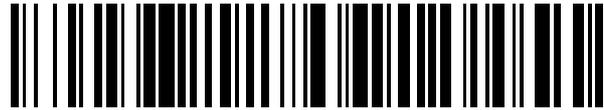


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 411 961**

51 Int. Cl.:

A61K 9/50

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.11.2003 E 03810828 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.04.2013 EP 1562557**

54 Título: **Vehículos de suministro en forma de geoda**

30 Prioridad:

01.11.2002 US 422989 P

14.01.2003 US 440284 P

29.09.2003 US 507361 P

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

09.07.2013

73 Titular/es:

**UNIVERSITY OF MEDICINE AND DENTISTRY OF
NEW JERSEY (100.0%)**

**1 World's Fair Drive, Suite 2100
Somerset, NJ 08873, US**

72 Inventor/es:

MANNINO, RAPHAEL J.;
KRAUSE, SARA L.;
GOULD-FOGERITE, SUSAN;
DELMARRE, DAVID y
LU, RUYING

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 411 961 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

Vehículos de suministro en forma de geoda

Antecedentes

5 Los liposomas están ampliamente descritos en la bibliografía y su estructura es bien conocida. Por lo general, tienen una estructura multilaminar como la de la cebolla que comprende una pluralidad de bicapas lipídicas separadas unas de otras por material acuoso. Otro tipo de liposoma es un liposoma unilaminar, denominado algunas veces vesícula, que consiste en una sola bicapa lipídica dispuesta alrededor de un material acuoso.

10 Se conoce el uso de liposomas como portadores o vehículos para fármacos, que se pueden preparar por una variedad de métodos. Un método implica verter una película lipídica por evaporación de una solución en un disolvente orgánico, por ejemplo cloroformo, y luego dispersar la película en un medio acuoso adecuado. En el caso de compuestos biológicamente activos liposolubles, es decir, los que se asocian con las capas lipídicas en lugar de con la fase acuosa de los liposomas, el compuesto se puede verter en forma de una película junto con un fosfolípido, utilizando un disolvente orgánico común. Una desventaja de este método es que la cantidad de compuesto activo que se puede incorporar en la bicapa lipídica es limitada. Además, el método de vertido no puede ser ampliado para dar
15 cabida a grandes lotes. En el caso de compuestos biológicamente activos solubles en agua, el compuesto se asocia típicamente con los liposomas dispersando una película lipídica colada con una solución acuosa en la que está solubilizado el compuesto. Las desventajas de este método incluyen la dificultad de incorporar cantidades suficientes del compuesto activo en las vesículas y la inestabilidad y la vida útil de la dispersión. Otra desventaja de este método es la presencia de cantidades traza del disolvente utilizado en la creación de las vesículas.

20 La pérdida del compuesto biológicamente activo de los liposomas en el medio acuoso externo es otro factor que limita el potencial de estas preparaciones como formas farmacéuticas prácticas. Este es particularmente el caso no sólo de compuestos solubles en agua de bajo peso molecular, sino también de compuestos liposolubles, ambos de los cuales se pueden repartir en el medio acuoso externo hasta que se alcanza el equilibrio. Si la concentración del compuesto es pequeña y/o el volumen del medio acuoso externo es grande, esta pérdida puede representar una
25 proporción significativa de la cantidad total del compuesto biológicamente activo en los liposomas.

Sumario de la invención

La presente invención proporciona nuevos vehículos de suministro para restos de carga que son estables y capaces de suministrar cantidades deseadas de agente activo. La presente invención se basa, al menos en parte, en el descubrimiento de que se pueden preparar vehículos de suministro en forma de geoda que incluyen una monocapa lipídica formada alrededor de un dominio hidrófobo. El dominio hidrófobo puede incluir uno o más restos de carga en concentraciones previamente inalcanzables por la incorporación de agentes hidrófobos en bicapas liposómicas.
30

La presente invención se basa también, en parte, en el descubrimiento de que los vehículos de suministro pueden estar encerrados en un estrato cristalino de capas alternativas de cationes y láminas lipídicas. La incrustación se puede eliminar opcionalmente antes de la administración o administrarse en un estado incrustado. La presente invención proporciona además nuevos métodos de fabricación de vehículos de suministro, incluyendo vehículos en emulsión y en forma cristalizada. Los vehículos incrustados o cristalizados se pueden añadir convenientemente y de forma estable a otras preparaciones, tales como alimentos, y retener su integridad hasta que sean ingeridos, reteniendo el resto de carga en un estado estable, no degradado. También se describen métodos de administración e incorporación.
35

40 Por lo tanto, en una realización, la presente invención proporciona un vehículo de suministro en forma de geoda para un resto de carga que incluye una monocapa lipídica dispuesta alrededor de un dominio hidrófobo y un estrato lipídico dispuesto alrededor de la monocapa lipídica. En otra realización, la invención proporciona un vehículo de suministro en forma de geoda para un resto de carga que incluye una monocapa lipídica dispuesta alrededor de un dominio hidrófobo, en el que la monocapa lipídica incluye un fosfolípido.

45 En algunas realizaciones, el vehículo de suministro en forma de geoda de la presente invención se pone en suspensión en un medio acuoso. Adicional o alternativamente, el vehículo de suministro en forma de geoda se pone en suspensión en una emulsión. En otra realización, el vehículo de suministro en forma de geoda está en forma de polvo.

50 En algunas realizaciones, el vehículo de suministro en forma de geoda incluye un resto de carga asociado con el vehículo de suministro en forma de geoda. En una realización, el resto de carga está asociado con el dominio hidrófobo. En otra realización, el dominio hidrófobo es un resto de carga. En una tercera realización, el resto de carga está asociado con la monocapa lipídica o el estrato lipídico. En una cuarta realización, el dominio hidrófobo incluye un resto de carga asociado con un aceite o grasa. En realizaciones preferidas, el resto de carga es una vitamina, un mineral, un nutriente, un micronutriente, un aminoácido, una toxina, un microbicida, un microbiostático, un co-factor, una enzima, un polipéptido, un agregado de polipéptidos, un polinucleótido, un lípido, un carbohidrato, un nucleótido,
55 un almidón, un pigmento, un ácido graso, un ácido graso monoinsaturado, un ácido graso poliinsaturado, una sus-

tancia aromatizante, un aceite esencial o extracto aromatizado, una hormona, una citoquina, un virus, un orgánulo, una estructura esteroide u otra de múltiples anillos, un sacárido, un metal, un veneno metabólico, un antígeno, un agente de formación de imagen, una porfirina, un pigmento tetrapirrólico o un fármaco.

5 En un aspecto de la invención, el lípido incluye un fosfolípido cargado negativamente. Preferiblemente, el lípido incluye al menos aproximadamente 50% de lípido cargado negativamente y, más preferiblemente, el lípido incluye al menos aproximadamente 75% de lípido cargado negativamente.

En algunas realizaciones, el vehículo de suministro en forma de geoda incluye un inhibidor de la agregación. Preferiblemente, el inhibidor de la agregación es caseína o metilcelulosa.

10 En un aspecto, la presente invención proporciona un vehículo de suministro en forma de geoda envasado con instrucciones para la incorporación de un resto de carga. En otro aspecto, la invención proporciona un vehículo de suministro en forma de geoda envasado con instrucciones para añadir el vehículo a un alimento, bebida o producto para cuidado personal.

15 En otro aspecto, la presente invención proporciona un producto alimenticio que contiene un vehículo de suministro en forma de geoda. El producto alimenticio puede ser un producto alimenticio para animales, un producto alimenticio para seres humanos, una barra nutritiva, un aperitivo, una bebida, un alimento para animales domésticos, un alimento para peces, un alimento para aves de corral, un alimento para animales de compañía, un alimento para perros o un alimento para gatos.

20 Incluso en otro aspecto, la presente invención proporciona un producto para el cuidado personal que contiene un vehículo de suministro en forma de geoda. El producto para el cuidado personal puede ser un producto para el cuidado del cabello o un producto para el cuidado de la piel.

En otras realizaciones, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que incluye un vehículo de suministro en forma de geoda y un portador farmacéuticamente aceptable.

25 En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para tratar a un sujeto que pueda beneficiarse de la administración de un resto de carga, que comprende la etapa de administrar a un sujeto un vehículo de suministro en forma de geoda que comprende un resto de carga. La vía de administración puede ser mucosa, sistémica, oral, intranasal, intraocular, intrarrectal, intravaginal, intrapulmonar, intravenosa, intramuscular, subcutánea, transdérmica o intradérmica. En algunas realizaciones, el resto de carga se administra para tratar inflamación, dolor, infección, infección fúngica, infección bacteriana, infección viral, trastornos parasitarios, trastorno inmunológico, trastornos genéticos, enfermedades degenerativas, cáncer, diabetes, insomnio, trastornos proliferantes, obesidad, depresión, pérdida del cabello, impotencia, hipertensión, hipotensión, demencia, demencia senil o malnutrición. En otras reali-
30 zaciones, el sujeto puede beneficiarse de la administración de un nutriente y el resto de carga es un nutriente.

35 En otra realización, la presente invención proporciona un método para fabricar un vehículo de suministro en forma de geoda para un resto de carga mezclando un lípido, una solución acuosa y un material hidrófobo, de tal manera que una monocapa lipídica se disponga alrededor de un dominio hidrófobo. En otra realización, el vehículo de suministro en forma de geoda puede incluir adicionalmente un resto de carga. Todavía en otra realización, se puede formar un estrato lipídico alrededor de la monocapa lipídica añadiendo un catión multivalente. Preferiblemente, el catión multivalente incluye calcio.

40 En algunas realizaciones, el vehículo de suministro en forma de geoda se seca para formar un polvo. En otras realizaciones, el vehículo de suministro en forma de geoda se asocia con un portador farmacéuticamente aceptable. Incluso en otras realizaciones, el vehículo de suministro en forma de geoda se añade a un producto alimenticio o a un producto para el cuidado personal.

La presente invención también proporciona un método para formar un vehículo de suministro en forma de geoda para un resto de carga mezclando un lípido que incluye un fosfolípido con un material hidrófobo, de tal modo que se forme un vehículo de suministro en forma de geoda.

45 **Breve descripción de los dibujos**

La *Figura 1* representa un método ilustrativo para fabricar un vehículo de suministro en forma de geoda de acuerdo con la presente invención.

Las *Figuras 2A-D* son cuatro imágenes de dioleoil-fosfatidilserina (abreviadamente DOPS por la expresión inglesa *dioleoyl phosphatidylserine*) y aceite de oliva interaccionando con un tampón acuoso.

50 Las *Figuras 3A-B* son dos imágenes de vehículos de suministro en forma de geoda ilustrativos que incluyen una monocapa de DOPS dispuesta alrededor de anfotericina B en aceite de oliva.

La *Figura 4* es una imagen de un vehículo de suministro en forma de geoda de DOPS que incluye una monocapa de DOPS alrededor de anfotericina B fluorescente interaccionando con aceite de oliva.

Las Figuras 5 y 6 son imágenes de un estrato lipídico que tiene incrustado aceite de oliva, donde el lípido incluye DOPS marcada con rodamina.

Las Figuras 7 y 8 son imágenes de un vehículo de suministro en forma de geoda que incluye una monocapa de DOPS fluorescente dispuesta alrededor de aceite de oliva, después de liberarse de un estrato lipídico.

- 5 La Figura 9 representa otro método ilustrativo para fabricar un vehículo de suministro en forma de geoda de acuerdo con la presente invención.

Las Figuras 10A y B son dos imágenes de una emulsión estable de beta-caroteno/aceite/lípido en medios acuosos.

La Figura 11 es una imagen de una emulsión estable de beta-caroteno en aceite de soja y lípido dispersa en un medio acuoso.

- 10 Las Figuras 12A y B son dos imágenes de geodas de beta-caroteno-aceite preparadas de acuerdo con la presente invención.

Las Figuras 13A-D son imágenes de geodas de beta-caroteno preparadas de acuerdo con la presente invención. Las Figuras 13A y 13B representan geodas en suspensión y las Figuras 13C y 13D representan las mismas formulaciones después de la adición de EDTA.

- 15 Las Figuras 14A-D son imágenes de geodas de beta-caroteno extraídas de una suspensión en un aparato de secado comercial. Las Figuras 14A y 14D son imágenes de geodas extraídas mediante secado por pulverización y las Figuras 14B y 14C son imágenes de geodas extraídas mediante secado en lecho fluido.

La Figura 15 es un gráfico que muestra la estabilidad de geodas de beta-caroteno en suspensión, después de secado por pulverización y después de secado en lecho fluido.

- 20 La Figura 16 incluye dos gráficos que representan la estabilidad de diversas formulaciones de geodas de beta-caroteno en un período de 20 días.

La Figura 17 es un gráfico que muestra la estabilidad de geodas de beta-caroteno en suspensión y después de secado por pulverización.

La Figura 18 es una imagen de un mollete que contiene geodas de beta-caroteno.

- 25 La Figura 19 es una imagen de geodas de beta-caroteno aplicadas tópicamente a la palma de la mano.

Descripción detallada de la invención

La invención se basa, en parte, en el descubrimiento de una monocapa lipídica que se formará alrededor de un dominio hidrófobo y que esta estructura puede emplearse para suministrar una variedad de restos de carga.

- 30 Una de las ventajas de la presente invención es que los restos de carga se pueden incorporar en el vehículo de suministro en forma de geoda a altas concentraciones. Otra ventaja de la presente invención es la capacidad de incorporar múltiples restos de carga en un vehículo de suministro en forma de geoda. La incorporación en un vehículo de suministro en forma de geoda también es ventajosa debido a que proporciona al resto de carga una protección tanto frente al medio ambiente, por ejemplo, agua y oxígeno, como también frente al estómago. Además, el vehículo de suministro en forma de geoda protege al estómago del resto de carga. La presente invención es ventajosa debido a que la formulación de vehículos de suministro en forma de geoda no implica disolvente. La presente invención también es ventajosa debido a que los vehículos de suministro en forma de geoda resultantes son altamente estables, por ejemplo, pueden soportar temperatura y presión extremas. Otra ventaja de la presente invención es la capacidad del vehículo de suministro en forma de geoda de enmascarar el sabor y/o el mal olor de los restos de carga.

- 40 Con el fin de describir más clara y concisamente la materia objeto de las reivindicaciones, las siguientes definiciones tienen por objeto proporcionar orientación en cuanto al significado de los términos específicos utilizados en la siguiente descripción escrita, los ejemplos y las reivindicaciones que se acompañan.

- 45 La expresión "vehículo de suministro en forma de geoda" se refiere a un vehículo de suministro para un resto de carga. Vehículos de suministro en forma de geoda incluyen generalmente una monocapa lipídica dispuesta alrededor de un dominio hidrófobo. Un "dominio hidrófobo" es una composición que tiene una naturaleza suficientemente hidrófoba para permitir la formación de una monocapa lipídica alrededor de su periferia. Un dominio hidrófobo puede ser en sí mismo uno o más restos de carga, o puede incluir una composición hidrófoba, tal como aceite o grasa, asociada con el resto de carga, que puede ser, por ejemplo, un agente hidrófobo o anfífilo.

- 50 El término "monocapa lipídica" se refiere generalmente a una capa que contiene lípidos de una molécula de espesor (en contraste con bicapas lipídicas que son de dos moléculas de espesor). Una monocapa lipídica puede contener

más elementos, tales como colesterol, esteroides o proteínas. En contraste, "liposomas" se refieren a vesículas definidas por bicapas lipídicas (dos moléculas de espesor) en una estructura unilaminar o multilaminar.

5 En un aspecto de la invención, la monocapa lipídica incluye y/o se compone principalmente de lípidos cargados negativamente. Cuando se forma un estrato lipídico, el catión multivalente forma un puente catiónico entre el lípido cargado negativamente en la monocapa y el lípido cargado negativamente en los liposomas. En otra realización, la monocapa lipídica está compuesta principalmente de lípidos cargados positivamente. En este caso, los grupos en cabeza interaccionan con el lípido cargado negativamente en el estrato. Incluso en otra realización, la monocapa lipídica está compuesta principalmente de lípidos neutros. El dominio hidrófobo revestido, en esta realización está atrapado dentro del estrato lipídico, pero no interacciona iónicamente con el estrato.

10 El término "estrato lipídico" se refiere a una estructura de capas laminares de lípidos y cationes alternativas. Un estrato lipídico se pueden formar introduciendo un catión en una emulsión que contiene liposomas. El estrato lipídico no sólo bloquea el dominio hidrófobo dentro de la monocapa lipídica en forma de geoda, sino que puede asociarse el mismo con un resto de carga (por ejemplo, un agente hidrófilo dispuesto dentro del estrato lipídico). En una realización, el estrato lipídico atrapa un dominio hidrófobo. En otra, el estrato lipídico atrapa un dominio hidrófobo dispuesto dentro de una monocapa lipídica.

15 La expresión "resto de carga" se refiere a cualquier compuesto que tenga una propiedad de interés biológico. El agente puede ser, por ejemplo, orgánico o inorgánico, un monómero o un polímero, endógeno a un organismo hospedante o no, de origen natural o sintetizado *in vitro* y similares. Por lo tanto, los ejemplos incluyen, vitaminas, minerales, nutrientes, micronutrientes, aminoácidos, toxinas, microbicidas, microbiostáticos, co-factores, enzimas, polipéptidos, agregados de polipéptidos, polinucleótidos, lípidos, carbohidratos, nucleótidos, almidones, pigmentos, ácidos grasos, ácidos grasos monoinsaturados, ácidos grasos poliinsaturados, aromatizantes, aceites esenciales o extractos, hormonas, citoquinas, virus, orgánulos, esteroides y otras estructuras de múltiples anillos, sacáridos, metales, medicamentos, proteínas, compuestos marcadores, agentes de formación de imágenes, antígenos, porfirinas, pigmentos tetrapirrólicos, venenos metabólicos, fármacos y similares.

20 Los métodos de esta invención son particularmente útiles en el caso de restos de carga hidrófobos y agentes que se puedan asociar y/o incorporar a una fase hidrófoba, por ejemplo, mediante unión o mezcla con un vehículo hidrófobo. Los restos de carga también se pueden incorporar a un estrato lipídico de la presente invención. Por lo tanto, se pueden emplear terapias de combinación suministrando uno o más agentes activos (por ejemplo, agentes hidrófobos y anfífilos) asociados con el dominio hidrófobo y uno o más agentes activos (por ejemplo, agentes hidrófilos) asociados con el estrato lipídico.

25 En una realización, la invención proporciona un vehículo de suministro en forma de geoda para un resto de carga, que incluye una monocapa lipídica dispuesta alrededor de un dominio hidrófobo y un estrato lipídico dispuesto alrededor de la monocapa lipídica. En otra realización, la invención proporciona un vehículo de suministro en forma de geoda para un resto de carga que incluye una monocapa lipídica dispuesta alrededor de un dominio hidrófobo y en el que la monocapa lipídica incluye al menos un fosfolípido.

30 En una realización, el vehículo de suministro en forma de geoda puede estar en suspensión en un medio acuoso, por ejemplo, una emulsión. En realizaciones alternativas, el vehículo de suministro en forma de geoda está en forma de polvo.

35 El dominio hidrófobo es una composición hidrófoba que puede ser un portador para uno o más restos de carga, o el resto de carga o agentes propiamente dichos. Es decir, el dominio hidrófobo puede ser un portador hidrófobo (por ejemplo, aceite de oliva o aceite de soja) asociado con un resto de carga (por ejemplo, un agente antifúngico, tal como anfotericina, un compuesto marcador, tal como rodamina, y/o nutrientes, tales como beta-caroteno y alfa-tocoferol). Alternativamente, el dominio hidrófobo puede ser el propio resto de carga, por ejemplo, un nutriente, tal como un ácido graso omega 3, o un fármaco hidrófobo. Alternativamente, el dominio hidrófobo puede ser uno o más restos de carga que actúan como un portador para otros restos de carga.

40 En una realización, el dominio hidrófobo está presente en un intervalo entre aproximadamente 1% y 99%, preferiblemente entre aproximadamente 1% y aproximadamente 75%, más preferiblemente entre aproximadamente 10% y aproximadamente 30% en peso de la composición final de la geoda.

45 Los términos "incrustado", "cristalizado" y "cristalino" se refieren en general a un estrato lipídico sólido o semi-sólido formado alrededor de uno o más dominios hidrófobos.

50 Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "alimento" se refiere a cualquier producto o productos adecuados para el consumo por un ser humano o un animal.

55 El término "suministro", como se usa en la presente memoria, se refiere a cualquier medio para llevar o transportar un resto de carga a un hospedante, un producto alimenticio, una formulación, una composición farmacéutica o cualquier otro sistema, en el que el resto de carga mantiene al menos una parte de la actividad que tenía cuando se

formuló por primera vez en la estructura en forma de geoda. Por lo tanto, por ejemplo, en una geoda de beta-caroteno, el beta-caroteno retiene alguna actividad dentro de la geoda hasta que se utiliza.

Los vehículos de suministro de la presente invención se refieren a dominios hidrófobos encapsulados o atrapados en un vehículo estable. En un aspecto, la invención se caracteriza por una monocapa lipídica dispuesta alrededor de un dominio hidrófobo, que puede ser parte de una emulsión estable y/o estar atrapada en estratos lipídicos. En otro aspecto, el vehículo de suministro en forma de geoda se caracteriza por un estrato lipídico dispuesto alrededor de un dominio hidrófobo y es opcional una monocapa lipídica.

El dominio hidrófobo puede ser en sí mismo uno o más restos de carga o puede incluir una composición hidrófoba (por ejemplo, aceite o grasa) asociada con el resto de carga, que puede ser, por ejemplo, un agente hidrófobo o anfífilo. Si el agente es anfífilo, se puede asociar tanto con el dominio hidrófobo como con el lípido. También se pueden suministrar otros restos de carga asociándolos con un estrato lipídico, pudiéndose así efectuar terapias de combinación. El resto de carga se puede asociar con el dominio hidrófobo, la monocapa lipídica y/o el estrato lipídico.

El resto de carga puede ser un agente de diagnóstico, tal como un agente de formación de imagen. Agentes de formación de imágenes incluyen agentes nucleares y porfirinas. Las porfirinas incluyen agentes o pigmentos tetrapirrólicos. Uno de dichos agentes tetrapirrólicos es tetrafenilporfirina de zinc (ZnTPP), que es una molécula fluorescente hidrófoba que tiene alta absorción en el espectro visible (púrpura oscuro).

El resto de carga puede ser un polinucleótido que se expresa produciendo un polipéptido biológicamente activo o ser un polinucleótido biológicamente activo. Por lo tanto, el polipéptido puede servir como un inmunógeno o, por ejemplo, tener actividad enzimática. El polinucleótido puede tener actividad catalítica, por ejemplo, ser un ribosoma, o puede servir como un inhibidor de la transcripción o de la traducción, por ejemplo, un pequeño RNA de interferencia (siRNA). El polinucleótido puede ser una molécula antisentido incluyendo una molécula antisentido modificada, tal como una molécula antisentido con morfolino. El polinucleótido se puede modificar, por ejemplo, se puede sintetizar de modo que tenga una cadena principal de morfolino. Si se expresa, el polinucleótido incluye preferiblemente los elementos reguladores necesarios, tales como un promotor, como se conoce en la técnica. Un ejemplo específico de un polipéptido es la insulina. El resto de carga puede ser una molécula orgánica que sea hidrófoba en medios acuosos. El resto de carga puede ser una molécula catiónica polivalente soluble en agua.

El resto de carga puede ser un fármaco, tal como, una proteína, un péptido pequeño, un polinucleótido bioactivo, un antibiótico, un antiviral, un anestésico, un anti-infeccioso, un antifúngico, un anticanceroso, un inmunosupresor, un antiinflamatorio esteroideo, un anti-inflamatorio no-esteroideo, un antioxidante, un antidepresivo que puede ser sintético o de origen natural, una sustancia que soporta o mejora la función mental o inhibe el deterioro mental, un anti-convulsivante, un inhibidor de la proteasa del VIH, un inhibidor no nucleófilo de transcriptasa inversa, una citoquina, un tranquilizante o un agente vasodilatador. El fármaco también puede ser cualquier medicamento de venta sin receta (venta libre). Los ejemplos incluyen anfotericina B, aciclovir, adriamicina, carbamazepina, ivermectina, melfalán, nifedipino, indometacina, curcumina, aspirina, ibuprofeno, naproxeno, acetaminofeno, rofecoxib, diclofenaco, ketoprofeno, meloxicam, nabumetona, estrógenos, testosteronas, esteroides, fenitoína, ergotaminas, cannabinoides, rapamicina, propanadid, propofol, alfadona, equinomicina, nitrato de miconazol, tenipósido, hexametilmelamina, taxol, taxotere, 18-hidroxidesoxicorticosterona, prednisolona, dexametasona, cortisona, hidrocortisona, piroxicam, diazepam, verapamilo, vancomicina, tobramicina, nistatina, rifampicina, geldanamycin, tirfostina, inhibidores de la síntesis de glucano, ácido de la vitamina A, mesalamina, risedronato, nitrofurantoína, dantroleno, etidronato, caspofungina, nicotina, amitriptilina, clomipramina, citalopram, dotepina, doxepina, fluoxetina, imipramina, lofepramina, mirtazapina, nortriptilina, paroxetina, reboxitina, sertralina, trazodona, venlafaxina, dopamina, hipérico, fosfatidilserina, ácido fosfatídico, amastatina, antipaína, bestatina, benzamidina, quimostatina, 3,4-dicloroisocumarina, elastatinal, leupeptina, pepstatina, 1,10-fenantrolina, fosforamidón, etosuximida, etotoína, felbamato, fosfenitoína, lamotrigina, levitracetam, mefenitoína, metsuximida, oxcarbazepina, fenobarbital, fensuximida, primidona, topiramato, trimetadiona, zonisamida, saquinavir, ritonavir, indinavir, nelfinavir o amprenavir.

El fármaco puede ser un polipéptido, tal como ciclosporina, angiotensina I, II y III, encefalinas y sus análogos, ACTH, péptidos anti-inflamatorios I, II, III, bradiquinina, calcitonina, b-endorfina, dinorfina, leucoquinina, hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH), insulina, neuroquininas, somatostatina, sustancia P, hormona liberadora de tirotrina (TRH) y vasopresina.

El fármaco puede ser un antígeno, aunque sin limitación un antígeno proteico. El antígeno puede ser también un carbohidrato o DNA. Ejemplos de proteínas antigénicas incluyen proteínas de membrana, glicoproteínas de la envoltura de virus, proteínas de células animales, proteínas de células de plantas, proteínas bacterianas y proteínas parasitarias.

El antígeno se puede extraer de partícula, célula, tejido u organismo fuente por métodos conocidos. La actividad biológica del antígeno no necesita ser mantenida. Sin embargo, en algunos casos (por ejemplo, cuando una proteína tiene actividad de fusión con membranas o de unión a ligandos o una conformación compleja que es reconocida por el sistema inmunitario), es deseable que mantenga la actividad biológica. En estos casos, se emplea un tampón de extracción que contiene un detergente que no destruye la actividad biológica de la proteína de membranas. Los

detergentes adecuados incluyen detergentes iónicos, tales como sales colato, sales desoxicolato y similares o detergentes de polioxietileno heterogéneos, tales como Tween, BRIG o Triton.

5 El resto de carga puede ser un nutriente incluyendo, aunque sin limitación, licopeno, micronutrientes, tales como agentes fitoquímicos o zooquímicos, vitaminas, minerales, ácidos grasos, aminoácidos, aceites de pescado, extractos de aceite de pescado y sacáridos, productos vegetales, aceites esenciales o minerales. Los ejemplos específicos incluyen vitaminas A, B, B1, B2, B3, B12, B6, complejo B, C, D, E y K, precursores de vitaminas, carotenoides y beta-caroteno, resveratrol, biotina, colina, inositol, ginko, luteína, zeaxantina, quercetina, silibinina, alcohol perillíco, genisteína, sulfurofano, ácidos grasos omega-3 y omega-6, hierbas, especias y hierro. Los minerales incluyen, aunque sin limitación, boro, cromo, minerales coloidales, plata coloidal, cobre, manganeso, potasio, selenio, vanadio, sulfato de vanadilo, calcio, magnesio, bario, hierro y zinc.

10 Como se usa en la presente memoria, "micronutrientes" es un nutriente que el cuerpo debe obtener de fuentes externas. Generalmente los micronutrientes son esenciales para el cuerpo en cantidades pequeñas.

15 El resto de carga puede ser un sacárido o edulcorante, por ejemplo, sacarina, isomalta, maltodextrina, aspartamo, glucosa, maltosa, dextrosa, fructosa y sacarosa. Agentes aromatizantes incluyen aceites, aceites esenciales o extractos, incluyendo, aunque sin limitación, aceites y extractos de canela, vainilla, almendra, menta, menta verde, manzanilla, geranio, jengibre, pomelo, hisopo, jazmín, lavanda, limón, cidronela, mejorana, lima, nuez moscada, naranja, romero, salvia, rosa, tomillo, anís, albahaca, pimienta negra, té o extractos de té, una hierba, un cítrico, una especia o una semilla.

20 En una realización, el resto de carga está presente en un intervalo entre aproximadamente 1% y 99% de la composición final. En una realización, el resto de carga está presente en un intervalo entre aproximadamente 1% y aproximadamente 30% en peso de la composición final de la geoda. En otra realización, un segundo resto de carga se incorpora adicionalmente en la estructura de la geoda, en un intervalo entre aproximadamente 0,1% y aproximadamente 90% en peso de la composición final de la geoda. En una realización, el segundo resto de carga está presente en un intervalo entre aproximadamente 1% y aproximadamente 10%, más preferiblemente entre aproximadamente 1% y aproximadamente 5%.

25 En una realización, el resto de carga se incorpora en el dominio hidrófobo en un intervalo entre aproximadamente 0,1% y aproximadamente 99% del dominio hidrófobo. En una realización preferida, el intervalo está entre aproximadamente 0,1% y aproximadamente 50%. Más preferiblemente, la relación está entre aproximadamente 1% y aproximadamente 25%. En otra realización, un segundo resto de carga también se incorpora en el dominio hidrófobo en un intervalo entre aproximadamente 1% y aproximadamente 90%. En otra realización, el resto de carga es el dominio hidrófobo.

30 En una realización, el dominio hidrófobo está presente en un intervalo entre aproximadamente 1% y aproximadamente 99% de la composición total. En una realización preferida, el dominio hidrófobo está presente en un intervalo entre aproximadamente 1% y aproximadamente 50% de la composición total. Más preferiblemente, el dominio hidrófobo está presente en un intervalo entre aproximadamente 5% y aproximadamente 35%.

35 Los lípidos adecuados para uso en la formación de la monocapa lipídica (y los liposomas descritos a continuación) incluyen, aunque sin limitación, fosfolípidos, tales como lecitina de soja, lecitina parcialmente refinada, fosfolípidos hidrogenados, lisofosfato, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina (PS), fosfatidilinositol, cardiolipina, esfingolípidos, gangliósidos, cerebrósidos, ceramidas, fosfolípidos de soja, otros análogos de éster de fosfatidilcolina, fosfolípidos sintéticos, derivados de fosfatidiletanolamina y fosfolípidos con cadenas de ácidos grasos parcial o totalmente fluorados. Preferiblemente, el lípido es un fosfolípido cargado negativamente, tal como fosfatidilserina. Fosfatidilserinas preferidas incluyen PS de soja y dioleoil-PS (DOPS). El lípido puede incluir también fosfolípido fluorescente.

40 Además, los fosfolípidos sintéticos que contienen ya sea porciones alifáticas alteradas, tales como grupos hidroxilo, cadenas de carbono ramificadas, derivados cíclicos, derivados aromáticos, éteres, amidas, derivados poliinsaturados, derivados halogenados, o ya sea porciones hidrófilas alteradas que contienen grupos carbohidratos, glicol, fosfato, fosfonato, amina cuaternaria, sulfato, sulfonato, carboxi, amina, sulfhidrilo, imidazol y combinaciones de dichos grupos, pueden estar sustituidos o entremezclados con otros fosfolípidos conocidos por los expertos en la técnica.

45 El lípido empleado en la presente invención incluye preferiblemente uno o más lípidos cargados negativamente. Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "lípido cargado negativamente" incluye lípidos que tienen un grupo en cabeza que lleva una carga negativa formal en solución acuosa a un pH ácido o fisiológico, y también incluye los lípidos que tienen un grupo en cabeza de ion híbrido.

50 En una realización, el lípido es una mezcla de lípidos, que comprende al menos 50% de lípidos cargados negativamente. En otra realización, el lípido comprende al menos 75% de lípidos cargados negativamente. En otras realizaciones, el lípido comprende al menos 85%, 90%, 95% o incluso 99% de lípidos cargados negativamente. Se entien-

de que todos los intervalos y valores entre 40% y 100% de lípidos cargados negativamente están abarcados en la presente memoria.

En una realización preferida, la monocapa lipídica formada alrededor del dominio hidrófobo es una monocapa de lípidos predominantemente con carga negativa. En una realización preferida, el estrato lipídico se puede formar por la adición de un catión a la emulsión.

En otra realización, la monocapa lipídica formada alrededor del dominio hidrófobo es una monocapa de lípidos predominantemente con carga positiva. En otra realización, el estrato lipídico se puede formar por la adición de un anión a la emulsión.

Si el vehículo de suministro está en suspensión en una emulsión estable, la solución puede contener liposomas u otras estructuras lipídicas para estabilizar aún más la emulsión, por ejemplo, para reducir o eliminar la agregación o coalescencia dentro de la emulsión. La solución también puede incluir otros aditivos para evitar la agregación, para facilitar la asociación de restos de carga con los dominios hidrófobos y/o para evitar la migración del agente activo de los vehículos de suministro de la presente invención. Si se forman estratos lipídicos alrededor de los dominios hidrófobos en una emulsión, los vehículos se pueden utilizar en una emulsión o ser extraídos para utilidad en una forma sólida o semi-sólida, tal como una pasta o un polvo.

La monocapa lipídica es ventajosa debido a que moléculas grandes y/o cargadas tienen dificultad para atravesarla. Por lo tanto se inhibe o evita que restos de carga salgan del dominio a través de la monocapa. El estrato lipídico es ventajoso ya que normalmente es no atravesable para los restos de carga que están inmovilizados o atrapados por él en el dominio hidrófobo. Otra de las ventajas tanto para la monocapa como para el estrato lipídico es que el resto de carga está protegido del medio ambiente y el medio ambiente está protegido del resto de carga. Tanto las emulsiones como el estrato lipídico son estables, lo que permite no sólo el almacenamiento y suministro convenientes de los agentes, sino también un medio conveniente de incorporación de los mismos en las composiciones, tales como alimentos o composiciones farmacéuticas.

Un estrato lipídico incluye liposomas y cationes y se puede formar a partir de liposomas por exposición a cationes. Los cationes y los liposomas se alinean formando una estructura apilada o enrollado que captura y retiene o incrusta uno o más dominios hidrófobos. El catión es preferiblemente un catión multivalente. El catión puede ser un catión divalente, tal como Ca^{++} , Zn^{++} , Ba^{++} y Mg^{++} . El catión también puede ser un resto de carga multivalente.

Los dominios hidrófobos, con o sin una monocapa lipídica dispersada alrededor de dichos dominios hidrófobos, pueden ser liberados de los estratos lipídicos cuando se desee por exposición de la estructura lipídica cristalina a un agente quelante, tal como EDTA, ácido ascórbico y/o ácido cítrico. El agente quelante sirve para romper la estructura cristalina proporcionando una monocapa lipídica desincrustada que encapsula un glóbulo hidrófobo. El agente quelante se puede añadir a un polvo seco y almacenarse, de modo que después de la adición de agua, el agente quelante actúe sobre la incrustación para liberar el dominio encapsulado.

Los restos de carga se pueden suministrar a diferentes velocidades, dependiendo, por ejemplo, de si el vehículo es un estrato lipídico y/o una emulsión. La elección de la conformación del catión, lípido y dominio hidrófobo puede afectar también a las velocidades y los tiempos de suministro. Por lo tanto, la velocidad de liberación de los restos de carga contenidos en ella varía e incluso puede ser escalonada, por ejemplo, si el estrato lipídico se disuelve primero *in vivo*, suministrando un primer agente, seguido del suministro de un segundo agente asociado con el dominio hidrófobo. En consecuencia, mediante el control de los ingredientes y la estructura de los vehículos descritos en la presente memoria, se pueden obtener vehículos que liberarán el resto de carga en cantidades deseadas durante un período prolongado de tiempo.

Por consiguiente, las composiciones de la invención pueden incluir uno o más restos de carga presentes o asociados con el dominio hidrófobo, la monocapa lipídica, el estrato lipídico, una emulsión estable (por ejemplo, en liposomas o medios acuosos) o cualquiera de sus combinaciones. Además, se pueden formar varias capas de precipitado alrededor de los vehículos de suministro en forma de geoda o incrustadas en ellos, con uno o más restos de carga asociados a los mismos. En consecuencia, la invención se puede emplear para terapia de combinación de fármacos y/o perfiles de liberación consecutiva o simultánea, por ejemplo, liberación por impulsos o prolongada. Por ejemplo, se puede formular un medicamento protector del estómago en el estrato lipídico para la liberación inicial, y se pueden formular uno o más fármacos anti-inflamatorios no esteroideos en el dominio hidrófobo para liberación después de que se haya liberado la medicación protectora del estómago.

La cantidad de resto de carga incorporada en los vehículos de la presente invención puede variar. Debido a las propiedades ventajosas de los vehículos, por ejemplo, la estabilidad del agente atrapado en el vehículo, se pueden utilizar menores cantidades del agente para lograr el mismo resultado final, en comparación con el uso de medios de suministro conocidos, por ejemplo, adición directa del agente al alimento.

En una realización, los vehículos de suministro en forma de geoda de la presente invención son pequeños, por ejemplo, en el intervalo de micrómetros o nanómetros. Tales vehículos de suministro en forma de geoda son particularmente ventajosos, por ejemplo, debido a que el pequeño tamaño aumenta la disponibilidad oral. Además, se pre-

fieren tamaños pequeños y algunas veces son necesarios para la administración intravenosa. Los vehículos de suministro en forma de geoda de la invención se pueden micronizar o desagregar por introducción de un inhibidor de la agregación (por ejemplo, caseína). Preferiblemente, sin embargo, los vehículos de suministro en forma de geoda se forman en el intervalo de tamaño deseado y/o la suspensión se puede micronizar antes de la adición del catión. En tales realizaciones, se puede emplear un inhibidor de la agregación para formar los vehículos de suministro en forma de geoda en un intervalo de tamaño deseado.

En una realización preferida, los vehículos de suministro en forma de geoda de la presente invención comprenden, además un inhibidor de la agregación. En una realización, se emplea un inhibidor de la agregación para obtener vehículos de suministro en forma de geoda de un tamaño deseado. El término "inhibidor de la agregación", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un agente que inhibe la agregación de un vehículo de suministro en forma de geoda con o sin un estrato lipídico y con o sin una emulsión. El inhibidor de la agregación está típicamente presente al menos sobre la superficie del vehículo de suministro en forma de geoda, y sólo puede estar presente sobre la superficie del vehículo de suministro en forma de geoda (por ejemplo, cuando el inhibidor de la agregación se introduce después de la precipitación). Los inhibidores de la agregación se pueden añadir antes, después o durante la formación del vehículo de suministro en forma de geoda. Los inhibidores de la agregación actúan, en parte, modificando las características superficiales del vehículo de suministro en forma de geoda, de tal manera que se inhibe la agregación. La agregación puede ser inhibida, por ejemplo, por el volumen estérico y/o un cambio en la naturaleza de la estructura del vehículo de suministro en forma de geoda, por ejemplo, un cambio en la hidrofobicidad de la superficie y/o carga de la superficie. El inhibidor de la agregación se puede añadir en cualquier momento en la fabricación (por ejemplo, para anticiparse a la agregación) y/o después de la fabricación (por ejemplo, para estabilizar el tamaño del precipitado y/o desagregar los precipitados).

En una realización preferida, los precipitados de la presente invención incluyen uno o más inhibidores de la agregación. El inhibidor de la agregación se puede añadir antes, durante y/o después de la precipitación. El tipo y/o cantidad de inhibidor de la agregación se pueden ajustar para obtener un tamaño de precipitado y/o distribución deseados. Adicional o alternativamente, el (los) inhibidor(es) de la agregación se puede(n) utilizar para estabilizar el tamaño del precipitado y/o la distribución de tamaños, de tal manera que se minimice o elimine la agregación de precipitados.

Inhibidores de la agregación adecuados que se pueden emplear de acuerdo con la presente invención, incluyen, aunque sin limitación, al menos uno de los siguientes: caseína, κ -caseína, leche, metilcelulosa, etilcelulosa, propilcelulosa, hidroxilcelulosa, hidroximetil-celulosa, hidroxietil-celulosa, hidroxipropil-celulosa, hidroxipropilmetil-celulosa, polivinilpirrolidona, carboximetil-celulosa, carboxietil-celulosa, pululano, poli(alcohol vinílico), alginato de sodio, polietilenglicol, poli(óxido de etileno), goma de xantán, goma de tragacanto, goma guar, , goma arábica, poli(ácido acrílico), copolímero de metacrilato de metilo, polímero de carboxivinilo, amilosa, almidón de alto contenido en amilosa, almidón de alto contenido en amilosa hidroxipropilado, dextrina, pectina, quitina, quitosán, leván, elsinán, colágeno, gelatina, zeína, gluten, carragenina, cera de carnauba, goma laca, polímeros de látex, aislado de proteínas de leche, aislado de proteínas de soja, aislado de proteínas del suero de leche y sus mezclas.

Un inhibidor de la agregación preferido es la caseína. La caseína es una proteína de unión a calcio altamente fosforilada. Sin desear vincularse a ninguna teoría particular, se cree que el calcio media una interacción entre el lípido cargado negativamente (por ejemplo, PS) y la caseína, cambiando de este modo las propiedades superficiales de los precipitados, de tal manera que se inhibe la agregación. Otro inhibidor de la agregación preferido es la leche y otros productos lácteos como leche semidesnatada, nata, etc. Otro inhibidor de la agregación preferido es metilcelulosa.

En las composiciones de la invención se puede emplear más de un inhibidor de la agregación. Por ejemplo, se pueden usar como inhibidor de la agregación tanto leche como metilcelulosa.

En una realización, las composiciones del precipitado de la invención incluyen una relación de inhibidor de la agregación a lípido entre aproximadamente 0,5:1 y aproximadamente 4:1 en peso. Preferiblemente, la relación de inhibidor de la agregación a lípido es aproximadamente 1:1. Un experto en la técnica será capaz fácilmente de determinar la cantidad de inhibidor de la agregación necesaria para formar precipitados del tamaño deseado con solo experimentación de rutina.

Las formulaciones farmacéuticas que incorporan los vehículos de suministro de la presente invención pueden estar de forma sólida incluyendo comprimidos, cápsulas, píldoras, polvos a granel o en dosis unitarias y gránulos o en forma líquida, incluyendo soluciones, emulsiones fluidas, suspensiones fluidas, semisólidos y similares. Esto es particularmente cierto cuando se usan vehículos que incluyen un estrato lipídico, puesto que la estructura cristalina protege el agente de su medio ambiente y viceversa. Además del ingrediente activo, la formulación podría comprender diluyentes, portadores, cargas, aglutinantes, emulsionantes, tensioactivos, vehículos solubles en agua, tampones, solubilizantes y conservantes adecuados reconocidos en la técnica.

Las formulaciones farmacéuticas que incorporan los vehículos de suministro de la presente invención pueden estar en forma líquida o semi-líquida incluyendo productos alimenticios, tales como bebidas para terapia o nutritivas, yo-

gur, leche, aliño de ensaladas, alimentos húmedos para animales y similares. Las emulsiones estables de la presente invención se pueden añadir directamente a dichas formulaciones.

Una ventaja de los vehículos de la presente invención es la estabilidad y la seguridad de la composición, particularmente cuando se emplean lípidos a base de soja. Por lo tanto, los vehículos de suministro en forma de geoda se pueden administrar sin problema por vía oral o por instilación, así como por las vías más tradicionales, tales como tópica, subcutánea, intradérmica, intramuscular y similares. La aplicación directa a las superficies mucosas es un medio de suministro atractivo hecho posible con los vehículos de suministro de la invención.

El experto en la materia puede determinar los medios más eficaces y terapéuticos para efectuar el tratamiento practicando la presente invención. También se puede hacer referencia a cualquiera de las numerosas autoridades y bibliografías incluyendo, por ejemplo, "Goodman & Gilman's, *The Pharmaceutical Basis for Therapeutics*", (6th ed., Goodman, et al., Eds., MacMillan Publ. Co., New York, 1980).

Los vehículos de suministro en forma de geoda de la presente invención también sirven como excelentes medios para suministrar restos de carga frágiles a un hospedante. Tales restos de carga incluyen nutrientes, vitaminas tales como vitaminas A, D, E o K, cofactores, enzimas, ácidos grasos, tales como formas poliinsaturadas, minerales incluyendo cationes divalentes, tales como calcio, magnesio, zinc, hierro o bario, agentes aromatizantes y similares. Debido a que el resto de carga está contenido dentro del vehículo, en un medio ambiente no acuoso, el agente se estabiliza y se conserva esencialmente. Las moléculas hidrófobas pueden ser parte de la estructura de suministro en forma de geoda, con poca dificultad puesto que la monocapa lipídica de la presente invención se formará alrededor de un dominio hidrófobo.

Los vehículos de suministro en forma de geoda pueden ser particularmente ventajosos para suministrar agentes a alimentos y bebidas que han de ser consumidos por seres humanos u otros animales. Por ejemplo, los alimentos para perros y gatos pueden incluir los vehículos de la presente invención para suministrar de forma estable vitaminas, agentes aromatizantes, minerales u otros nutrientes, así como medicamentos, por ejemplo, medicamentos para la alergia. Del mismo modo, los vehículos de suministro en forma de geoda de la presente invención se pueden añadir a la alimentación de animales de compañía o domésticos, tales como alimento para peces y alimentos para aves de corral, ganado vacuno y caballos. Los vehículos se pueden añadir en cualquier etapa de la preparación. Por ejemplo, los vehículos se pueden añadir en cualquier etapa en los métodos descritos en el documento WO 02/44026, que se incorpora en la presente memoria como referencia. Del mismo modo, las composiciones y métodos de la invención se pueden emplear en la comida o bebida que ha de ser consumida por seres humanos, por ejemplo, en una barra o bebida nutritiva, cereales, panes y aperitivos. En consecuencia, las preparaciones de la invención permiten la producción de preparaciones convenientes y estables de micronutrientes en los alimentos procesados, tales como alimentos de comida rápida. Típicamente, los micronutrientes potencialmente beneficiosos, por ejemplo, ácidos grasos omega y antioxidantes, pueden ser destruidos durante la fabricación y almacenamiento de los alimentos. Los vehículos de suministro de la invención protegen los micronutrientes y otros restos de carga, aumentando así el valor nutritivo y/o medicinal del alimento.

Debido a su mayor estabilidad, las composiciones y los métodos de la presente invención son particularmente útiles en alimentos que son horneados o cocidos, tales como pasteles, molletes, fideos de pasta, sopas, cereales, patatas fritas, golosinas y galletas. En una realización preferida, las composiciones se utilizan en golosinas, tales como barras de golosinas, por ejemplo, chocolatinas. Por ejemplo, las geodas de ácidos grasos omega se pueden incorporar en una chocolatina.

Los vehículos de suministro en forma de geoda se pueden añadir a productos alimenticios, por ejemplo, productos de comida rápida, en forma cristalizada o en emulsión en cualquier etapa del proceso de fabricación. El producto alimenticio puede ser un producto alimenticio para animales, un producto alimenticio para seres humanos, una barra nutritiva, un aperitivo, una bebida, un alimento para animales domésticos, un alimento para peces, un alimento para aves de corral, un alimento para animales de compañía, un alimento para perros o una alimento para gatos .

Dichos vehículos se añaden preferiblemente en una etapa donde se mantenga la integridad del vehículo de suministro hasta la ingestión o en la preparación final del producto alimenticio por el consumidor. Otra alternativa, sin embargo, puede ser usar los vehículos para mantener la estabilidad del agente hasta la incorporación en el producto, de modo que la actividad se pueda mantener durante el almacenamiento y el transporte. Incluso otra alternativa es suministrar los propios vehículos a los consumidores o profesionales, para la adición directa a los productos alimenticios, por ejemplo, medicamentos, cristales de nutrientes, aditivos, suplementos o emulsiones, de tal manera que el usuario puede variar la concentración como desee.

Los vehículos también se pueden añadir a un portador para su uso como tratamiento tópico de la piel. Los portadores adecuados permanecerían en la piel durante un período prolongado de tiempo, y serían resistentes a la transpiración o inmersión en agua. Así, por ejemplo, los vehículos se pueden añadir a aplicaciones tópicas de medicamentos, cremas hidratantes, desodorantes, bálsamos, fragancias, protectores solares y similares.

Otros ejemplos de formulaciones que pueden incluir los vehículos de suministro en forma de geoda de la invención incluyen, aunque sin limitación, productos para el cuidado del cabello, productos para el cuidado de la piel, produc-

5 tos para el cuidado personal, productos de limpieza personal, lociones, fragancias, aerosoles, perfumes, cosméticos, pastas de dientes, blanqueadores de dientes, limpiadores, pastillas de jabón, jabón líquido, gel de baño, gel de baño para bebés, maquillaje, tintes para el cabello, champús, acondicionadores, productos de peluquería, bálsamos, cremas, soluciones, geles y sólidos. Así, por ejemplo, los champús, acondicionadores y similares pueden contener vehículos de suministro en forma de geoda cargados con vitaminas, lociones hidratantes, perfumes, medicamentos, etc.

10 Los vehículos también se pueden añadir a productos de limpieza que no tengan contacto directo con la piel. Estas formulaciones serían ventajosas para, es decir, la incorporación de perfumes, hidratantes u otros restos de carga en telas o para la introducción de un agente antibacteriano para vajillas. Los ejemplos incluyen, aunque sin limitación, detergente para la ropa, formulaciones de tratamiento previo, láminas para secadoras, suavizante de telas y detergente para lavavajillas.

15 Los vehículos de suministro en forma de geoda también se pueden añadir a productos de papel para la aplicación tópica de restos de carga a la piel. Ejemplos de productos de papel que pueden incluir vehículos de suministro en forma de geoda de la invención incluyen productos para el cuidado de bebés, es decir pañales o toallitas para bebé, pañuelos, papel higiénico, toallitas antibacterianas o antitranspirantes, servilletas, toallas de papel, tirtas, gasas y productos de higiene femenina.

20 Un experto puede determinar sin experimentación indebida las relaciones óptimas entre lípido óptimo y resto de carga y/o el dominio hidrófobo para un propósito específico. La formación de vehículos de suministro en forma de geoda se controla fácilmente. Luego, la preparación se puede administrar al hospedante al que va dirigida para determinar la naturaleza y significado de la respuesta biológica a la composición administrada. Debe ser evidente que la relación optimizada para cualquier utilización puede variar desde una alta relación, por ejemplo, para reducir al mínimo el uso de un resto de carga raro, hasta una baja relación para obtener la cantidad máxima de resto de carga en el vehículo. Debido a que el vehículo puede aceptar una carga grande de resto de carga, la cantidad de resto de carga puede variar en gran medida dependiendo de la necesidad.

25 La presente invención también proporciona un método de fabricación de un vehículo de suministro en forma de geoda para un resto de carga. El método incluye la etapa de: mezclar un lípido, una solución acuosa y un material hidrófobo, de tal manera que se forma un vehículo de suministro en forma de geoda, que incluye una monocapa lipídica dispuesta alrededor de un dominio hidrófobo.

30 Un método alternativo para formar un vehículo de suministro en forma de geoda incluye mezclar un lípido y un material hidrófobo, por ejemplo, por amasado, de tal manera que se formen uno o más vehículos de suministro en forma de geoda. Este método puede ser ventajoso, por ejemplo, cuando no se desea un medio ambiente acuoso. Los restos de carga frágiles son frecuentemente sensibles a la humedad, lo que puede causar la descomposición tras exposición prolongada. Por lo tanto, sería deseable un método no acuoso para formar vehículos de suministro en forma de geoda

35 A una baja relación de lípido a dominio hidrófobo, los lípidos tienden a formar micelas en el agua, a mayor concentración los lípidos formarán monocapas lipídicas alrededor del glóbulo hidrófobo. Preferiblemente, la relación de lípido a dominio hidrófobo está entre 5:1 y aproximadamente 10:1.

40 El método puede incluir además la etapa de añadir un resto de carga, en la que el resto de carga se asocia con el dominio hidrófobo. El agente se puede añadir antes o después de emulsionar la mezcla para formar la monocapa lipídica alrededor del dominio hidrófobo. Alternativamente, el dominio hidrófobo puede ser en sí mismo un resto de carga, por ejemplo, aceite de pescado.

45 Los métodos de la invención pueden incluir la etapa de añadir un catión a la emulsión para formar un estrato lipídico alrededor de un vehículo de suministro en forma de geoda. El estrato lipídicos se puede mantener en emulsión. Opcionalmente, el método puede incluir la etapa de extraer el precipitado de la emulsión para formar un sólido o semi-sólido, por ejemplo, un polvo. El vehículo de suministro en forma de geoda puede ser recogido de la suspensión por filtración, centrifugación u otras técnicas, y ser secado para obtener un polvo. Como se muestra a continuación, las geodas se pueden extraer de la suspensión utilizando un equipo comercial para lotes grande o a gran escala, por ejemplo, secadores por pulverización o secadores de lecho fluido. Las geodas recuperadas con estos equipos pueden experimentar temperaturas extremas, por ejemplo 204,4°C (400°F), durante períodos prolongados de tiempo sin degradar la estructura de la geoda o su carga.

50 Alternativamente, las geodas se pueden secar usando un aparato que utiliza alta presión y aire caliente para formar un polvo. La alta presión crea una niebla a partir de la suspensión en forma de geoda, que entra en una cámara por la parte superior. El aire caliente entra en la cámara por el fondo e incide sobre los cristales de siembra en el centro de la cámara. Cuando la niebla y los cristales de siembra se encuentran, las geodas revisten el cristal de siembra y se forma el polvo.

55 El uso de los vehículos de suministro de la presente invención, por ejemplo, geodas, puede dar como resultado un aumento en la cantidad de ingrediente activo suministrado frente a la que se puede lograr con las preparaciones

convencionales de alimentos o fármacos. Por ejemplo, los vehículos de suministro de la presente invención pueden dar como resultado un aumento de 20%, 40%, 50%, 60%, 100%, 200% ... 1,000% 10.000% del ingrediente activo (no degradado) suministrado frente al uso de la carga directamente en la preparación del fármaco, alimento, bebida, etc.

- 5 La Figura 1 representa un método ilustrativo para la fabricación de un vehículo de suministro en forma de geoda de acuerdo con la presente invención. El lípido (por ejemplo, un fosfolípido) está representado en los liposomas en forma de anillos en blanco, e individualmente y en las disposiciones en monocapas lipídicas como estructuras similares a horquilla indicando las porciones de cabeza hidrófilas y de cola hidrófobas de un fosfolípido típico. Los dominios hidrófobos (por ejemplo, gotitas de aceite), están representados por círculos sombreados. El estrato lipídico está representado por sombreado. El fosfolípido y las gotitas de aceite se emulsionan para crear una emulsión estable que incluye liposomas, así como vehículos de suministro en forma de geoda que incluyen cada uno una monocapa lipídica dispuesta alrededor de una gotita de aceite. Se añade un catión (por ejemplo, calcio) y los liposomas se colapsan en un estrato de bicapa alternas de liposomas y capas de calcio. En la Figura 1, se representan varios cristales, capturando cada uno de ellos varios vehículos de suministro en forma de geoda. Opcionalmente, los cristales se pueden separar de la suspensión (no mostrado).

- Para ilustrar adicionalmente la presente invención, las Figuras 2A-D incluyen cuatro imágenes de DOPS y aceite de oliva que interactúan en un tampón acuoso. Las Figuras 3A y B son dos imágenes de los vehículos de suministro en forma de geoda que incluyen una monocapa de DOPS dispuesta alrededor de anfotericina B en aceite de oliva. La Figura 4 es una imagen de un vehículo de suministro en forma de geoda de DOPS que incluye una monocapa de DOPS alrededor de anfotericina B fluorescente que interactúa con aceite de oliva. Las Figuras 5 y 6 son imágenes de un estrato lipídico que incrusta aceite de oliva, en donde el lípido es DOPS marcada con rodamina. Las Figuras 7 y 8 son imágenes de un vehículo de suministro en forma de geoda que incluye una monocapa fluorescente de DOPS dispuesta alrededor del aceite de oliva, después de haber sido eliminado con un agente quelante un estrato lipídico formado con calcio.

- 25 La composición natural de las preparaciones de la presente invención reduce los riesgos asociados con otros métodos de suministro, tales como los métodos que utilizan productos químicos no naturales o métodos que utilizan sistemas de vectores virales infecciosos. Las preparaciones se fabrican de un modo relativamente fácil y poco costoso, y son compatibles con una amplia gama de restos de carga. Las preparaciones pueden suministrarse por vía oral en una suspensión o un vehículo, tal como un vehículo de alimentos (por ejemplo, productos alimenticios líquidos o sólidos). Por lo tanto, las preparaciones de la presente invención pueden eliminar la necesidad de inyecciones dolorosas y difíciles. Por otra parte, las preparaciones no se limitan a medicamentos recetados, sino también se pueden usar para suministrar medicamentos de venta sin receta u otros agentes, tales como vitaminas, minerales u otros nutrientes.

- 35 Un ejemplo de tales restos de carga son los ácidos grasos omega-3, que se encuentran principalmente en aceites de pescado y otros productos pesqueros. Los ácidos grasos omega-3 han sido implicados en un aumento de la resistencia a enfermedades y en la fertilidad de animales, y han demostrado tener un efecto significativamente positivo sobre el colesterol y en general la salud cardiovascular de los seres humanos. Véase, por ejemplo, Daviglus et al., *N. Engl J Med.* 336: 1046-1053 (1997). Una de las complicaciones de su incorporación directa en los alimentos, es, sin embargo, su notable mal olor y sabor.

- 40 La presente invención proporciona un medio para enmascarar sabores y malos olores, tales como los asociados con los ácidos grasos omega-3, por encapsulación dentro de un estrato lipídico. Por ejemplo, se han añadido geodas de ácidos grasos omega-3 a bebidas, tales como leche de soja, leche, yogur líquido, zumo de pomelo, zumo de naranja, batidos de frutas, bebidas para deportistas, bebidas gaseosas, té, café y café helado. En cada caso, no hubo alteración de sabor ni mal olor de la bebida, es decir, no era discernible el característico olor a pescado de los ácidos grasos omega-3. Similarmente, las geodas de ácidos grasos omega-3 se pueden utilizar en productos que luego se hornean o cuecen, tales como tortas, molletes, fideos, sopas y galletas sin alteración del sabor ni mal olor.

- La presente invención es también particularmente ventajosa para el suministro de restos de carga inestables, tales como beta-caroteno. El beta-caroteno actúa como un antioxidante por extinción del oxígeno singlete (atómico) y otros radicales libres. Desafortunadamente, el beta-caroteno y otros carotenoides son altamente susceptibles a la oxidación antes de la incorporación en el cuerpo. Este fenómeno se observa como una decoloración del color anaranjado intenso. Britton, *FASEB J.* 9: 1551-1558 (1995).

- La presente invención proporciona beta-caroteno con un medio ambiente libre de oxígeno para la conservación antes de su uso. Sorprendentemente, el beta-caroteno mantuvo su actividad incluso después de la exposición a temperaturas y presiones extremas que normalmente lo degradarían. La Figura 18 es una imagen de geodas de beta-caroteno contenidas en molletes horneados a aproximadamente 176,6°C (350°F) durante unos veinte minutos. La actividad está indicada por el color rojo anaranjado observado en los molletes. Además, la geodas de beta-caroteno se pueden incorporar en otros artículos horneados o cocidos y bebidas.

En otra realización, los vehículos de suministro en forma de geoda se pueden emplear para suministrar fármacos anti-inflamatorios no esteroideos (abreviadamente en lo sucesivo NSAID por la expresión inglesa *NonSteroidal*

Anti-Inflammatory Drugs), utilizados habitualmente para tratar la inflamación, distensiones musculares y fiebre alta. Los NSAID actúan inhibiendo la ciclooxigenasa-1 (COX1) y la ciclooxigenasa-2 (COX-2). Las enzimas COX1 son responsables de proteger el revestimiento del estómago y las enzimas COX2 son responsables de la producción de prostaglandinas, que son importantes en el proceso inflamatorio. Desafortunadamente, las preparaciones comercialmente disponibles de los NSAID son activas tanto contra COX1 como COX2, y por lo tanto tienen efectos secundarios no deseados, tales como úlceras, malestar estomacal o náuseas.

El ibuprofeno y el naproxeno son dos de los NSAID bien conocidos y más ampliamente utilizados para aliviar el dolor y la fiebre. Se utilizan dosis bajas de ibuprofeno para controlar el dolor, pero la inflamación no se pueden regular sin una dosis más alta, que frecuentemente causa malestar estomacal, diarrea, mareos, somnolencia, gases, acidez estomacal o dolor de cabeza, y efectos secundarios en ocasiones más graves, como toxicidad renal o ictericia. El naproxeno se usa para tratar tanto el dolor como la inflamación, sin embargo, son efectos secundarios comunes diarrea, estreñimiento, mareos, somnolencia, gases, acidez estomacal, náuseas, vómitos, dolor de cabeza, aumento de la sensibilidad a las quemaduras solares y zumbido en los oídos. Por lo tanto, es necesario un vehículo de suministro, para suministrar con éxito tales NSAID a macrófagos sin efectos secundarios no deseados.

Los macrófagos son importantes en la absorción de bacterias, hongos y parásitos, y también desempeñan un papel importante en la respuesta inflamatoria. Además de realizar la fagocitosis, los macrófagos tienen el potencial de ser activados, un proceso que da como resultado un aumento de tamaño de las células, aumento de los niveles de enzimas lisosómicas, un metabolismo más activo, y una mayor capacidad de fagocitosis y de matar los microbios ingeridos. Después de la activación, los macrófagos secretan una amplia variedad de productos biológicamente activos que, si no se controlan, dan como resultado lesiones tisulares e inflamación crónica. Uno de los productos secretados, el óxido nítrico (NO), ha resultado uno de los mediadores más importantes de la inflamación.

El óxido nítrico (NO) producido por las óxido nítrico sintasas (abreviadamente en lo sucesivo NOS por la expresión inglesa *Nitric Oxide Synthases*) inducibles desempeña un papel importante en la inflamación, en la eliminación de los patógenos bacterianos, y en la reparación de tejidos. La formación de NO aumenta durante la inflamación (es decir, en la artritis reumatoide, colitis ulcerante y enfermedad de Crohn), y diversos síntomas inflamatorios clásicos, (es decir, eritema y debilidad vascular) son invertidos por inhibidores de la NOS. Al óxido nítrico también se le ha reconocido desempeñar un papel versátil en el sistema inmunitario. Está implicado en la patogénesis y el control de enfermedades infecciosas, tumores, procesos auto-inmunitarios y enfermedades degenerativas crónicas.

El mecanismo de acción y los efectos secundarios de los NSAID, como el ibuprofeno y el naproxeno, se explica en parte por la generación de NO a partir de óxido nítrico sintasa inducible (iNOS). La inhibición de la expresión de la iNOS y la producción de NO mediante el empleo de los vehículos de suministro en forma de geoda de la presente invención podría ser una manera de disminuir terapéuticamente las acciones inflamatorias de estos fármacos.

Otro aspecto de la presente invención es un método de administración de las preparaciones de la presente invención. En consecuencia, la presente invención proporciona un método para tratar un sujeto que puede beneficiarse de la administración de un resto de carga, incluyendo la etapa de administrar a un sujeto un vehículo de suministro en forma de geoda que comprende un resto de carga. Las preparaciones de la presente invención se pueden usar para tratar infecciones fúngicas (por ejemplo, por suministro de un agente antifúngico, tal como anfotericina B), para tratar o prevenir la infección por VIH (por ejemplo, por suministro de una vacuna o de un péptido para inducir inmunidad celular), para tratar la degeneración macular (por ejemplo, por suministro de un agente nutricional), para tratar la inflamación (por ejemplo, por suministro de un anti-inflamatorio), para tratar infecciones bacterianas (por ejemplo, por suministro de antibióticos) y para proporcionar nutrientes (por ejemplo, por suministro de vitaminas, minerales o aceites).

En consecuencia, la presente invención proporciona métodos tanto profilácticos como terapéuticos de tratamiento de un sujeto en riesgo de (o susceptible a) un trastorno o que tiene un trastorno que puede ser tratado con uno o más restos de carga.

"Tratamiento" o "tratar" como se usa en la presente memoria, se define como la aplicación o administración de un agente terapéutico (por ejemplo, NSAID) a un paciente, o la aplicación o administración de una geoda con agente terapéutico de la invención a un tejido o línea celular aislados, el cual tiene una enfermedad o trastorno, un síntoma de enfermedad o trastorno o una predisposición para una enfermedad o trastorno, con el propósito de curar, sanar, aliviar, mitigar, alterar, remediar, recuperar, mejorar o afectar la enfermedad o trastorno, los síntomas de la enfermedad o trastorno, o la predisposición para la enfermedad. "Tratado" como se usa en la presente memoria, se refiere a la enfermedad o trastorno que está siendo curado, sanado, mitigado, alterado, remediado, mejorado o recuperado.

Los métodos de la presente invención incluyen métodos de administración de un resto de carga a un sujeto u hospedante, en donde el resto de carga está asociado con un vehículo de suministro en forma de geoda de la invención. Los vehículos de suministro en forma de geoda de la presente invención se pueden administrar por vía oral, nasal, tópica, intravenosa, transdérmica, bucal, sublingual, rectal, vaginal o parenteral.

La presente invención proporciona un método para tratar un sujeto que se beneficiaría de la administración de una composición de la presente invención. Cualquier indicación terapéutica que se beneficiara de un resto de carga, por

ejemplo, un fármaco o nutriente, puede ser tratada por los métodos de la invención. En consecuencia, la presente invención proporciona métodos para tratar un sujeto en riesgo de padecer o tener una enfermedad o trastorno que se puede tratar con, por ejemplo, una proteína, un péptido pequeño, un agente antiviral, anestésico, agente anti-infeccioso, agente antifúngico, anticanceroso, inmunosupresor, anti-inflamatorio esteroideo, anti-inflamatorio no-esteroideo, antioxidante, antidepresivo que puede ser sintético o de origen natural, una sustancia que soporta o mejora la función mental o inhibe el deterioro mental, un agente anticonvulsivante, un inhibidor de la proteasa del VIH, un inhibidor no nucleófilo de la transcriptasa inversa, una citoquina, un tranquilizante y/o un agente vasodilatador. El método incluye la etapa de administrar al sujeto una composición de la invención, de tal manera que se trate la enfermedad o trastorno. La enfermedad o trastorno puede ser, por ejemplo, inflamación, dolor, infección, infección fúngica, infección bacteriana, infección viral, trastornos parasitarios, trastorno inmunológico, trastornos genéticos, trastornos degenerativos, cáncer, trastornos proliferantes, obesidad, depresión, pérdida de cabello, impotencia, hipertensión, hipotensión, demencia, demencia senil o malnutrición.

Los vehículos de suministro en forma de geoda de la presente invención se pueden utilizar para tratar una variedad de inflamaciones, incluyendo dolor de cabeza, artritis, artritis reumatoide, osteoartritis, gota aguda, daño de los tejidos blandos agudo o crónico asociado con, por ejemplo, una lesión deportiva, codo de tenista, bursitis, tendinitis, dolor de espalda agudo o crónico, como hernia de disco, síndrome del túnel carpiano, glomerulonefritis, carditis, colitis ulcerosa, asma, septicemia y fascitis plantar. Los vehículos de suministro en forma de geoda de la invención también se pueden utilizar para aliviar el dolor que resulta de cirugía u otro procedimiento médico. Los vehículos de suministro en forma de geoda de la presente invención se pueden usar además para tratar una variedad de infecciones fúngicas, incluyendo por *Candida*, por ejemplo, infección por levaduras, tiña, por ejemplo, pie de atleta, pitiriasis, candidiasis, meningitis criptocócica, histoplasmosis y blastomycosis.

Los vehículos de suministro en forma de geoda de la presente invención también se pueden usar para tratar una variedad de infecciones bacterianas, incluyendo aunque sin limitación, infecciones de las vías respiratorias inferiores de moderadas a graves, infecciones de la piel, infecciones del tracto biliar, infecciones óseas, profilaxis antibiótica, enterocolitis pseudomembranosa, infecciones del sistema nervioso central (por ejemplo, meningitis y ventriculitis), infecciones intra-abdominales (por ejemplo, peritonitis), neumonía, septicemia, infecciones de tejidos blandos, septicemia neutropénica, infecciones de las articulaciones, endocarditis infecciosa e infecciones del tracto urinario.

Ejemplos de bacterias que se pueden tratar con la preparación de antibióticos de la presente invención incluyen, aunque sin limitación, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus* del grupo D, *Clostridium perfringens*, *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*.

Los métodos anteriores se pueden emplear en ausencia de otro tratamiento o en combinación con otros tratamientos. Tales tratamientos pueden iniciarse antes, simultáneamente, o después de la administración de las composiciones de la presente invención. En consecuencia, los métodos de la invención pueden incluir además la etapa de administrar un segundo tratamiento, tal como, por ejemplo, un segundo tratamiento para la enfermedad o trastorno o para mejorar los efectos secundarios de otros tratamientos. Dicho segundo tratamiento puede incluir, por ejemplo, radiación, quimioterapia, transfusión, operaciones (por ejemplo, escisión para extirpar tumores) y terapia génica. Adicional o alternativamente, el tratamiento adicional puede incluir la administración de fármacos para tratar aún más la enfermedad o para tratar un efecto secundario de la enfermedad u otros tratamientos (por ejemplo, fármacos contra las náuseas).

Con respecto a los métodos tanto profilácticos como terapéuticos de tratamiento, tales tratamientos pueden ser adaptados o modificados específicamente, basándose en el conocimiento obtenido del campo de la farmacogenómica. "Farmacogenómica", como se usa en la presente memoria, se refiere a la aplicación de tecnologías genómicas, tales como la secuenciación de genes, genética estadística y análisis de expresión génica a fármacos en desarrollo clínico y en el mercado.

Más específicamente, el término se refiere al estudio de cómo los genes de un paciente determinan su respuesta a un medicamento (por ejemplo, el "fenotipo de respuesta a un fármaco" o el "genotipo de respuesta a un fármaco" de un paciente). Por lo tanto, otro aspecto de la invención proporciona métodos para adaptar un tratamiento profiláctico o terapéutico de un individuo en función del genotipo de respuesta al fármaco de ese individuo. La farmacogenómica permite a un profesional clínico o médico dirigir los tratamientos profilácticos o terapéuticos a los pacientes que más se beneficiarán del tratamiento y evitar el tratamiento de los pacientes que experimentarán efectos secundarios tóxicos relacionados con fármacos.

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" es la cantidad necesaria o suficiente para producir la respuesta fisiológica deseada. La cantidad eficaz puede variar dependiendo de factores tales como el tamaño y el peso del sujeto o el compuesto particular. La cantidad eficaz se puede determinar teniendo en cuenta la toxicidad y la eficacia terapéutica de los compuestos mediante procedimientos farmacéuticos estándares en cultivos celulares o animales experimentales, por ejemplo, para determinar la DL₅₀ (la dosis letal para el 50% de la población) y la DE₅₀ (la dosis terapéuticamente eficaz en el 50% de la población). La relación de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y puede expresarse como la relación DL₅₀/DE₅₀. Se prefieren los compuestos que exhiben

grandes índices terapéuticos. Aunque se pueden utilizar compuestos que muestran efectos secundarios tóxicos, se debe tener cuidado para diseñar un sistema de suministro que dirija dichos compuestos al sitio del tejido afectado con el fin de minimizar el daño potencial a las células no afectadas y, de este modo, reducir los efectos secundarios.

Incluso en otro aspecto, la invención proporciona kits o vehículos de suministro en forma de geoda envasados de otro modo. En una realización, la invención proporciona un vehículo de suministro en forma de geoda envasado que incluye: un vehículo de suministro en forma de geoda de la invención envasado con instrucciones para añadir el vehículo a un alimento, bebida o producto para el cuidado personal. En otra realización, el vehículo de suministro en forma de geoda envasado contiene instrucciones para la incorporación de un resto de carga en el vehículo de suministro en forma de geoda.

10 Esta invención se ilustra adicionalmente por los siguientes ejemplos que no deben interpretarse como limitativos.

EJEMPLOS

Materiales y Métodos

Imágenes de geodas

Se utilizaron microscopía óptica de contraste de fases y microscopía confocal (Olympus) para obtener imágenes de suspensiones, cócleas y geodas, con y sin la ayuda de fluorescencia, que se pueden utilizar, por ejemplo, en el estudio futuro de la captación celular y la distribución intracelular de geodas marcadas y restos de carga con fluorescencia. La microscopía confocal es particularmente ventajosa, ya que es un dispositivo de captación de imágenes digitales tridimensionales que se puede utilizar para ver eficazmente cortes de cultivo celular.

Líneas celulares y condiciones de cultivo

20 Se obtuvo de ATCC la línea celular de macrófagos de ratón J774A.1. Las células de macrófagos se cultivaron en monocapas en aire humidificado con 5% de CO₂ a 37°C en placas Petri de 60 mm² (Corning) que contenían 5 ml de DMEM suplementado con FBS al 10%. Para los experimentos, las células se recogieron por raspado y se sembraron en placas de 96 pocillos a una densidad de 5 x 10⁵ células.

Ejemplo 1: Preparación de una monocapa lipídica de un resto de carga

25 En un primer recipiente, se preparó una composición hidrófoba por agitación con vórtice de anfotericina B seca (agente fúngico) y rodamina (un agente de marcado fluorescente) con aceite de oliva hasta que la anfotericina y la rodamina se mezclaron integralmente con el aceite de oliva. En un recipiente separado, se mezcló enérgicamente lípido seco en agua para obtener una suspensión de liposomas en agua. A continuación, la composición hidrófoba se añadió a dos porciones de la suspensión de liposomas en relaciones de lípido a aceite de aproximadamente 10:1
30 y aproximadamente 5:1, y se mezclaron enérgicamente para formar emulsiones estables. La inspección de ambas emulsiones con un microscopio reveló la formación de la composición hidrófoba encapsulada con una monocapa de lípidos y liposomas (las Figuras 2A-D, 3A-B y 4 representan emulsiones similares). Las emulsiones eran estables y el dominio hidrófobo no coalesció. Dicha emulsión estable se ilustra en la Figura 1, en la que la emulsión estable incluye vehículos de suministro en forma de geoda que incluyen monocapas lipídicas formadas alrededor de los
35 dominios hidrófobos (sombreado en oscuro) y liposomas.

Ejemplo 2: Preparación de monocapa lipídica de un resto de carga atrapado en un estrato lipídico.

Se añadió calcio a las emulsiones del Ejemplo 1. Se observó una estructura cristalina formada alrededor de la monocapa lipídica. Se cree que la estructura cristalina incluye el calcio y los liposomas. Cada cristal envolvía varios dominios hidrófobos encapsulados, tal como se representa esquemáticamente en la Figura 1. (Las Figuras 5 y 6
40 representan estructuras similares).

Ejemplo 3: Liberación de la preparación de monocapa lipídica del estrato.

Se añadió EDTA a la emulsión del Ejemplo 2. Se observó que la estructura cristalina se deterioraba de tal manera que el dominio encapsulado se mantuvo, ya no incrustado en la estructura cristalina. (Las Figuras 7 y 8 representan emulsiones similares).

Ejemplo 4: Preparación de beta-caroteno en vehículo de suministro en forma de geoda

Se pesaron en un tubo de vidrio 500 mg de fosfatidilserina (PS) de soja, 250 mg de beta-caroteno al 20% en aceite de soja, 10 mg de alfa-tocoferol (vitamina E) y 240 mg de aceite de soja. Se preparó una emulsión fluida mezclando enérgicamente la muestra a 45°C. Se observó que la mayor parte del beta-caroteno está incorporada en las gotitas de aceite cuando se examinó por microscopía óptica. Las Figuras 10A, 10B y 11 representan emulsiones estables
50 de beta-caroteno, aceite y lípidos.

Se añadieron 4,5 ml de agua estéril al tubo de vidrio con mezclado energético. El examen microscópico reveló una emulsión estable con muchas gotitas de aceite de tamaños diferentes con beta-caroteno, una cantidad más pequeña de gotitas de aceite libres y muchas pequeñas partículas móviles.

- 5 Se añadieron gota a gota a la emulsión 3,3 ml de cloruro de calcio 0,1 M con mezclado energético. El examen de esta preparación con el microscopio reveló un vehículo que comprendía monocapas de PS formadas alrededor de las gotitas de aceite que contenían el beta-caroteno, capturado o incrustado dentro de un estrato lipídico. La Figura 9 ilustra esquemáticamente el método utilizado y los resultados observados en este experimento.

Ejemplo 5: Vehículos de suministro en forma de geoda de beta-caroteno con caseína

- 10 Se pesaron en un tubo de vidrio 12 g de fosfatidilserina (PS) de soja, 3 g de beta-caroteno al 20% en aceite de soja y 0,2 g de alfa-tocoferol (vitamina E). Se preparó una emulsión fluida mezclando energicamente la muestra a temperatura ambiente mientras se añadían lentamente 30-40 ml de agua estéril. Se observó que la mayor parte del beta-caroteno estaba incorporado en las gotitas de aceite cuando se examinó por el microscopio óptico.

- 15 A la emulsión se añadieron 4,8 g de caseína, seguido por 60-70 ml adicionales de agua estéril (añadida gota a gota). El examen microscópico reveló una emulsión estable con muchas gotitas de aceite de tamaños diferentes con beta-caroteno, una cantidad más pequeña de gotitas de aceite libres y muchas pequeñas partículas móviles.

Se añadieron gota a gota a la emulsión 60 ml de cloruro de calcio 0,5 M con mezclado energético. El examen de esta preparación por el microscopio reveló un vehículo que comprendía monocapas de PS formadas alrededor de las gotitas de aceite que contenían beta-caroteno, capturado o incrustado dentro de un estrato lipídico. La composición final se calculó como sigue:

20 Composición final:

60% de fosfatidilserina
24% de caseína
1% de tocoferol
3% de beta-caroteno
25 12% de aceite de soja
100 ml de agua estéril
60 ml de de Ca^{2+} 0,5 M

- 30 Las Figuras 12A y 12B representan geodas de beta-caroteno antes y después de la micronización. Las Figuras 13A y 13B representan geodas de beta-caroteno en suspensión. Se puede añadir EDTA a la suspensión para liberar el beta-caroteno. Las Figuras 13C y 13D representan las suspensiones en 13A y 13B, respectivamente, después de la adición de EDTA.

Ejemplo 6: Preparación de vehículos de suministro en forma de geoda de aceite de pescado con caseína

- 35 Se pesaron en un tubo de vidrio 12 g de fosfatidilserina (PS) de soja, 3 g de aceite de pescado al 30%, aceite de oliva y 0,2 g de alfa-tocoferol (vitamina E). Se preparó una emulsión fluida mezclando energicamente la muestra a 45°C, mientras que se añadían lentamente 30-40 ml de agua estéril.

Se añadieron a la emulsión 4,8 g de caseína, seguido por 60-70 ml adicionales de agua estéril (añadida gota a gota). El examen microscópico reveló una emulsión estable con muchas gotitas de aceite de pescado de tamaños diferentes.

- 40 Se añadieron gota a gota a la emulsión 60 ml de cloruro de calcio 0,5 M con mezclado energético. El examen de esta preparación en el microscopio reveló un vehículo que comprendía monocapas de PS formadas alrededor de las gotitas de aceite de pescado, capturado o incrustado dentro de un estrato lipídico. Las composiciones finales eran como sigue.

Composición final de las geodas de aceite de pescado con caseína

- 45 30% de aceite de pescado
60% de fosfatidilserina de soja
10% de caseína
50 ml de agua estéril
60 ml de de Ca^{2+} 0,1 M

Geodas de aceite de pescado/ caseína con aceite de oliva y tocoferol

- 50 30% de aceite de pescado (10 % de aceite de oliva, 1% de tocoferol)
60% de fosfatidilserina de soja
10% de caseína

50 ml de agua estéril
60 ml de de Ca²⁺ 0,1 M

Geodas de aceite de pescado/caseína con aceite de oliva, ajo, curcumina y tocoferol

- 5 30% de aceite de pescado (10 % de aceite de oliva con ajo y curcumina, 1% de tocoferol)
60% de fosfatidilserina de soja
10% de caseína
50 ml de agua estéril
60 ml de de Ca²⁺ 0,1 M

Ejemplo 7: Preparación de molletes que contienen geodas de beta-caroteno

- 10 Se prepararon geodas de beta-caroteno como se describe en el Ejemplo 4. Estas geodas se añadieron a una mezcla de masa blanca *BETTY CROCKER SUPERMOIST*. La mezcla se horneó a 176,6°C (350°F) durante 20 minutos. Los molletes mostraron agrupaciones de geodas de color anaranjado brillante durante al menos 12 días después del horneado (véase la Figura 18)

Ejemplo 8: Preparación de molletes que contienen geodas de aceite de pescado

- 15 Se prepararon geodas de aceite de pescado/aceite de oliva/vitamina E como se describe en el Ejemplo 6. Estas geodas se añadieron a una mezcla de masa blanca *BETTY CROCKER SUPERMOIST*. La mezcla se horneó a 190,5°C (375°F) durante unos 20 minutos. Los molletes mostraron agrupaciones de geodas de color verde claro, y no se percibía mal olor durante al menos 24 horas después del horneado.
- 20 Se prepararon como se describe en el Ejemplo 6 geodas con sólo aceite de pescado y sin aceite de oliva ni vitamina E. Las geodas se añadieron a la mezcla de masa blanca y se cocieron en un horno de microondas hasta que estaban doradas (a máxima potencia durante aproximadamente 45-50 segundos). Los molletes no tenían mal olor ni mal sabor inmediatamente después de la cocción ni después de 24 horas.

Ejemplo 9: Preparación de una suspensión de leche de soja que contiene geodas de aceite de pescado

- 25 Se prepararon como se describe en el Ejemplo 6 geodas de aceite de pescado. Se añadió una cucharadita de geodas de aceite de pescado a 85 gramos (3 onzas) de leche de soja YOPLAIT. Por agitación, las geodas de aceite de pescado se mantuvieron en un estado de suspensión. La leche de soja no exhibió ni mal olor ni mal sabor perceptible.

Ejemplo 10: Aplicación tópica de geodas de beta-caroteno

- 30 Se prepararon como se describe en el Ejemplo 4 geodas de beta-caroteno, se añadieron a vaselina y se aplicaron a la superficie de la palma de la mano. El revestimiento era resistente al agua (véase la Figura 19). Sin desear vincularse a ninguna teoría particular, se cree que las geodas pueden haberse fusionado con el estrato córneo de la epidermis.

Ejemplo 11: Preparación de geodas de aceite de pescado que contienen caseína y 5% de tocoferol usando polvo de CaCl₂

- 35 10 g de tocoferol (Vitamina E - Roche) y 50 g de aceite de pescado (Roche ROPUFA) se introdujeron en un mezclador KITCHENAID grande y se mezclaron a fondo por agitación a baja velocidad. A continuación se añadieron 120 g de PS de soja (Degussa) a la mezcla de aceite de pescado/vitamina E seguido por varias pequeñas partes alícuotas de agua estéril. A continuación, al recipiente con la emulsión de aceite de pescado/vitamina E, se añadieron 20 g de caseína y se añadió lentamente agua estéril con agitación constante a baja velocidad hasta que se añadieron un
40 total de 2000 ml de agua. El examen microscópico mostró una emulsión estable con muchas gotitas de aceite de tamaños diferentes y muchas pequeñas partículas móviles. Se añadieron al recipiente 35,5 g de polvo de cloruro de calcio mientras que se agitaba constantemente a baja velocidad. La suspensión se agitó posteriormente durante 30 minutos más, después de lo cual la muestra se transfirió a un frasco de color ámbar estéril y se almacenó en forma de una emulsión hasta su uso posterior. Se utilizaron un secador por pulverización y un secador de lecho fluido para
45 pulverizar las geodas de aceite de pescado.

Composición final:

Componente	Peso	% Antes de añadir Ca ⁺⁺	% Después de añadir Ca ⁺⁺
Aceite de pescado	50 g	25%	21,2%
Tocoferol	10 g	5%	4,2%
PS de soja	120 g	60%	50,9%
Caseína	20 g	10%	8,5%
CaCl ₂	35,529 g		15,1%

Agua estéril	2000 ml		
--------------	---------	--	--

Ejemplo 12: Preparación de geodas de beta-caroteno que contienen caseína y 0,8% de tocoferol usando polvo de CaCl₂

2,6 g de tocoferol (Roche) y 39 g de beta-caroteno al 20% en aceite de oliva (Cognis) se introdujeron en un mezclador KITCHENAID grande y se mezclaron a fondo por agitación a baja velocidad. Se añadieron al recipiente 156 g de PS de soja (Degussa) con beta-caroteno/vitamina E seguido por varias pequeñas partes alícuotas de agua estéril. Se preparó una emulsión fluida mezclando enérgicamente la muestra. A continuación se añadieron al recipiente 62,4 g de caseína con la emulsión de beta-caroteno, seguido por la adición lenta de agua estéril hasta que se alcanzó un volumen total de 2080 ml. El examen microscópico mostró una emulsión estable con muchas gotitas de aceite de diferentes tamaños que contenían beta-caroteno, algunas gotitas de aceite libres y muchas pequeñas partículas móviles. Se añadieron lentamente al recipiente 57,3 g de polvo de cloruro de calcio y la suspensión se mezcló a fondo. La suspensión se agitó posteriormente durante 30 minutos más a baja velocidad. Una parte alícuota de 2,0 ml de la preparación final se introdujo en un tubo estéril de 50 ml para el análisis por HPLC. El análisis indicó que más del 90% del beta-caroteno de la muestra estaba contenido dentro de las geodas. A continuación, la emulsión se transfirió a un frasco de color ámbar estéril hasta su uso posterior.

Para determinar si las geodas podrían ser secadas satisfactoriamente hasta obtener un polvo (retirado de la suspensión) utilizando un equipo comercial a gran escala y sin comprometer el agente activo dispuesto dentro de ellas se secó un lote usando un equipo de secado de lecho fluido de la firma Glatt Air Techniques, Inc. (Ramsey, NJ), y otro lote usando el equipo de secado por pulverización de la firma Spray-Tech (Ontario, CA). Las Figuras 15, 16 y 17 son gráficos que representan la estabilidad de las geodas de beta-caroteno después de secado en lecho fluido y secado por pulverización. La Figura 15 muestra la cantidad de beta-caroteno en la formulación de geodas en suspensión, después de secado en lecho fluido, y después de secado por pulverización en comparación con el 100% teórico. La Figura 17 muestra datos similares para geodas de beta-caroteno en suspensión, después de secado por pulverización y una combinación de dos lotes de geodas secadas por pulverización. Las concentraciones de beta-caroteno después del secado son ligeramente mayores que las esperadas sobre la base de la cantidad presente en el material de partida, posiblemente debido a alguna pérdida de otros componentes. Se observaron mayores recuperaciones de beta-caroteno en las gotitas de aceite dentro de las geodas, en comparación con el beta-caroteno en otro lugar. La Figura 16 es un gráfico que muestra la concentración de varias formulaciones de geodas almacenadas durante un período de 20 días en presencia y ausencia de luz. El gráfico de la parte inferior se ha normalizado a una concentración de partida de 1, por lo que se puede hacer una comparación de las formulaciones. La disminución de la concentración de polvo en el almacenamiento puede ser exagerada debido al polvo higroscópico de las geodas que absorben agua.

En el proceso de lecho fluido, las geodas experimentaron temperaturas de al menos 85°C, y en el proceso de secado por pulverización, las geodas experimentaron temperaturas de hasta 190,5°C (375°F) a 204,4°C (400°F), en algunos casos (en los que las geodas se pegaron al equipo del proceso) durante varias horas. El beta-caroteno de las geodas se mantuvo activo para ambos lotes, como se indica por el color amarillo rojizo de las muestras, incluyendo las geodas retiradas de los equipos del proceso.

Las imágenes de las geodas indicaron que las geodas estaban preparadas correctamente y que el beta-caroteno se mantuvo activo (Figuras 14A-D). Las Figuras 14A y 14D son imágenes de geodas extraídas mediante secado por pulverización y las Figuras 14B y 14C son imágenes de geodas extraídas mediante secado en lecho fluido.

Las muestras de las geodas fueron posteriormente expuestas a la luz y al aire durante 2 días y medio, y no se observó degradación del beta-caroteno.

Composición final:

Componente	Peso	% Antes de añadir Ca ⁺⁺	% Después de añadir Ca ⁺⁺
PS	156 g	60%	49,2%
Caseína	62,4 g	24%	19,7%
Tocoferol	2,6 g	1%	0,8%
Beta-caroteno	39 g (con aceite de oliva)	3%	2,5%
Aceite de oliva		12%	9,8%
CaCl ₂	57,33 g		18,1%
Agua estéril	2080 ml		

Ejemplo 13: Preparación de geodas de NSAID

Un NSAID (ibuprofeno y/o naproxeno) se mezcló a fondo en aceite de oliva (5% a 10% en peso de la mezcla de geoda total). Se añadió a un tubo de ensayo PS de soja en una relación de lípido a fármaco de 10:1. A continuación,

la mezcla de NSAID/aceite de oliva se añadió al tubo que contenía PS de soja en polvo, y se utilizó una espátula para mezclar a fondo el polvo con el aceite.

5 Una vez que se formó una pasta homogénea se añadió lentamente al tubo tampón TES (pH 7,4) y se agitó con vórtice durante 10 a 15 minutos para mezclar aún más la suspensión. La muestra se observó en un microscopio óptico para asegurarse de que los cristales del NSAID no estaban libres en suspensión, sino contenidos en el aceite. A la emulsión estable se le añadió cloruro de calcio en una relación a lípido 2:1. La muestra se observó de nuevo con microscopía óptica en campo oscuro para determinar que geodas se habían formado y si no había cristales de NSAID libres en el medio ambiente acuoso. Los cristales se almacenaron bajo nitrógeno a 4°C hasta su uso posterior.

10 **Ejemplo prospectivo: Análisis de la concentración de nitrito.**

El nitrito acumulado (NO_2^-) en el medio de cultivo se mide usando un ensayo colorimétrico automatizado basado en la reacción de Griess. Swierkosz, TA, et al., *Br. J. Pharmacol.*; 114(7): 1335-42, 1995. Gross, S., et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 178, 823-829, 1991. Ryu, YS, et al., *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 272, 758-764, 2000.

15 Se incubaron macrófagos de ratón J774A.1 con LPS (1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) más IFN- γ (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) en presencia o ausencia de ibuprofeno libre, cócleas de ibuprofeno, geodas de ibuprofeno como las preparadas en el Ejemplo 13, naproxeno libre, cócleas de naproxeno, geodas de naproxeno como las preparadas en el Ejemplo 13, y cócleas vacías durante 15 horas. Se hacen reaccionar 100 μl de muestra con el reactivo de Griess a temperatura ambiente durante 10 minutos. A continuación se determina el NO_2^- midiendo la absorbancia a 540 nm en un lector de microplacas. Se obtuvo una curva patrón usando concentraciones conocidas de nitrito de sodio. En todos los experimentos, también se mide

20 como control la concentración de NO_2^- en los pocillos que contenían solo medio.

REIVINDICACIONES

1. Un vehículo de suministro en forma de geoda para un resto de carga, que comprende: una monocapa lipídica, que comprende un lípido cargado negativamente, dispuesta alrededor de un dominio hidrófobo; y
- 5 un estrato lipídico que comprende alternativamente cationes metálicos divalentes y lípidos cargados negativamente, en el que el estrato lipídico está dispuesto alrededor de la monocapa lipídica; y un resto de carga asociado con el dominio hidrófobo.
2. El vehículo de suministro en forma de geoda de la reivindicación 1, en el que el vehículo de suministro en forma de geoda está en suspensión en un medio ambiente acuoso.
- 10 3. El vehículo de suministro en forma de geoda de la reivindicación 2, en el que el vehículo de suministro en forma de geoda está en suspensión en una emulsión.
4. El vehículo de suministro en forma de geoda de la reivindicación 1, en el que el vehículo de suministro en forma de geoda está en forma de polvo.
5. El vehículo de suministro en forma de geoda de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el dominio hidrófobo es un resto de carga.
- 15 6. El vehículo de suministro en forma de geoda de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende un resto de carga asociado con la monocapa lipídica o el estrato lipídico.
7. El vehículo de suministro en forma de geoda de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el dominio hidrófobo comprende un resto de carga asociado con un aceite o grasa.
- 20 8. El vehículo de suministro en forma de geoda de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el lípido comprende un fosfolípido cargado negativamente.
9. El vehículo de suministro en forma de geoda de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el lípido comprende al menos aproximadamente 50% de lípido cargado negativamente.
10. El vehículo de suministro en forma de geoda de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el lípido comprende al menos aproximadamente 75% de lípido cargado negativamente.
- 25 11. El vehículo de suministro en forma de geoda de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que el resto de carga es al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en una vitamina, un mineral, un nutriente, un micronutriente, un aminoácido, una toxina, un microbicida, un microbiostático, un co-factor, una enzima, un polipéptido, un agregado de polipéptidos, un polinucleótido, un lípido, un carbohidrato, un nucleótido, un almidón, un pigmento, un ácido graso, un ácido graso monoinsaturado, un ácido graso poliinsaturado, una sustancia aromatizante, un aceite esencial o extracto aromatizado, una hormona, una citoquina, un virus, un orgánulo, un esteroide u otra estructura de múltiples anillos, un sacárido, un metal, un veneno metabólico, un antígeno, un agente de diagnóstico, una agente formador de imagen, un agente nuclear, una porfirina, un agente o pigmento tetrapirrólico y un fármaco.
- 30 12. El vehículo de suministro en forma de geoda de la reivindicación 11, en el que el fármaco es al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en una proteína, un péptido pequeño, un polinucleótido bioactivo, un agente antibiótico, agente antiviral, anestésico, anti-infeccioso, antifúngico, anticanceroso, inmunosupresor, anti-inflamatorio esteroideo, anti-inflamatorio no esteroideo, antioxidante, antidepresivo que puede ser sintético o de origen natural, una sustancia que soporta o mejora la función mental o inhibe el deterioro mental, un agente anticonvulsivante, un inhibidor de la proteasa del VIH, un inhibidor no nucleófilo de la transcriptasa inversa, una citoquina, un tranquilizante o un agente vasodilatador.
- 35 13. El vehículo de suministro en forma de geoda de la reivindicación 11, en el que el fármaco es al menos un miembro seleccionado del grupo que incluyen anfotericina B, aciclovir, adriamicina, carbamazepina, ivermectina, melfalán, nifedipino, indometacina, curcumina, ibuprofeno, naproxeno, estrógenos, testosterona, esteroides, fenitoína, ergotaminas, cannabinoides, rapamicina, propanadid, propofol, alfadiona, equinomicina, nitrato de miconazol, tenipósido, hexametilmelamina, taxol, taxotere, 18-hidroxi-desoxicorticosterona, prednisolona, dexametasona, cortisona, hidrocortisona, piroxicam, diazepam, verapamilo, vancomicina, tobramicina, geldanamicina, acetaminofeno, aspirina, nistatina, rifampicina, ácido de la vitamina A, mesalamina, risedronato, nitrofurantoína, dantroleno, etidronato, caspofungina, nicotina, amitriptilina, clomipramina, citalopram, dotepina, doxepina, fluoxetina, imipramina, lofepramina, mirtazapina, nortriptilina, paroxetina, reboxitina, sertralina, trazodona, venlafaxina, dopamina, ipérico, fosfatidilserina, ácido fosfatídico, amastatina, antipaína, bestatina, benzamidina, quimostatina, 3,4-dicloroisocumarina, elastatinal, leupeptina, pepstatina, 1,10-fenantrolina, fosforamidón, etosuximida, etotoína, felbamato, fosfenitoína, lamotrigina, levitiracetam, mefenitoína, metsuximida, oxcarbazepina, fenobarbital, fensuximida, primidona, topiramato, trimetadiona, zonisamida, saquinavir, ritonavir, indinavir, nelfinavir o amprenavir.
- 50

14. El vehículo de suministro en forma de geoda de la reivindicación 11, en el que el polinucleótido es al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en una molécula de ácido desoxirribonucleico (DNA), una molécula de ácido ribonucleico (RNA), un siRNA, una ribozima, una molécula antisentido, un morfolino y un plásmido.
- 5 15. El vehículo de suministro en forma de geoda de la reivindicación 11, en el que el polipéptido es al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en ciclosporina, angiotensina I, II o III, encefalinas y sus análogos, ACTH, péptidos anti-inflamatorios I, II o III, bradiquinina, calcitonina, beta-endorfina, dinorfina, leucoquinina, hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH), insulina, neuroquininas, somatostatina, sustancia P, hormona liberadora de tirotrópina (TRH) y vasopresina.
- 10 16. El vehículo de suministro en forma de geoda de la reivindicación 11, en el que el antígeno es al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en un carbohidrato, glicoproteínas de la envoltura de virus, una proteína de membrana de células animales, una proteína de membrana de células vegetales, una proteína de membrana bacteriana y una proteína de membrana de parásito.
- 15 17. El vehículo de suministro en forma de geoda de la reivindicación 11, en el que el nutriente es al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en micronutrientes, vitaminas, minerales, ácidos grasos, ácidos grasos poliinsaturados, aminoácidos, aceites de pescado, extractos de aceite de pescado, resveratrol, biotina, colina, inositol, ginko y sacáridos.
18. El vehículo de suministro en forma de geoda de la reivindicación 17, en el que el nutriente es un agente fitoquímico o un agente zooquímico.
- 20 19. El vehículo de suministro en forma de geoda de la reivindicación 11, en el que el nutriente es al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en beta-caroteno, luteína, zeaxantina, quercetina, silibinina, alcohol perillílico, genisteína, sulfurofano, licopeno, ácidos grasos omega-3 y omega-6.
20. El vehículo de suministro en forma de geoda de la reivindicación 11, en el que la vitamina es al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en vitaminas A, B, B1, B2, B3, B12, B6, complejo B, C, D, E y K, precursores de vitaminas, carotenoides y beta-caroteno.
- 25 21. El vehículo de suministro en forma de geoda de la reivindicación 11, en el que el mineral es al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en boro, cromo, minerales coloidales, plata coloidal, cobre, manganeso, potasio, selenio, vanadio, sulfato de vanadilo, calcio, magnesio, bario, hierro y zinc.
22. El vehículo de suministro en forma de geoda de la reivindicación 11, en el que el ácido graso es al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en ácidos grasos monoinsaturados, poliinsaturados y saturados.
- 30 23. El vehículo de suministro en forma de geoda de la reivindicación 11, en el que el sacárido o edulcorante es al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en sacarina, isomaltá, maltodextrina, aspartamo, glucosa, maltosa, dextrosa, fructosa y sacarosa.
- 35 24. El vehículo de suministro en forma de geoda de la reivindicación 11, en el que la sustancia aromatizante es al menos un aceite o extracto seleccionado del grupo que consiste en aceites y extractos de canela, vainilla, almendra, menta, menta verde, manzanilla, geranio, jengibre, pomelo, hisopo, jazmín, lavanda, limón, cidronela, mejorana, lima, nuez moscada, naranja, romero, salvia, rosa, tomillo, anís, albahaca, pimienta negra, té o extractos de té, una hierba, un cítrico, un especia y una semilla.
25. El vehículo de suministro en forma de geoda de la reivindicación 11, en el que el agente terrapirrólico es tetrafenilporfirina de zinc.
- 40 26. El vehículo de suministro en forma de geoda de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el vehículo de suministro en forma de geoda comprende además un inhibidor de la agregación.
27. El vehículo de suministro en forma de geoda de la reivindicación 26, en el que el inhibidor de la agregación comprende caseína o metilcelulosa.
- 45 28. Un vehículo de suministro en forma de geoda envasado, que comprende: un vehículo de suministro en forma de geoda de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes envasado con instrucciones para añadir el vehículo a un alimento, bebida o producto para el cuidado personal.
29. Un producto alimenticio que comprende el vehículo de suministro en forma de geoda de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores.
- 50 30. El producto alimenticio de la reivindicación 29, en el que el producto alimenticio es un producto alimenticio para animales, un producto alimenticio para seres humanos, una barra nutritiva, un aperitivo, una bebida, un alimento para animales domésticos, un alimento para peces, una alimentación para aves de corral, un alimento para animales de compañía, un alimento para perros o un alimento para gatos.

31. Un producto para el cuidado personal, que comprende el vehículo de suministro en forma de geoda de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores.
32. El producto para el cuidado personal de la reivindicación 31, en el que el producto para el cuidado personal es un producto para el cuidado del cabello o un producto para el cuidado de la piel.
- 5 33. Un vehículo de suministro en forma de geoda envasado, que comprende: un vehículo de suministro en forma de geoda de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 27, envasado con instrucciones para la incorporación de un resto de carga.
34. Una composición farmacéutica que comprende un vehículo de suministro en forma de geoda de una cualquiera de las reivindicaciones 1-27 y un portador farmacéuticamente aceptable.
- 10 35. El vehículo de suministro en forma de geoda de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 27 o la composición farmacéutica de la reivindicación 34 para uso en terapia.
36. Un método de fabricación de un vehículo de suministro en forma de geoda para un resto de carga, comprendiendo el método la etapa de:
- 15 mezclar un resto de carga, un lípido cargado negativamente, una solución acuosa y un material hidrófobo, de tal manera que se forme un vehículo de suministro en forma de geoda que comprenda una monocapa lipídica dispuesta alrededor de un dominio hidrófobo asociado con el resto de carga, y que comprende además la etapa de formar un estrato lipídico alrededor de la monocapa lipídica por adición de un catión metálico divalente, en el que dicho estrato lipídico comprende alternativamente cationes de metales divalentes y lípidos cargados negativamente.
- 20 37. El método de la reivindicación 36, en el que el catión de metal divalente comprende calcio.
38. El método de la reivindicación 36 o la reivindicación 37, que comprende la etapa de secar el vehículo de suministro en forma de geoda para formar un polvo.
- 25 39. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 36-38, que comprende asociar el vehículo de suministro en forma de geoda con un vehículo farmacéuticamente aceptable.
40. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 36-38, que comprende añadir el vehículo de suministro en forma de geoda a un producto alimenticio o a un producto para el cuidado personal.

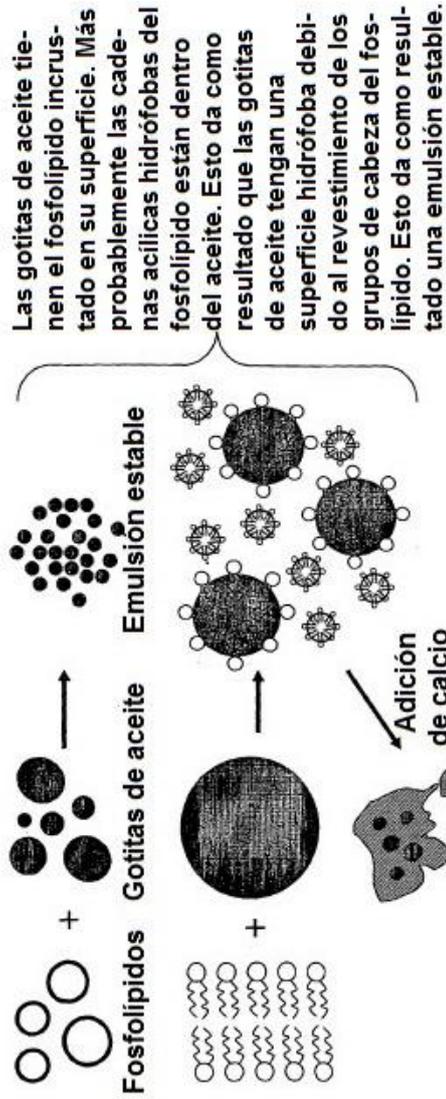


Figura 1

Gotitas de aceite "incrustadas" dentro de una matriz cristalina

DOPS y aceite de oliva interactuando en tampón acuoso

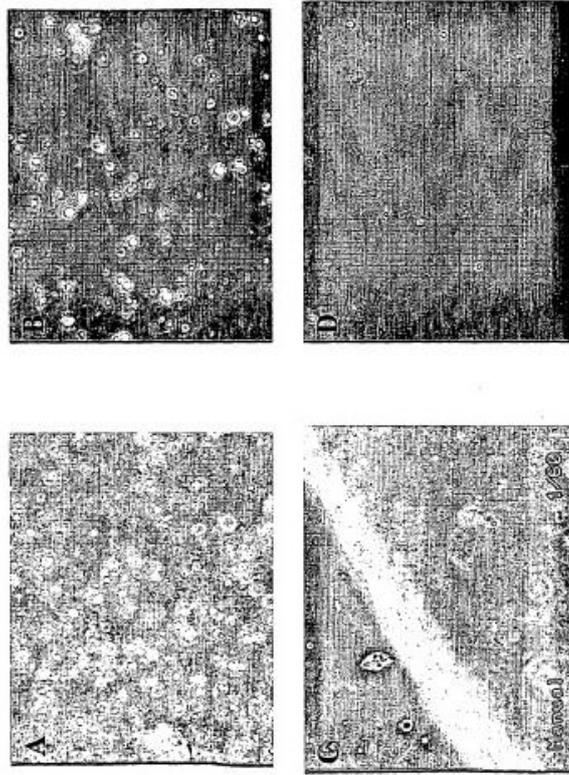


Figura 2

Amfotericina B en aceite de oliva y DOPS

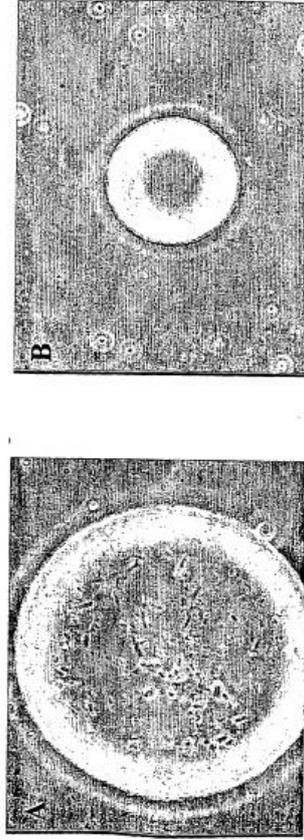


Figura 3

Anfotericina B fluorescente interaccionando
con aceite de oliva en DOPS



Figura 4

DOPS marcada con rodamina que
incrusta aceite de oliva

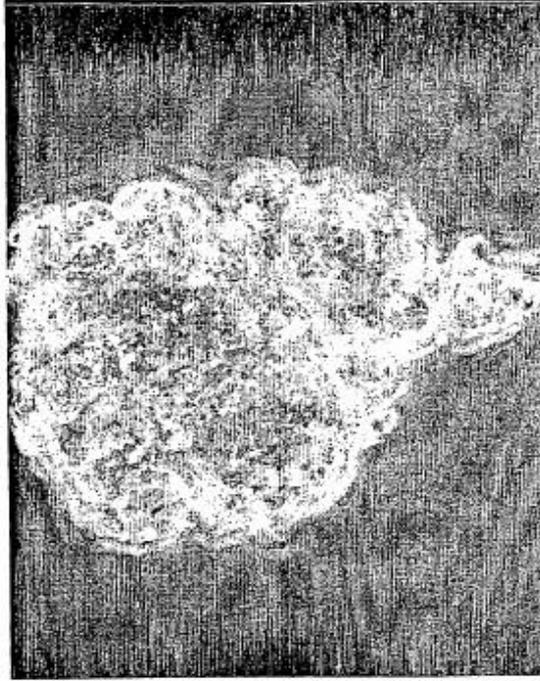


Figura 5

DOPS marcada con rodamina que incrusta
aceite de oliva

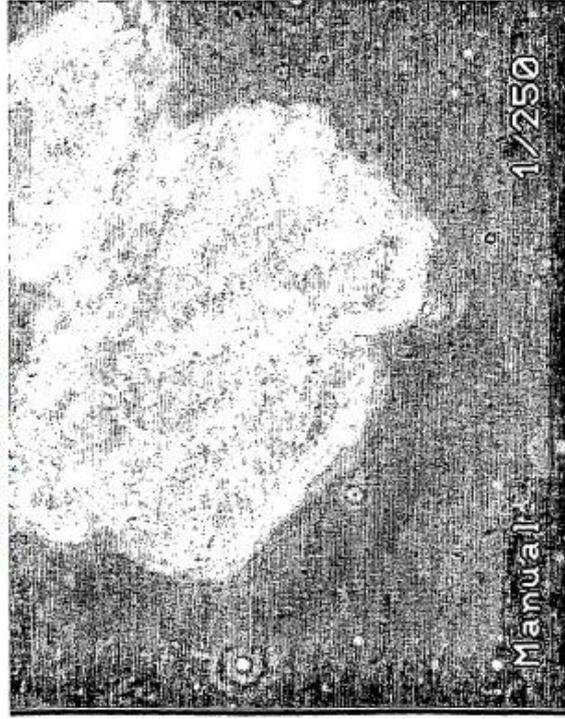


Figura 6

DOPS fluorescente y aceite de oliva
tras las eliminación del calcio



Figura 7

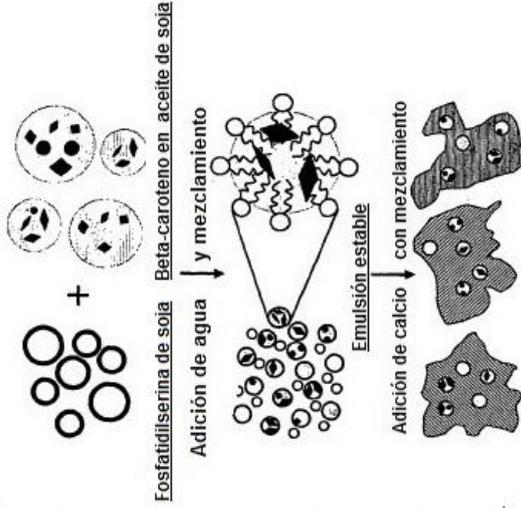
DOPS fluorescente y aceite de oliva
tras la eliminación del calcio



Figura 8

Preparación por atrapamiento de beta-caroteno en geodas de PS de soja que contienen aceite de soja más alfa-tocoferol al 1%

Figura 9



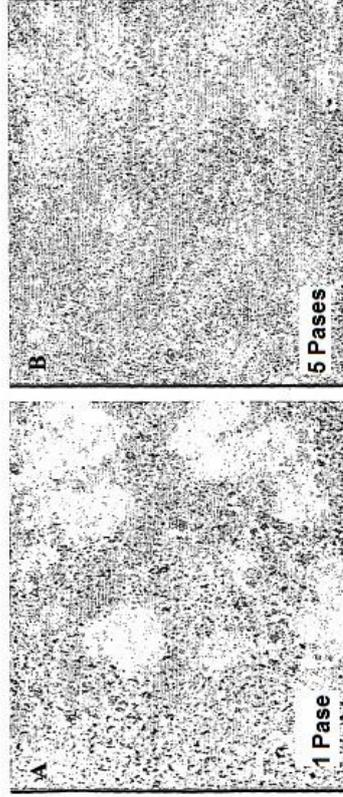
Procedimiento de formulación

1. Pesar en un tubo de vidrio 500 mg de PS de soja, 250 mg de beta-caroteno al 20% en aceite de soja, 10 mg de alfa-tocoferol y 240 mg de aceite de soja.
2. Preparar una emulsión fluida: mezclar energíca-mente la muestra a 45°C. La mayor parte del beta-caroteno está en las gotitas de aceite cuando se examina por microscopía óptica.
3. Añadir lentamente 4.5 ml de agua estéril en el tubo de vidrio con mezclado energético. El examen mi-croscópico muestra una emulsión estable con mu-chas gotitas de aceite de diferentes tamaños, algu-nas gotitas de aceite libres y muchas pequeñas par-tículas móviles.
4. Añadir gota a gota en el tubo de vidrio con mezcla-miento energético 3,3 ml de solución de calcio 0,1 M

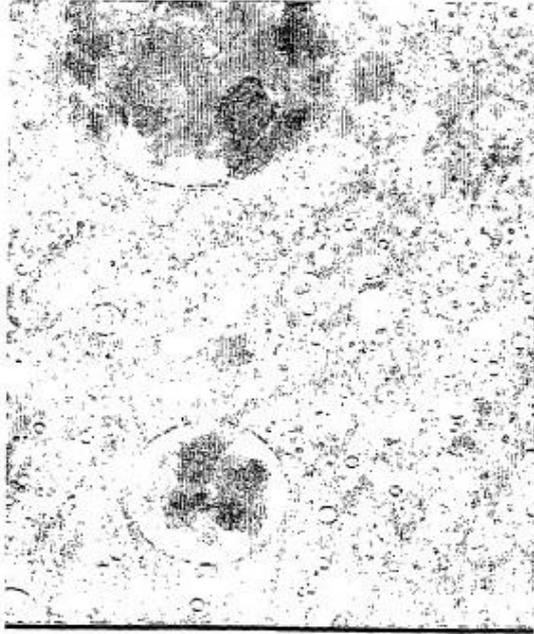
Gotitas de aceite dentro de un estrato lipídico

Emulsión de lípido, aceite y beta-caroteno

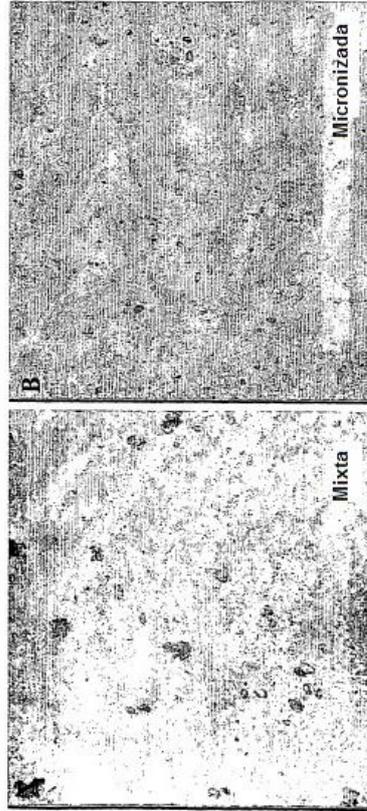
Figura 10



Emulsión estable
Figura 11



Geodas de beta-caroteno-aceite
Figura 12



Geodas de beta-caroteno-aceite
Figura 13

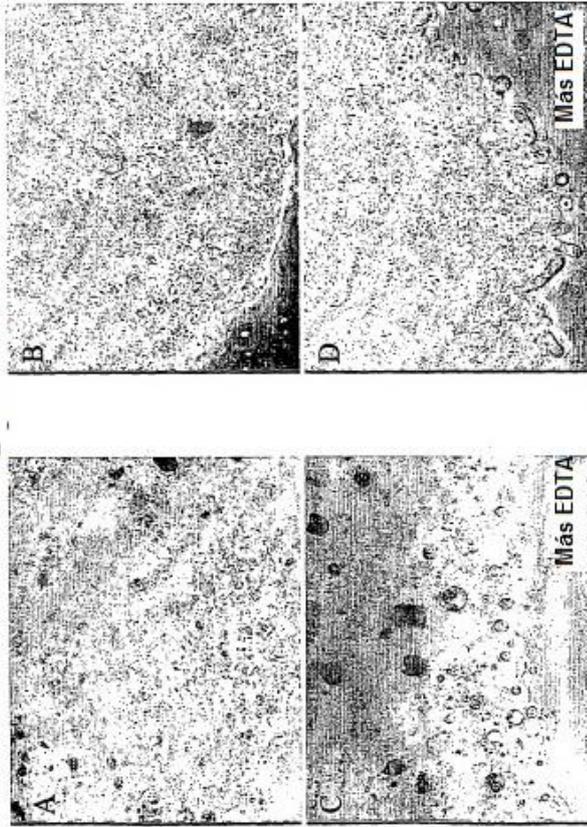




Figura 14B



Figura 14D



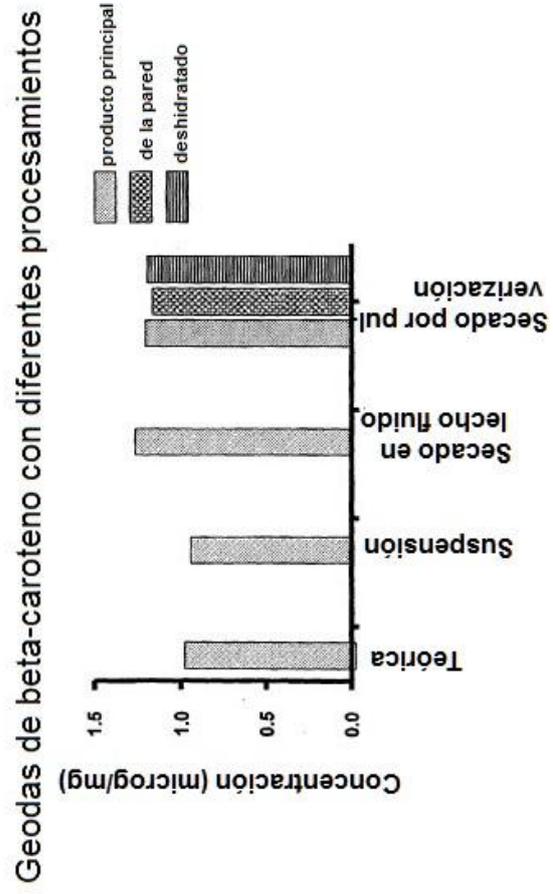
Figura 14A



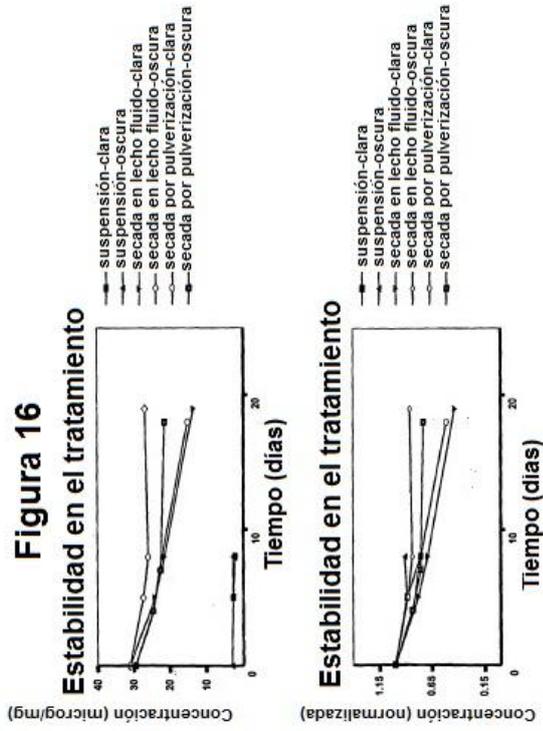
Figura 14C

Estudio de estabilidad I

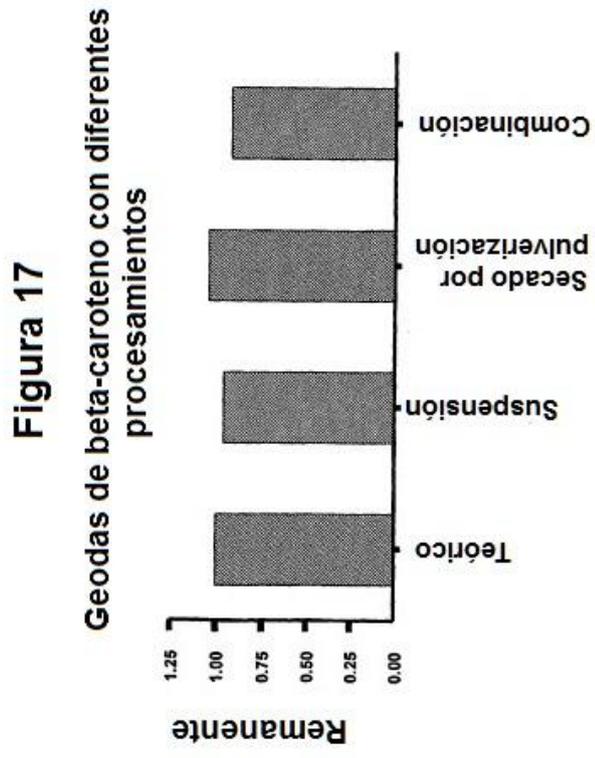
Figura 15



Estudio de estabilidad I



Estudio de estabilidad II



Molletes que contienen
geodas de beta-caroteno



Figura 18

Aplicación tópica de geodas de beta-caroteno

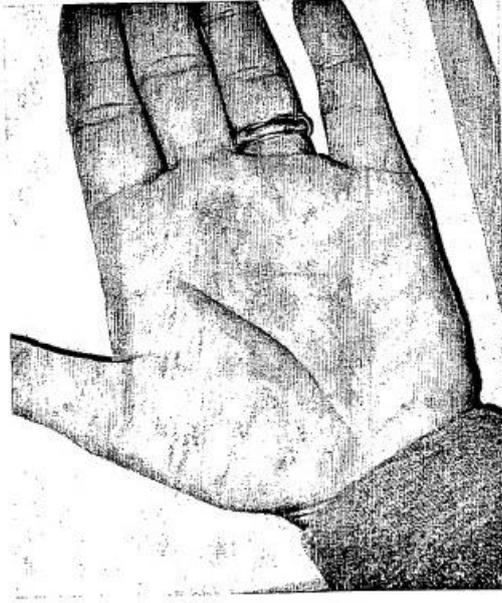


Figura 19