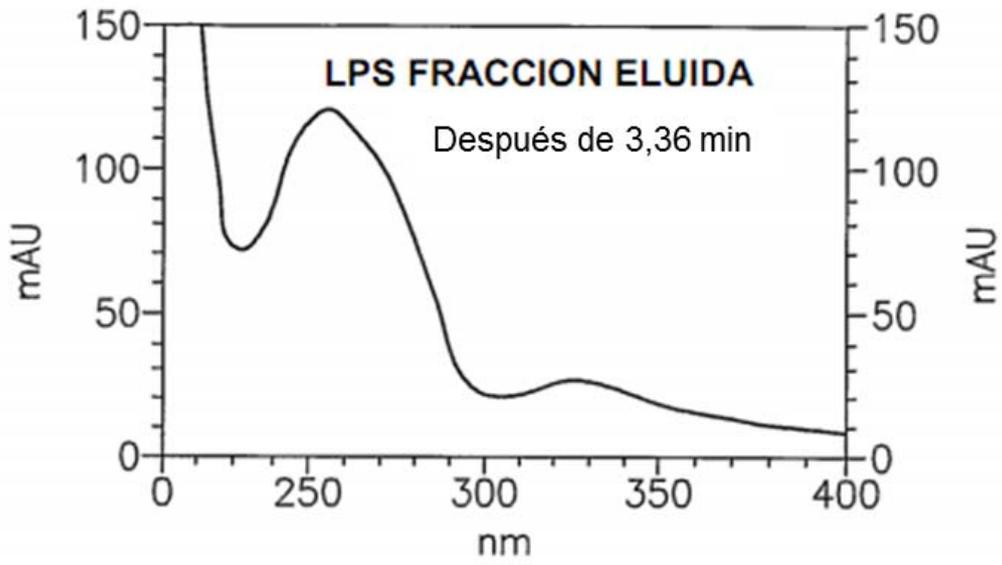


Figura 11A

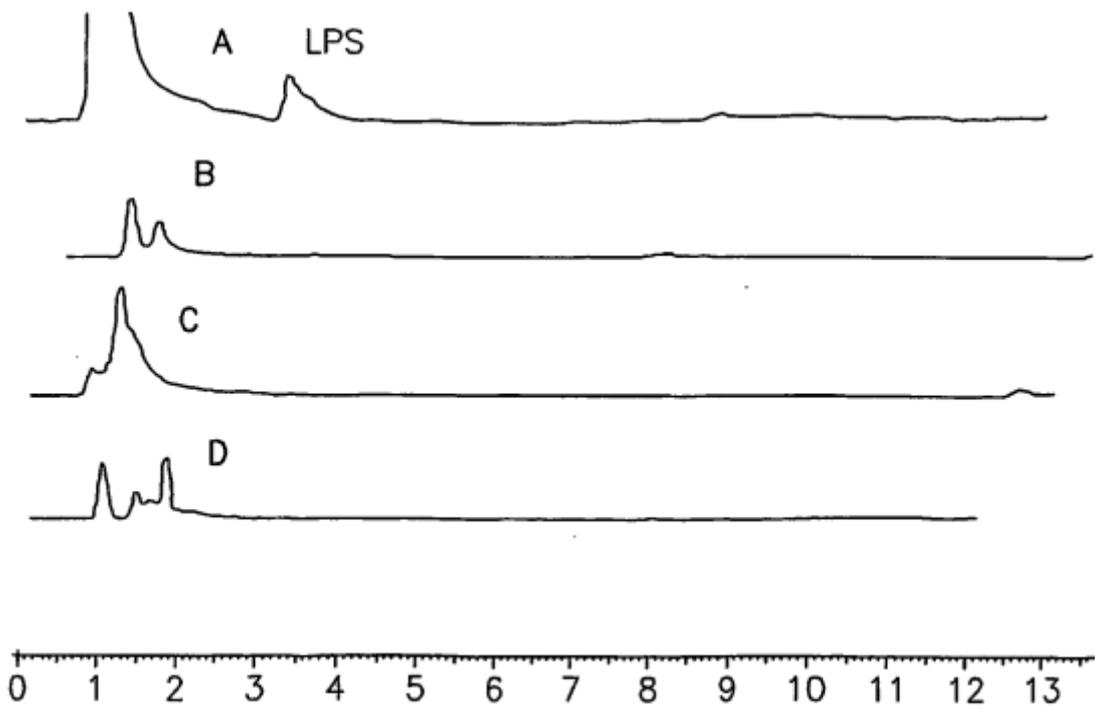


Figura 11B

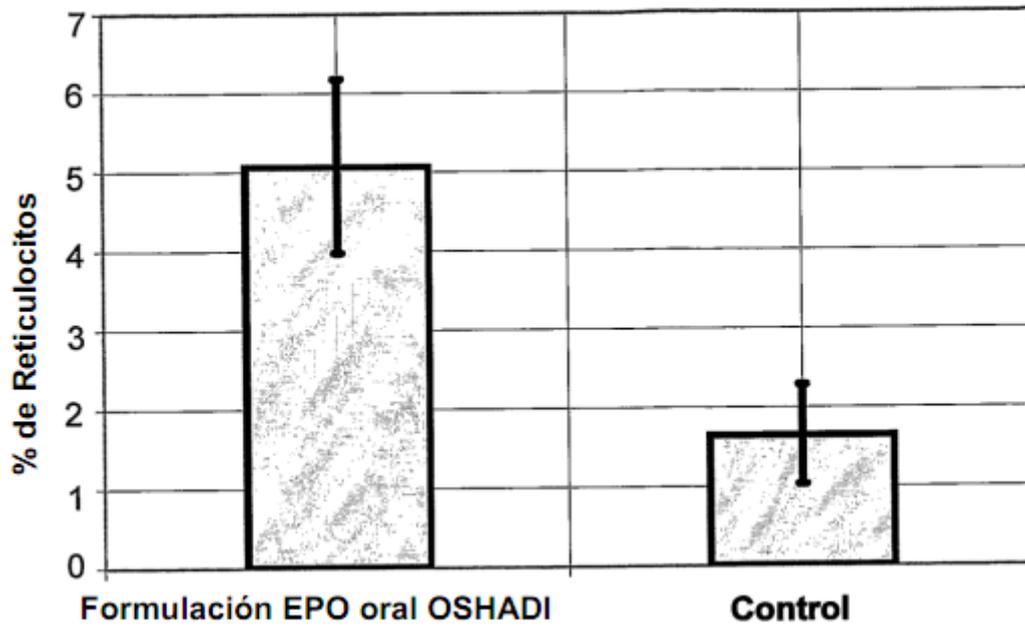


Figura 12

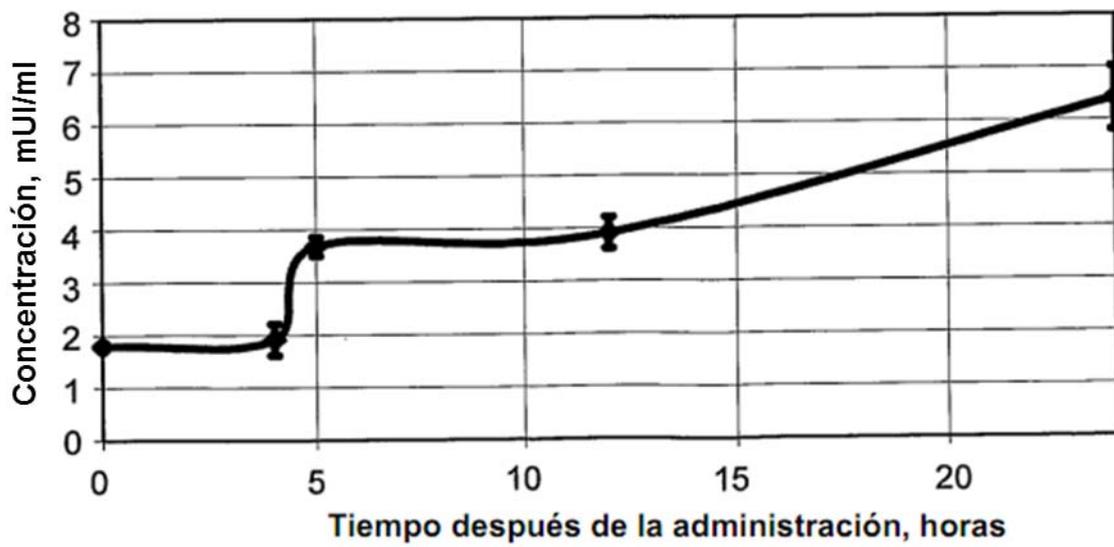


Figura 13

Ac-DKWKAVYDKFAEAFKEFL-NH₂

Ac-DWLKAFYDKVAEKFKAEF-NH₂



Figura 14