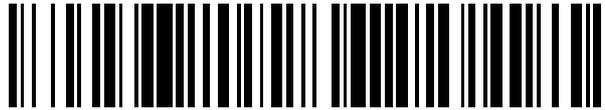


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 516 665**

51 Int. Cl.:

A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.12.2005 E 05292820 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.08.2014 EP 1891962**

54 Título: **Sistema de administración basado en glutatión**

30 Prioridad:

19.12.2005 US 303934

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

31.10.2014

73 Titular/es:

**INDUSTRIAL TECHNOLOGY RESEARCH
INSTITUTE (100.0%)
No. 195, Sec. 4, Chung Hsing Rd. Chutung
Hsinchu, TW**

72 Inventor/es:

**WANG, AE-JUNE;
JIAN, CHI-HENG;
LI, SHYH-DAR;
LIN, YI-FONG y
LIU, SHIH-JR**

74 Agente/Representante:

TOMAS GIL, Tesifonte Enrique

ES 2 516 665 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

Sistema de administración basado en glutatión

Antecedentes

- 5
- [0001] La invención se refiere a un sistema de administración biológico, y más específicamente a un sistema de administración basado en glutatión.
- 10
- [0002] La barrera hematoencefálica (BBB) está compuesta de células endoteliales cerebrales capaces de bloquear sustancias extrañas como la toxina, debido a la estrecha juntura entre ellas. Las moléculas de peso molecular bajo o hidrofóbicas, no obstante, pueden pasar a través de la BBB por difusión pasiva.
- 15
- [0003] Sin embargo, compuestos activos, tales como fármacos de proteína hidrofílica para tratar enfermedades nerviosas o cerebrales y fármacos de péptido analgésico que actúan sobre el sistema nervioso central, no pueden entrar en el tejido cerebral de este modo debido a su elevado peso molecular o hidrofílicidad, dando como resultado descomposición por enzimas.
- 20
- [0004] Investigaciones actuales avanzan varios métodos que permiten a los compuestos activos pasar a través de la BBB, incluyendo la modificación estructural para aumentar la hidrofobicidad de los fármacos, el transporte mediado por absorción (AMT) que permite a los portadores de carga positiva pasar mediante absorción de carga, transcitosis mediada por portador (CMT) que permite a los iones metálicos hidrofílicos como Na⁺ y K⁺, dipéptidos, tripéptidos o glucosa pasar mediante transportadores, y la transcitosis mediada por receptor (RMT) permitiendo a las macro moléculas como la insulina, la transferrina o la lipoproteína de baja densidad (LDL) pasar mediante transcitosis.
- 25
- [0005] El glutatión (GSH) es un antioxidante endógeno. Si su concentración en el suero es insuficiente, pueden aparecer algunas enfermedades nerviosas, tal como el síndrome de fatiga crónica (CFS).
- 30
- [0006] En 1988, Kiwada Hiroshi proporcionó un liposoma capaz de acumularse en el hígado que comprende un N-acil-glutatión como N-palmitoilglutatión y un fosfolípido como fosfotidilcolina para localizar y tratar enfermedades del hígado citadas en JP63002922.
- [0007] En 1994, Berislav V. Zlokovic afirmó que el glutatión (GSH) alcanza y pasa a través de la BBB de una cobaya mediante una vía especial, como el transportador GSH, sin descomposición.
- 35
- [0008] En 1995, Berislav V. Zlokovic confirmó que el glutatión (GSH) existe en el astrocito cerebral y en las células endoteliales con una concentración milimolar.
- 40
- [0009] En 1995, Ram Kannan afirmó que la absorción del GSH depende de la concentración de Na⁺. Si la concentración de Na⁺ es baja, la absorción del GSH de las células endoteliales del cerebro puede ser inhibida. Él también señaló que el transportador de GSH dependiente de Na localizado en el lado luminal de la BBB controla la absorción de GSH y el transportador de GSH independiente de Na localizado en el lado luminal de la BBB controla el flujo de salida de GSH. Además, Kannan construyó un sistema de transportador de GSH canicular hepático de rata (RcGSHT) que utiliza los cerebros de ratones y cobayas para analizar los fragmentos 5, 7 y 11 del cDNA. Los resultados indican que el fragmento 7 representa un transportador de GSH dependiente de Na y los fragmentos 5 y 11 representan un transportador de GSH dependiente de Na.
- 45
- [0010] En 1999, Ram Kannan construyó un modelo de la línea celular endotelial del cerebro de un ratón (MBEC-4) simulando las situaciones de la BBB. El modelo probó que el transportador de GSH dependiente de Na se localiza en el lado luminal de la célula MBEC-4.
- 50
- [0011] En 2000, Ram Kannan afirmó que el GSH pasa a través de la BBB mediante un transportador de GSH dependiente de Na en células endoteliales cerebrovasculares humanas (HCEC) y el transportador de GSH dependiente de Na se encuentra en la membrana plasmática luminal del HCEC.
- 55
- [0012] En 2003, Zhao Zhiang proporcionó un profármaco anti-cáncer unido a s-transferasa de glutatión (GST) /glutatión (GSH) por enlaces covalentes de sulfonamida para localizar y tratar células cancerosas específicas después de que se rompan los enlaces de sulfonamida nombrados en US2003109555. Esta modificación puede proteger grupos amino de fármacos, aumentar la solubilidad de estos, y alterar la absorción y distribución de los mismos en el cuerpo.
- 60

Resumen

[0013] La invención proporciona la reivindicación 1.

5 [0014] La invención también proporciona la reivindicación 11.

[0015] Se da una descripción detallada en las siguientes formas de realización con referencias a los dibujos anexos.

Breve descripción de los dibujos

10 [0016] La invención puede ser entendida más completamente mediante la lectura de la siguiente descripción detallada y los ejemplos con referencias hechas a los dibujos anexos, donde:

15 FIG. 1 muestra un sistema de administración de la invención.

FIG. 2 muestra el máximo efecto posible (MPE) de varios portadores de met-enkefalina de la invención.

FIG. 3 muestra la área bajo la curva (AUC) de varios portadores de met-enkefalina de la invención.

20 FIG. 4 muestra el máximo efecto posible (MPE) de varios portadores de gabapentina de la invención.

FIG. 5 muestra el área bajo curva (AUC) de varios portadores de gabapentina de la invención.

25 FIG. 6 muestra la estabilidad de suero de la met-enkefalina libre y la met-enkefalina en liposomas.

Descripción detallada

[0017] La invención proporciona la reivindicación 1. El portador puede comprender nanopartícula, nanopartícula polimérica, nanopartícula de líquido sólido, micela polimérica, liposoma, microemulsión, o nanopartícula de base líquida. El liposoma comprende al menos uno de lecitina como la lecitina de soja y la lecitina hidrogenada como la lecitina de soja hidrogenada. El liposoma puede comprender además colesterol, vitamina E hidrosoluble, u octadecil amina para aumentar la resistencia de suero o las cantidades de carga. La proporción de la composición molar del liposoma puede ser 0.5-100% de lecitina o lecitina hidrogenada, 0.005-75% de colesterol o vitamina E hidrosoluble, 0.001-25% de octadecil amina.

35 [0018] Además, el portador puede encapsular el compuesto activo con una eficiencia de encapsulación de aproximadamente 0,5- 100%. El compuesto activo puede comprender pequeños compuestos de molécula como la gabapentina, péptidos como la enkefalina, proteínas, plásmidos de ADN, oligonucleótidos, o fragmentos de gen y tienen una proporción molar de aproximadamente 0.0005-95% en el portador.

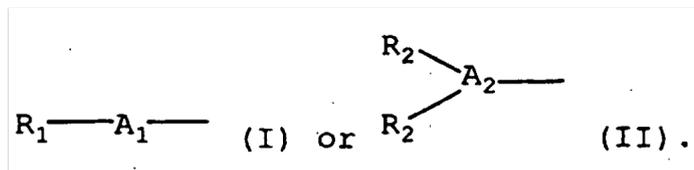
40 [0019] El portador previsto o el compuesto activo pueden tener como objetivo los transportadores de glutatión de órganos como el corazón, los pulmones, el hígado, los riñones, o la barrera hematoencefálica.

45 [0020] Específicamente, el compuesto activo puede atravesar la barrera hematoencefálica (BBB), como las células endoteliales cerebrales, con el portador previsto y tiene un índice de penetración celular de aproximadamente 0.01-100%.

50 [0021] La invención también proporciona un compuesto que comprende una fracción que comprende un derivado de vitamina E o un derivado de fosfolípido, un polietilenglicol (PEG) o un derivado de polietilenglicol conectado a este, y un glutatión (GSH) o un derivado de glutatión conectado al polietilenglicol o al derivado de polietilenglicol.

55 [0022] El derivado de vitamina E comprende derivados de tocoferol o derivados de tocotrienol y pueden ser α -tocoferol, β -tocoferol, γ -tocoferol, 5-tocoferol, α -tocotrienol, β -tocotrienol, γ -tocotrienol, δ -tocotrienol, succinato de α -tocoferol, succinato de β -tocoferol, succinato de γ -tocoferol, succinato de 5-tocoferol, succinato de α -tocotrienol, succinato de β -tocotrienol, succinato de γ -tocotrienol, succinato de δ -tocotrienol, acetato de α -tocoferol, acetato de β -tocoferol, acetato de γ -tocoferol, acetato de δ -tocoferol, acetato de α -tocotrienol, acetato de β -tocotrienol, acetato de γ -tocotrienol, acetato de δ -tocotrienol, nicotinato de α -tocoferol, nicotinato de β -tocoferol, nicotinato de γ -tocoferol, nicotinato de δ -tocoferol, nicotinato de α -tocotrienol, nicotinato de β -tocotrienol, nicotinato de γ -tocotrienol, nicotinato de δ -tocotrienol, fosfato de α -tocoferol, fosfato de β -tocoferol, fosfato de γ -tocoferol, fosfato de δ -tocoferol, fosfato de α -tocotrienol, fosfato de β -tocotrienol, fosfato de γ -tocotrienol, o fosfato de 5-tocotrienol.

[0023] El derivado de fosfolípido puede tener las siguientes fórmulas que comprenden R₁ -A₁ - (I) o



[0024] En la fórmula (I), A₁ es esfingosina y R₁ puede comprender octanoil o palmitoil. En la fórmula (II), A₂ es fosfoetanoamina y R₂ puede comprender miristoil, palmitoil, estearoil, u oleoil.

[0025] El polietilenglicol (PEG) o el derivado de polietilenglicol tiene un número de polimerización (n) de aproximadamente 6-210. El peso molecular del polietilenglicol (PEG) o el derivado de polietilenglicol se puede alterar con varios derivados de vitamina E o derivados de fosfolípido. Por ejemplo, cuando el PEG o su derivado se conecta a derivados de vitamina E, puede tener un peso molecular de aproximadamente 30-10000, cuando el PEG o su derivado se conecta a los derivados de fosfolípido representados por la fórmula (I), puede tener un peso molecular de aproximadamente 750-5000, y cuando el PEG o su derivado se conecta a los derivados de fosfolípido representados por la fórmula (II), puede tener un peso molecular de aproximadamente 350-5000.

[0026] El derivado de polietilenglicol puede comprender ácido carboxílico, maleimida, PDP, amida, o biotina.

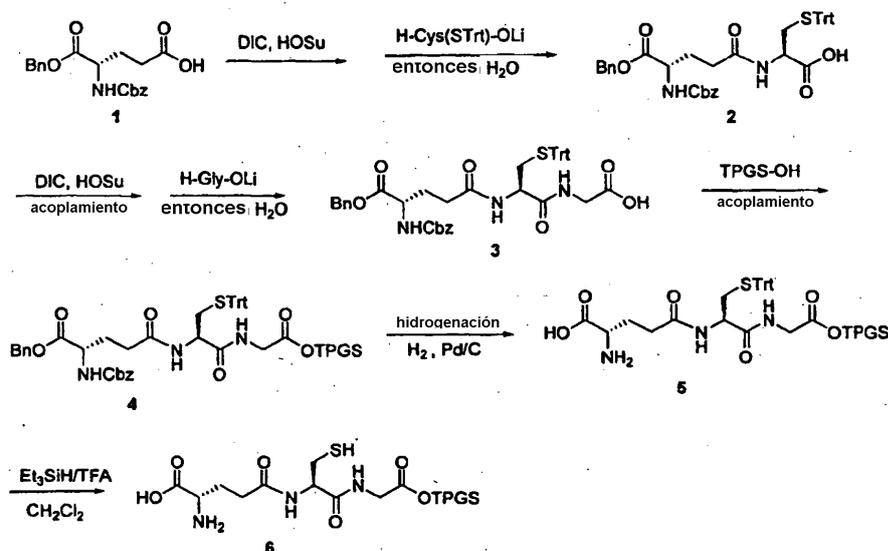
[0027] En referencia a la FIG. 1, se ilustra el sistema de administración de la invención. El sistema de administración comprende un liposoma 20 y un ligando 30 injertado sobre el mismo. El ligando 30 comprende una fracción 40 que comprende un derivado de vitamina E o un derivado de fosfolípido, un polietilenglicol (PEG) o un derivado de polietilenglicol 50 conectado a este, y un glutatión (GSH) o un derivado de glutatión 60 conectado al polietilenglicol y al derivado de polietilenglicol.

[0028] Compuestos activos, como proteínas, péptidos, o moléculas pequeñas, transportados por el portador previsto con un nuevo ligando de glutatión (GSH) proporcionado por la invención pueden pasar eficazmente a través de la barrera hematoencefálica por transcitosis mediada por portador- (CMT) o transcitosis mediada por receptor (RMT) para tratar enfermedades nerviosas o cerebrales.

Ejemplo 1

Preparación de Glutatión-TPGS

[0029]



- [0030] Una solución agitada de aminoácido de bencilo de n-Cbz (Glutamina de n-Cbz, 1.0 equiv) y N-hidroxisuccinimida (HOSu, 1.0 equiv) en DME (15mL) fue enfriada a 0°C. Se añadió dicitclohexilcarbodiimida (DIC, 1.0 equiv) y fue agitado a esta temperatura durante 4h. La mezcla de reacción se dejó reposar 2h en un frigorífico y luego fue filtrada.
- 5 [0031] Como estaba previsto, el compuesto puro se obtuvo en un rendimiento excelente (98%) después de la filtración de la dicitclohexilurea (DCU) formada y la evaporación del disolvente. El residuo fue triturado en Et₂O/hexanos, filtrado, y luego secado al vacío para proporcionar un sólido blanco.
- 10 [0032] La sal de litio (+)-S-tritilcisteína (H-Cis(STrt)-OLi, 1.0 equiv) y el carbonato de sodio (Na₂CO₃, 5.0 equiv) fueron disueltos en agua (15mL), y luego se añadió acetonitrilo (CH₃CN) seguido del producto intermediario obtenido en el paso 2. Se agitó enérgicamente la mezcla a temperatura ambiente durante 3-6hr hasta que el análisis TLC indicó la ausencia de producto intermediario del paso 2. La solución se lavó con agua (2*100mL) y la fase orgánica fue secada con Na₂SO₄, filtrada, y concentrada al vacío para proporcionar el compuesto 2.
- 15 [0033] Una solución agitada de compuesto 2 y N-hidroxisuccinimida (HOSu, 1.0 equiv) en DME (15mL) fue enfriada a 0°C. Se añadió dicitclohexilcarbodiimida (DIC, 1.0 equiv) y fue agitado a esta temperatura durante 4h. Se dejó reposar la mezcla de reacción durante 2h en un frigorífico y luego fue filtrada.
- 20 [0034] Después de la retirada del disolvente y de DCU, la sal de litio de glicina (H-Gli-OLi, 1.0 equiv) y el carbonato de sodio (Na₂CO₃, 5.0 equiv) fueron disueltos en agua (15mL), y luego el acetonitrilo (CH₃CN) fue añadido seguido del producto intermediario obtenido en el paso 4. La mezcla fue enérgicamente agitada a temperatura ambiente durante 3-6h hasta que el análisis TLC indicó la ausencia del producto intermediario del paso 4. La solución se lavó con agua (2*100mL) y la fase orgánica fue secada con Na₂SO₄, filtrada, y concentrada al vacío para proporcionar el compuesto 3.
- 25 [0035] El succinato de polietilenglicol de tocoferilo d-alfa 1000 (TPGS-OH) fue acoplado al compuesto 3 mediante esterificación para proporcionar el compuesto 4.
- [0036] El compuesto 4 en el metanol (100mL) fue añadido 10% Pd-C (0.2 veces el peso del tripéptido-TPGS protegido). La suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 16h bajo un balón lleno de hidrógeno. La suspensión fue filtrada a través de celita y fue evaporada, y el residuo fue cristalizado a partir de etanol. Luego, se obtuvo el compuesto 5.
- 30 [0037] El trietilsilano (Et₃SiH) y la desprotección mediada por TFA del compuesto 5 en presencia de CH₂Cl₂ proporcionó el compuesto 6 (que es GSH-TPGS).
- 35 Preparación de la solución del portador de met-enkefalina
- [0038] 0.5g de lípido que contiene 83.2% de fosfatidilcolina de semilla de soja (SPC), 4.2% de succinato de α-tocoferol PEG 1500 (TPGS), 4.2% de glutatión-TPGS (GSH-TPGS), y 8.4% de colesterol fueron colocados en un mortero de 12.5mL ZrO₂. Cantidades apropiadas de met-enkefalina fueron disueltas en 10mM de solución de fosfato con f7.4 para formar un 4% de solución farmacológica. 0.5mL de solución farmacológica y cinco microesferas de ZrO₂ (10mm de diámetro) fueron luego añadidos al mortero y fueron molidos con 500rpm durante una hora para formar una crema pegajosa. A continuación, 0.2g de crema pegajosa y 1.8mL de solución de fosfato (10mM; f7.4) fueron añadidos a un matraz de 10mL para hidratar a temperatura ambiente durante una hora para formar una solución portadora que contiene liposomas de encapsulación de met-enkefalina. La concentración de met-enkefalina en un liposoma fue 0.56mg/mL. La eficiencia de encapsulación de esta fue del 33.3%. El diámetro medio del portador fue 173.1nm al igual que el índice de polidispersidad (PI) fue 0.243.
- 40
- 45
- Ejemplos 2-6**
- 50 [0039] Los métodos de preparación de los ejemplos 2-6 son similares a los del ejemplo 1. Las diferencias entre ellos son las diversas composiciones de portador. Por favor, vea las tablas 1 y 2.

Tabla 1

(Proporción molar)							
Ejemplo	Lecitina de soja	Lecitina de soja H	Colesterol	TPGS	TPGS- GSH	Octadecilamina	Met-enkefalina
2	10	-	1	-	1	-	0.48
3	10	-	1	-	1	1	1.60
4	9	1	1	0.5	0.5	-	1.60
5	9	1	1	0.75	0.25	-	1.60
6	9	1	1	-	1	-	1.60

Tabla 2

Ejemplo	Diámetro medio (nm)	PI	Concentración de met-enkefalina (mg/mL)	Eficiencia de encapsulación (%)
2	162.7	0.227	0.56	31.70
3	161.4	0.046	4.00	70.33
4	214.1	0.003	3.25	68.85
5	165.3	0.137	3.40	68.48
6	214.5	0.116	3.99	80.78

5

Ejemplo 7

Preparación de la solución del portador de gabapentina

10 [0040] 0.5g de lípido que contiene un 83.2% de fosfatidilcolina de semilla de soja (SPC), un 4.2% de succinato de α -
 tocoferol PEG 1500 (TPGS), un 4.2% de glutatión-TPGS (GSH-TPGS), y un 8.4% de colesterol fue colocado en un
 mortero de 12.5mL ZrO₂. Cantidades apropiadas de gabapentina fueron disueltas en 10mM de solución de fosfato con
 pH7.4 para formar un 10% de solución farmacológica. 0.5mL de solución farmacológica y cinco microesferas de ZrO₂
 15 (10mm de diámetro) fueron luego añadidos al mortero y molidos con 500rpm durante una hora para formar una crema
 pegajosa. A continuación, 0.2g de crema pegajosa y 1.8mL de solución de fosfato (10mM; pH7.4) fueron añadidos a un
 matraz de 10mL para hidratar a temperatura ambiente durante una hora para formar una solución portadora que
 contiene liposomas de encapsulación de gabapentina. La concentración de gabapentina en un liposoma fue de
 1.08mg/mL. La eficiencia de encapsulación de esta fue del 35.7%. El diámetro medio del portador fue de 147.7nm al
 igual que el índice de polidispersidad (PI) fue 0.157.

20

Ejemplo comparativo 1

Preparación de la solución del portador de met-enkefalina

25 [0041] 0.5g de lípido que contiene un 83.2% de fosfatidilcolina de semilla de soja (SPC), un 8.4% de succinato de α -
 tocoferol PEG 1500 (TPGS), y un 8.4% de colesterol fue colocado en un mortero de 12.5mL ZrO₂. Cantidades
 apropiadas de met-enkefalina fueron disueltas en 10mM de solución de fosfato con pH7.4 para formar un 4% de solución
 farmacológica. 0.5mL de solución farmacológica y cinco microesferas de ZrO₂ (10mm de diámetro) fueron luego
 añadidos al mortero y molidos con 500rpm durante una hora para formar una crema pegajosa. A continuación, 0.2g de
 30 crema pegajosa y 1.8mL de solución de fosfato (10mM; pH7.4) fueron añadidos a un matraz de 10mL para hidratar a
 temperatura ambiente durante una hora para formar una solución portadora que contiene liposomas de encapsulación de
 met-enkefalina. La concentración de met-enkefalina en un liposoma fue de 0.57mg/mL. La eficiencia de encapsulación
 de la misma fue de 31.1%. El diámetro medio del portador fue 164.1nm al igual que el índice de polidispersidad (PI) fue
 0.281.

35

Ejemplos comparativos 2-3

[0042] Los métodos de preparación de los ejemplos comparativos 2-3 son similares al ejemplo comparativo 1. Las diferencias entre ellos son las diversas composiciones del portador. Por favor, vea las tablas 3 y 4.

Tabla 3

(Proporción molar)						
Ejemplo comparativo	Lecitina de soja	Lecitina de soja H	Colesterol	TPGS	Octadecilamina	Met-enkefalina
2	10	-	1	1	1	1.60
3	9	1	1	1	-	1.60

5

Tabla 4

Ejemplo comparativo	Diámetro medio (nm)	PI	Concentración de met-enkefalina (mg/ml)	Eficiencia de encapsulación (%)
2	159.7	0.103	3.58	70.17
3	149.0	0.168	3.22	69.67

Ejemplo comparativo 4

10 Preparación de la solución del portador de gabapentina

[0043] 0.5g de lípido que contiene un 83.2% de fosfatidilcolina de semilla de soja (SPC), un 8.4% de succinato de α -tocoferol PEG 1500 (TPGS), y un 8.4% de colesterol fue colocado en un mortero de 12.5mL ZrO₂. Cantidades apropiadas de gabapentina fueron disueltas en 10mM de solución de fosfato con pH7.4 para formar un 10% de solución farmacológica. 0.5mL de solución farmacológica y cinco microesferas de ZrO₂ (10mm de diámetro) fueron luego añadidos al mortero y molidas con 500rpm durante una hora para formar una crema pegajosa. A continuación, 0.2g de crema pegajosa y 1.8mL de solución de fosfato (10mM; f7.4) fueron añadidos a un matraz de 10mL para hidratar a temperatura ambiente durante una hora para formar una solución portadora que contiene liposomas de encapsulación de gabapentina. La concentración de gabapentina en un liposoma fue 1.17mg/mL. La eficiencia de encapsulación de la misma fue del 38.5%. El diámetro medio del portador fue 155.8nm al igual que el índice de polidispersidad (PI) fue 0.186.

20

Prueba 1 del índice de penetración *in vitro* del liposoma de met-enkefalina

[0044] El índice de penetración de la met-enkefalina fue medida utilizando un modelo de célula RBE4/glioma simulando situaciones BBB. Los resultados de la prueba de los ejemplos 1-2 (que contienen glutatión) y el ejemplo comparativo 1 (sin glutatión) se comparan en la tabla 5.

25

Tabla 5

Ejemplo	Dosis farmacológica (μ g)	Índice de penetración (%)	SD
Ejemplo comparativo 1	182.6	3.4	0.6
Ejemplo 1	167.7	9.8	1.3
Ejemplo 2	165.2	9.8	1.2

30 [0045] Los resultados indican que los ejemplos 1 y 2 tienen un índice de penetración aparentemente más alto (9.8%) aproximadamente 2.82 veces mayor que el ejemplo comparativo 1 (3.4%).

Prueba 2 del índice de penetración *in vitro* del liposoma de met-enkefalina

35 [0046] El índice de penetración de met-enkefalina fue medido utilizando un modelo de célula RBE4/glioma simulando situaciones BBB. Los resultados de la prueba del ejemplo 3 (que contienen glutatión) y el ejemplo comparativo 2 (sin glutatión) se comparan en la tabla 6.

Tabla 6

Ejemplo	Dosis farmacológica (μg)	Índice de penetración (%)	SD
Ejemplo comparativo 2	250.0	3.55	0.36
Ejemplo 3	250.0	6.99	1.43
Ejemplo 3 (glutación añadido)	250.0	0.25	0.03

5 [0047] Los resultados indican que el ejemplo 3 tiene un índice de penetración aparentemente más alto (6.99%)
aproximadamente 1.96 veces mayor que el ejemplo comparativo 2 (3.55%). Además, aunque las células fueron
cultivadas con glutación durante 30 min antes de que el ejemplo 3 fuese realizado, el índice de penetración de este
disminuyó un 0.25% debido a la adición de glutación que ocupó el transportador de glutación de las células para bloquear
la unión de los portadores, reduciendo así la penetración del fármaco a través de la BBB. El resultado demuestra que el
10 portador de glutación proporcionado por la invención pasa a través de la BBB mediante la unión de ligando/transportador
de glutación para inducir la transcitosis mediada por portador (CMT) o la transcitosis mediada por receptor (RMT).

Prueba de placa calefactora del liposoma de met-enkefalina

15 [0048] Después de que le fuese inyectado por vía intravenosa a un ratón de laboratorio en una placa calefactora a 55°C,
fue evaluado el efecto analgésico en el dolor inducido por calor*. En referencia a la FIG. 2, para portadores sin glutación
(ejemplo comparativo 3), 90 min después de la inyección, el máximo efecto posible (MPE) de una dosis de 30mg/mL fue
del 13%. Para portadores que contienen glutación (ejemplo 5), 60 min después de la inyección, el máximo efecto posible
20 (MPE) de una dosis de 30mg/mL fue del 37%. En referencia a la FIG. 3, según la área bajo la curva (AUC), el ejemplo 5
proporciona 3.2 veces el efecto analgésico del ejemplo comparativo 3 y 14.7 veces la solución de met-enkefalina. Así,
los fármacos pueden ser transportados de forma segura por el portador con ligando de glutación para pasar a través de
la BBB para conseguir el efecto analgésico.

Prueba de placa calefactora del liposoma de gabapentina

25 [0049] Después de que le fuese inyectado por vía intravenosa a un ratón de laboratorio en una placa calefactora a 55°C,
fue evaluado el efecto analgésico en el dolor inducido por calor. En referencia a la FIG. 4, para portadores sin glutación
(ejemplo comparativo 4), 270 min después de la inyección, el máximo efecto posible (MPE) de una dosis de 10mg/mL
fue de 3.15%. Para portadores que contienen glutación (ejemplo 7), 180 min después de la inyección, el máximo efecto
30 posible (MPE) de una dosis de 10mg/mL fue del 4.47%. En referencia a la FIG. 5, según la área bajo la curva (AUC), el
ejemplo 7 proporciona 1.54 veces el efecto analgésico del ejemplo comparativo 4 ($p < 0.005$) y 2.76 veces la solución de
gabapentina ($p < 0.0005$). Así, los fármacos pueden ser transportados de forma segura por el portador con ligando de
glutación para pasar a través de la BBB para conseguir el efecto analgésico.

Prueba de estabilidad de suero del liposoma de met-enkefalina

35 [0050] Los portadores proporcionados por el ejemplo 5 y el suero de bovino fetal (FBS) fueron mezclados con 1:1 (v/v)
para formar una solución. Después de ser colocado en un baño maría a 37°C durante 0, 1, 2, y 4 horas,
respectivamente, la solución fue analizada mediante filtración por gel (Sephrox CL-4B, 75mm x 120mm) y fue medida la
40 concentración residual de met-enkefalina en los liposomas. Los resultados se muestran en la FIG. 6.

[0051] Los resultados indican que la concentración de met-enkefalina en los liposomas permanece por encima del 93%.
No obstante, la concentración residual de met-enkefalina libre se reduce a 2%. Está claro que el portador proporcionado
por la invención tiene alta resistencia de suero.

45 [0052] Aunque la invención ha sido descrita por medio de ejemplos y en términos de realización preferida, debe
entenderse que la invención no está limitada a esto. Al contrario, se destina para cubrir varias modificaciones y
disposiciones similares dentro del campo de las reivindicaciones anexas (como deben saber los expertos en la técnica).

REIVINDICACIONES

1. Sistema de administración, comprendiendo:

Un portador; y,

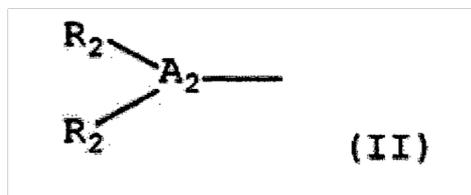
ligando injertado sobre el mismo, donde el ligando comprende una fracción que comprende un derivado de vitamina E o un derivado de fosfolípido, un derivado de polietilenglicol conectado a este, y glutatión conectado al derivado de polietilenglicol,

donde el derivado de vitamina E es seleccionado del grupo consistente en α -tocoferol, β -tocoferol, γ -tocoferol, δ -tocoferol, α -tocotrienol, β -tocotrienol, γ -tocotrienol, δ -tocotrienol, succinato de α -tocoferol, succinato de β -tocoferol, succinato de γ -tocoferol, succinato de δ -tocoferol, succinato de α -tocotrienol, succinato de β -tocotrienol, succinato de γ -tocotrienol, succinato de δ -tocotrienol, acetato de α -tocoferol, acetato de β -tocoferol, acetato de γ -tocoferol, acetato de δ -tocoferol, acetato de α -tocotrienol, acetato de β -tocotrienol, acetato de γ -tocotrienol, acetato de δ -tocotrienol, nicotinato de α -tocoferol, nicotinato de β -tocoferol, nicotinato de γ -tocoferol, nicotinato de δ -tocoferol, nicotinato de α -tocotrienol, nicotinato de β -tocotrienol, nicotinato de γ -tocotrienol, nicotinato de δ -tocotrienol, fosfato de α -tocoferol, fosfato de β -tocoferol, fosfato de γ -tocoferol, fosfato de δ -tocoferol, fosfato de α -tocotrienol, fosfato de β -tocotrienol, fosfato de γ -tocotrienol, o fosfato de δ -tocotrienol,

donde el derivado de fosfolípido es seleccionado del grupo consistente en un derivado de fosfolípido con fórmula (I):



donde A1 es esfingosina y R1 es octanoil o palmitoil, y un derivado de fosfolípido con fórmula (II):



donde A2 es fosfoetanoamina y R2 es miristoilo, palmitoil, estearoil, u oleoil, y donde el derivado de polietilenglicol es seleccionado del grupo consistente en el polietilenglicol, polietilenglicol que comprende ácido carboxílico, polietilenglicol que comprende maleimida, polietilenglicol que comprende PDP, polietilenglicol que comprende amida, y polietilenglicol que comprende biotina.

2. Sistema de administración según la reivindicación 1, donde el portador es un liposoma.

3. Sistema de administración según la reivindicación 2, donde el liposoma comprende al menos uno de lecitina y lecitina hidrogenada.

4. Sistema de administración según reivindicaciones 2 o 3, donde el liposoma comprende además colesterol, vitamina E hidrosoluble, u octadecil amina.

5. Sistema de administración según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 4, donde el portador comprende además un compuesto activo encapsulado en este.

6. Sistema de administración según 5, donde el compuesto activo comprende pequeños compuestos de molécula, péptidos, proteínas, plásmidos de ADN, oligonucleótidos, o fragmentos de gen.

7. Sistema de administración según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 6, donde el derivado de polietilenglicol tiene número de polimerización (n) de aproximadamente 6-210.

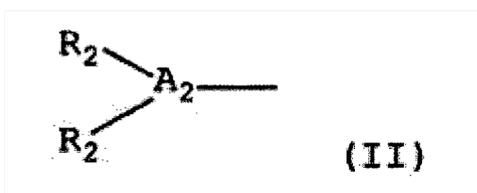
8. Sistema de administración según reivindicación 7, donde, cuando la fracción es un derivado de vitamina E, el derivado de polietilenglicol tiene peso molecular de aproximadamente 300-10000.

9. Sistema de administración según reivindicación 7, donde, cuando la fracción es derivado de fosfolípido con fórmula (I):



5 donde A₁ es esfingosina y R₁ es octanoil o palmitoil, el derivado de polietilenglicol tiene peso molecular de aproximadamente 750-5000.

10. Sistema de administración según reivindicación 7, donde, cuando la fracción es derivado de fosfolípido con fórmula (II):



10 donde A₂ es fosfoetanoamina y R₂ es miristoilo, palmitoil, estearoil, u oleoil, el derivado de polietilenglicol tiene peso molecular de aproximadamente 350-5000.

11. Compuesto, comprendiendo:

15 Fracción que comprende un derivado de vitamina E o un derivado de fosfolípido, un derivado de polietilenglicol conectado a este, y un glutatión conectado al derivado de polietilenglicol,

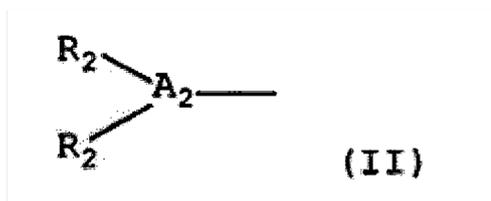
Donde el derivado de vitamina E es seleccionado del grupo consistente en α-tocoferol, β-tocoferol, γ-tocoferol, δ-tocoferol, α-tocotrienol, β-tocotrienol, γ-tocotrienol, δ-tocotrienol, succinato de α-tocoferol, succinato de β-tocoferol, succinato de γ-tocoferol, succinato de δ-tocoferol, succinato de α-tocotrienol, succinato de β-tocotrienol, succinato de γ-tocotrienol, succinato de δ-tocotrienol, acetato de α-tocoferol, acetato de β-tocoferol, acetato de γ-tocoferol, acetato de δ-tocoferol, acetato de α-tocotrienol, acetato de β-tocotrienol, acetato de γ-tocotrienol, acetato de δ-tocotrienol, nicotinato de α-tocoferol, nicotinato de β-tocoferol, nicotinato de γ-tocoferol, nicotinato de δ-tocoferol, nicotinato de α-tocotrienol, nicotinato de β-tocotrienol, nicotinato de γ-tocotrienol, nicotinato de δ-tocotrienol, fosfato de α-tocoferol, fosfato de β-tocoferol, fosfato de γ-tocoferol, fosfato de δ-tocoferol, fosfato de α-tocotrienol, fosfato de β-tocotrienol, fosfato de γ-tocotrienol, o fosfato de δ-tocotrienol,

donde el derivado de fosfolípido es seleccionado del grupo consistente en un derivado de fosfolípido con fórmula (I):



30

donde A₁ es esfingosina y R₁ es octanoil o palmitoil, y un derivado de fosfolípido con fórmula (II):



35 donde A₂ es fosfoetanoamina y R₂ es miristoilo, palmitoil, estearoil, u oleoil, y donde el derivado de polietilenglicol es seleccionado del grupo consistente en polietilenglicol, polietilenglicol que comprende ácido carboxílico, polietilenglicol que comprende maleimida, polietilenglicol que comprende PDP, polietilenglicol que comprende amida, y polietilenglicol que comprende biotina.

40 12. Compuesto según la reivindicación 11, donde el derivado de polietilenglicol tiene un número de polimerización (n) de aproximadamente 6-210.

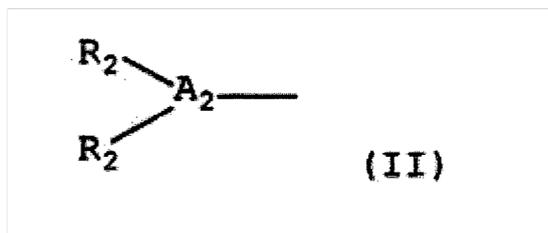
13. Compuesto según la reivindicación 12, donde, cuando la fracción es un derivado de vitamina E, el derivado de polietilenglicol tiene un peso molecular de aproximadamente 300-10000.

5 14. Compuesto según reivindicación 12, donde, cuando la fracción es derivado de fosfolípido con fórmula (I):



donde A₁ es esfingosina y R₁ es octanoil o palmitoil, el derivado de polietilenglicol tiene un peso molecular de aproximadamente 750-5000.

10 15. Compuesto según reivindicación 12, donde, cuando la fracción es un derivado de fosfolípido con fórmula (II):



donde A₂ es fosfoetanoamina y R₂ es miristoilo, palmitoil, estearoil, u oleoil, el derivado de polietilenglicol tiene un peso molecular de aproximadamente 350-5000.

15 16. Uso de un liposoma que encapsula un compuesto activo para tratar una enfermedad nerviosa o cerebral o para conseguir un efecto analgésico, y glutatión (GSH) injertado sobre el liposoma, para la producción de medicamento para dirigir el compuesto activo a los transportadores de glutatión de la barrera hematoencefálica para el tratamiento de una enfermedad nerviosa o cerebral o para conseguir un efecto analgésico.

20 17. Uso según reivindicación 16, donde el compuesto activo se transporta a través de la barrera hematoencefálica por el portador.

25 18. Uso según reivindicación 16 o 17, donde el compuesto activo comprende pequeños compuestos de molécula, péptidos, proteínas, plásmidos de ADN, oligonucleótidos, o fragmentos de gen.

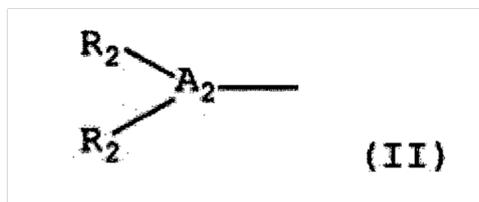
19. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 16 - 18, donde el liposoma comprende al menos uno de lecitina y lecitina hidrogenada, y donde el liposoma además opcionalmente comprende colesterol, vitamina E hidrosoluble, u octadecil amina.

30 20. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 16 - 19, donde el glutatión se injerta sobre el liposoma en un ligando y donde el ligando comprende una fracción que comprende un derivado de vitamina E o un derivado de fosfolípido, un derivado de polietilenglicol conectado a este, y un glutatión conectado al derivado de polietilenglicol, donde el derivado de vitamina E comprende derivados de tocoferol o derivados de tocotrienol seleccionados de α -tocoferol, β -tocoférol, γ -tocoferol, δ -tocoferol, α -tocotrienol, β -tocotrienol, γ -tocotrienol, δ -tocotrienol, succinato de α -tocoferol, succinato de β -tocoferol, succinato de γ -tocoferol, succinato de δ -tocoferol, succinato de α -tocotrienol, succinato de β -tocotrienol, succinato de γ -tocotrienol, succinato de δ -tocotrienol, acetato de α -tocoferol, acetato de β -tocoferol, acetato de γ -tocoferol, acetato de δ -tocoferol, acetato de α -tocotrienol, acetato de β -tocotrienol, acetato de γ -tocotrienol, acetato de δ -tocotrienol, nicotinato de α -tocoferol, nicotinato de β -tocoférol, nicotinato de γ -tocoferol, nicotinato de δ -tocoferol, nicotinato de α -tocotrienol, nicotinato de β -tocotrienol, nicotinato de γ -tocotrienol, nicotinato de δ -tocotrienol, fosfato de α -tocoferol, fosfato de β -tocoferol, fosfato de γ -tocoferol, fosfato de δ -tocoferol, fosfato de α -tocotrienol, fosfato de β -tocotrienol, fosfato de γ -tocotrienol, o fosfato de δ -tocotrienol, o, donde el derivado de fosfolípido tiene fórmula (I):



45 donde A₁ es esfingosina y R₁ comprende octanoil o palmitoil; o,

donde el derivado de fosfolípido tiene fórmula (II):



donde A₂ es fosfoetanoamina y R₂ comprende miristoilo, palmitoilo, estearoil, u oleoil, y donde el derivado de polietilenglicol es seleccionado del grupo consistente en polietilenglicol, polietilenglicol que comprende ácido carboxílico, polietilenglicol que comprende maleimida, polietilenglicol que comprende PDP, polietilenglicol que comprende amida, y polietilenglicol que comprende biotina.

21. Uso según reivindicación 20, donde, si la fracción es un derivado de vitamina E, el derivado de polietilenglicol tiene un peso molecular de aproximadamente 300-10000.

22. Uso según reivindicación 20, donde, si el derivado de fosfolípido tiene fórmula (I), el derivado de polietilenglicol tiene un peso molecular de aproximadamente 750-5000, o donde, si el derivado de fosfolípido tiene fórmula (II), el derivado de polietilenglicol tiene un peso molecular de aproximadamente 350-5000.

23. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 20 - 22, donde el derivado de polietilenglicol comprende ácido carboxílico, maleimida, PDP, amida, o biotina.

24. Uso según reivindicación 20, donde el polietilenglicol (PEG) o el derivado de polietilenglicol tiene un número de polimerización (n) de aproximadamente 6-210.

25. Liposoma que encapsula un compuesto activo para tratar enfermedad nerviosa o cerebral o para conseguir un efecto analgésico, y glutatión (GSH) injertado sobre el liposoma para dirigir el compuesto activo a los transportadores de glutatión de la barrera hematoencefálica para el tratamiento de una enfermedad nerviosa o cerebral o para conseguir un efecto analgésico.

26. Liposoma según la reivindicación 25, donde el compuesto activo se transporta a través de la barrera hematoencefálica por el portador.

27. Liposoma según reivindicación 25 o 26, donde el compuesto activo comprende pequeños compuestos de molécula, péptidos, proteínas, plásmidos de ADN, oligonucleótidos, o fragmentos de gen.

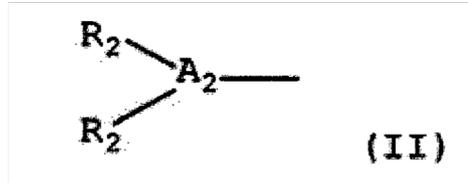
28. Liposoma según cualquiera de las reivindicaciones 25 - 27, donde el liposoma comprende al menos uno de lecitina y lecitina hidrogenada, y donde el liposoma además opcionalmente comprende colesterol, vitamina E hidrosoluble, u octadecil amina.

29. Liposoma según cualquiera de las reivindicaciones 25 - 28, donde el glutatión se injerta sobre el liposoma en un ligando y donde el ligando comprende una fracción que comprende un derivado de vitamina E o un derivado de fosfolípido, un derivado de polietilenglicol conectado a este, y un glutatión conectado al derivado de polietilenglicol, donde el derivado de vitamina E comprende derivados de tocoferol o derivados de tocotrienol seleccionados de α-tocoferol, β-tocoferol, γ-tocoferol, δ-tocoferol, α-tocotrienol, β-tocotrienol, γ-tocotrienol, δ-tocotrienol, succinato de α-tocoferol, succinato de β-tocoferol, succinato de γ-tocoferol, succinato de δ-tocoferol, succinato de α-tocotrienol, succinato de β-tocotrienol, succinato de γ-tocotrienol, succinato de δ-tocotrienol, acetato de α-tocoferol, acetato de β-tocoferol, acetato de γ-tocoferol, acetato de δ-tocoferol, acetato de α-tocotrienol, acetato de β-tocotrienol, acetato de γ-tocotrienol, acetato de δ-tocotrienol, nicotinato de α-tocoferol, nicotinato de β-tocoferol, nicotinato de γ-tocoferol, nicotinato de δ-tocoferol, nicotinato de α-tocotrienol, nicotinato de β-tocotrienol, nicotinato de γ-tocotrienol, nicotinato de δ-tocotrienol, fosfato de α-tocoferol, fosfato de β-tocoferol, fosfato de γ-tocoferol, fosfato de δ-tocoferol, fosfato de α-tocotrienol, fosfato de β-tocotrienol, fosfato de γ-tocotrienol, o fosfato de δ-tocotrienol, o,

donde el derivado de fosfolípido tiene fórmula (I):



donde A₁ es esfingosina y R₁ comprende octanoil o palmitoil; o,
donde el derivado de fosfolípido tiene fórmula (II):



donde A₂ es fosfoetanoamina y R₂ comprende miristoilo, palmitoil, estearoil, u oleoil,

5 y donde el derivado de polietilenglicol es seleccionado del grupo consistente en polietilenglicol, polietilenglicol que comprende ácido carboxílico, polietilenglicol que comprende maleimida, polietilenglicol que comprende PDP, polietilenglicol que comprende amida, y polietilenglicol que comprende biotina.

10 30. Liposoma según la reivindicación 29, donde, si la fracción es un derivado de vitamina E, el derivado de polietilenglicol tiene un peso molecular de aproximadamente 300-10000.

15 31. Liposoma según la reivindicación 29, donde, si el derivado de fosfolípido tiene fórmula (I), el derivado de polietilenglicol tiene un peso molecular de aproximadamente 750-5000, o donde, si el derivado de fosfolípido tiene la fórmula (II), el derivado de polietilenglicol tiene un peso molecular de aproximadamente 350-5000.

32. Liposoma según cualquiera de las reivindicaciones 29 - 32, donde el derivado de polietilenglicol comprende ácido carboxílico, maleimida, PDP, amida, o biotina.

20 33. Liposoma según la reivindicación 29, donde el polietilenglicol (PEG) o el derivado de polietilenglicol tiene un número de polimerización (n) de aproximadamente 6-210.

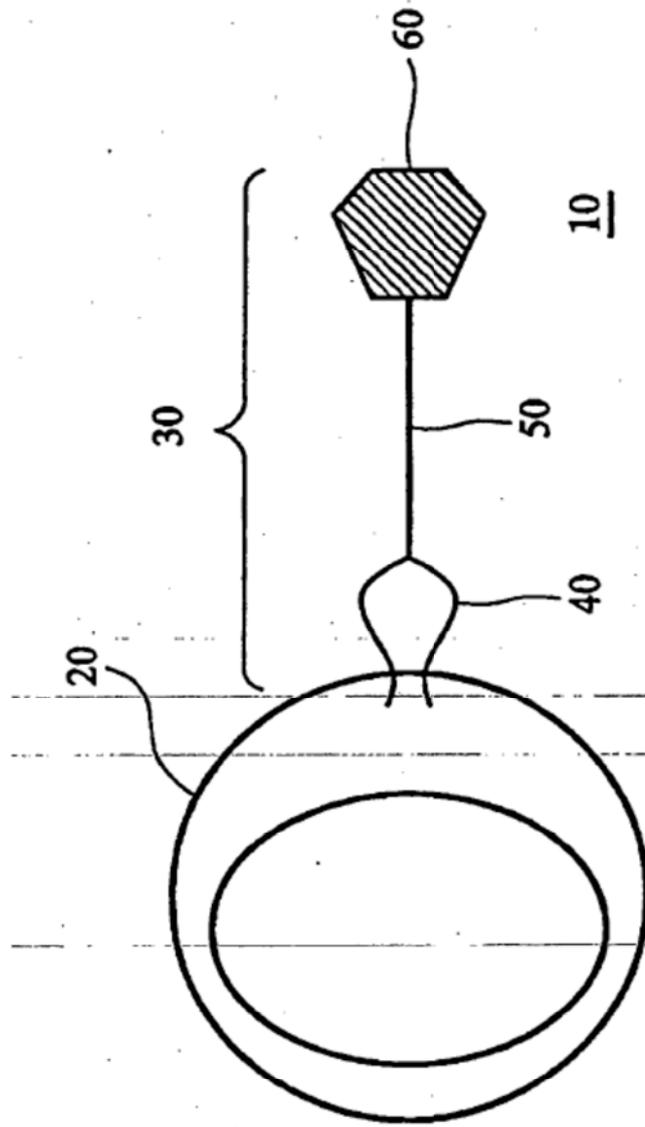


FIG. 1

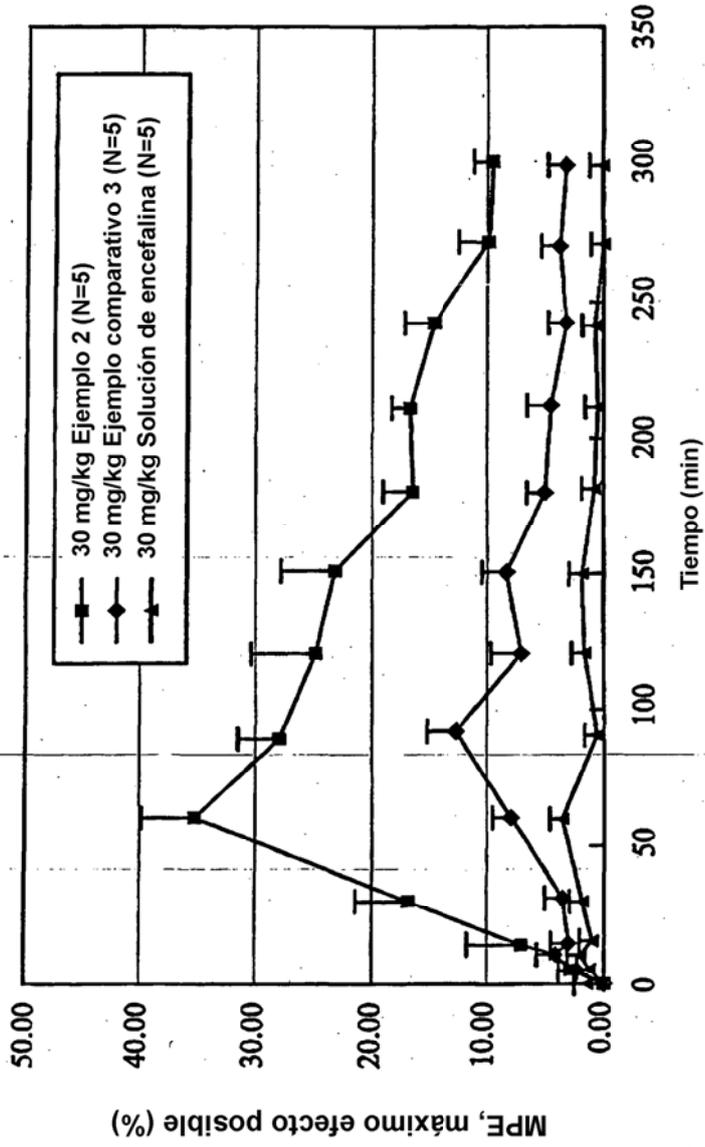


FIG. 2

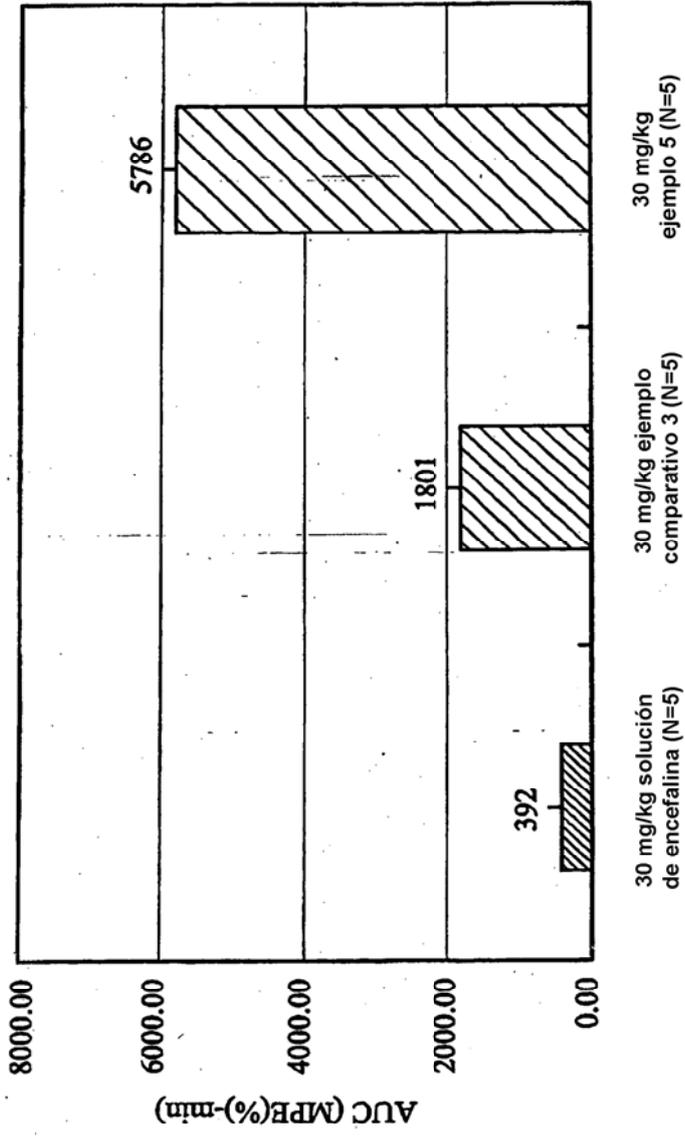


FIG. 3

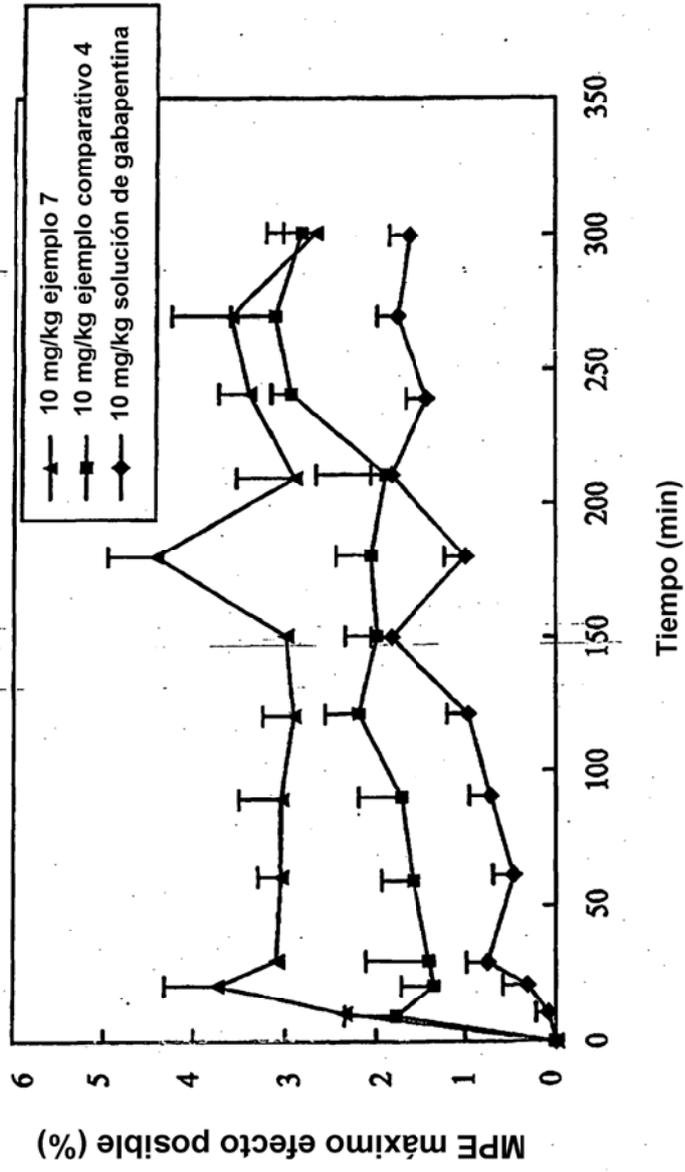


FIG. 4

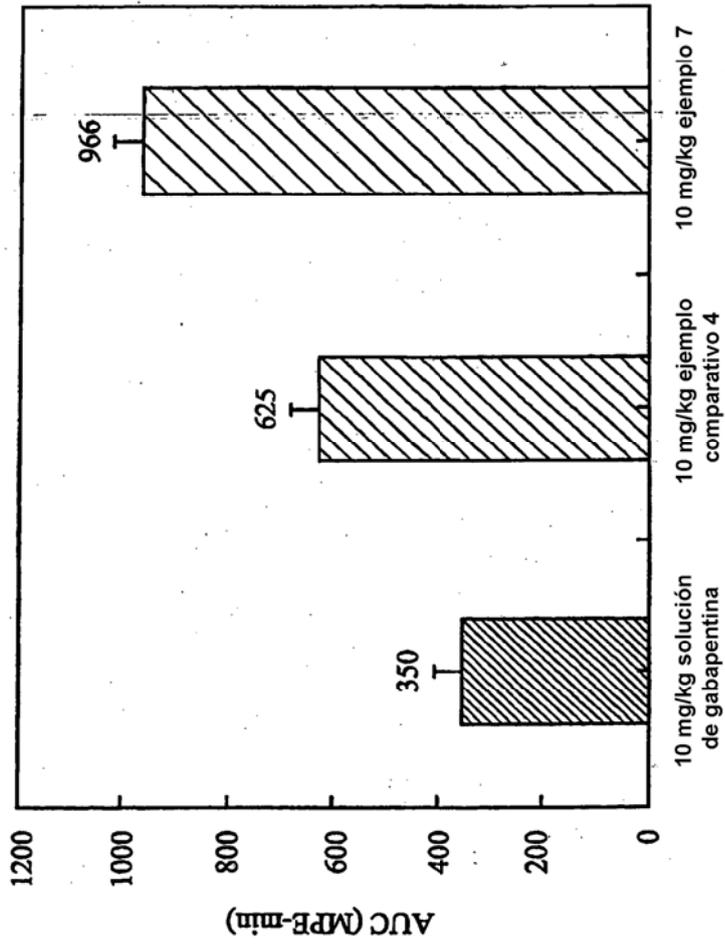


FIG. 5

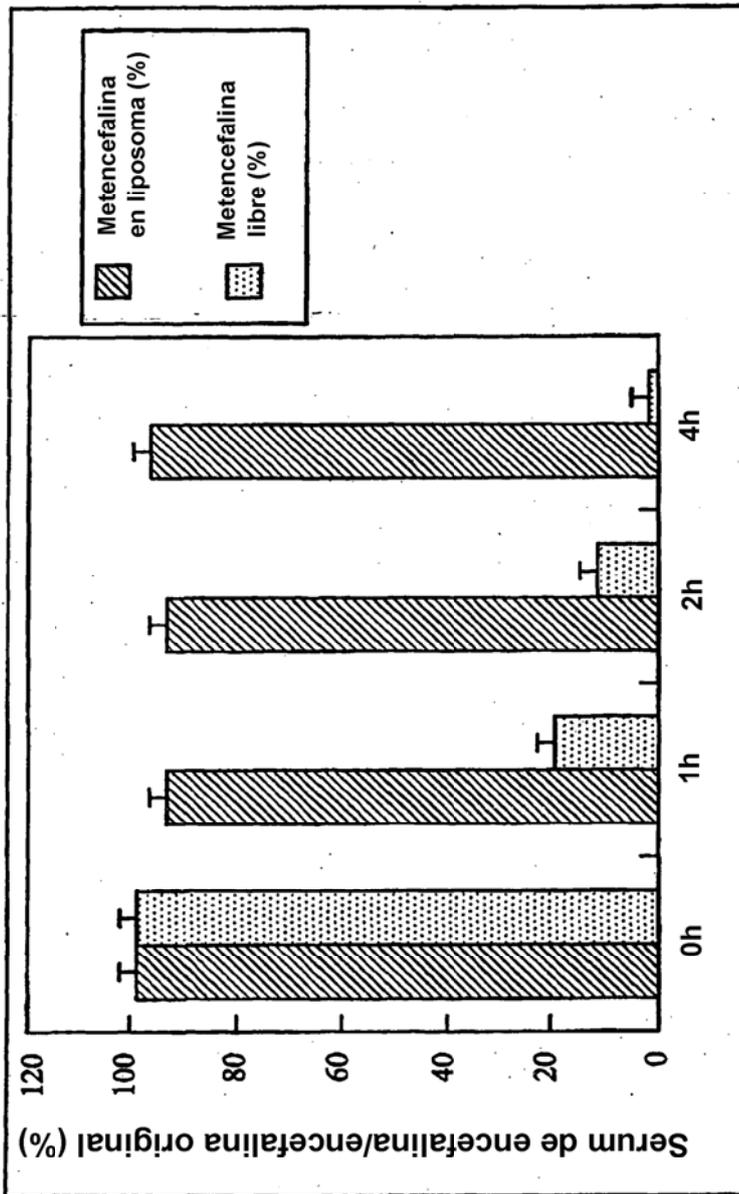


FIG. 6