

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 557 475**

51 Int. Cl.:

<b>A61K 9/51</b>	(2006.01) <b>A61K 47/08</b>	(2006.01)
<b>A61K 8/34</b>	(2006.01) <b>A61P 17/16</b>	(2006.01)
<b>A61K 8/35</b>	(2006.01) <b>A61Q 19/08</b>	(2006.01)
<b>A61K 8/55</b>	(2006.01)	
<b>A61K 8/67</b>	(2006.01)	
<b>A61Q 19/00</b>	(2006.01)	
<b>A61K 47/10</b>	(2006.01)	
<b>A61K 47/24</b>	(2006.01)	
<b>A61K 31/683</b>	(2006.01)	
<b>A61P 17/00</b>	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.06.2006 E 06752612 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.09.2015 EP 1893159**

54 Título: **Un portador que comprende uno o más derivados di- y/o monofosfato de agentes de transferencia de electrones**

30 Prioridad:

**17.06.2005 AU 2005903198**  
**30.08.2005 AU 2005904737**  
**19.05.2006 AU 2006902726**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**26.01.2016**

73 Titular/es:

**VITAL HEALTH SCIENCES PTY LTD. (100.0%)**  
**LEVEL 2, 90 WILLIAM STREET**  
**MELBOURNE, VIC 3000, AU**

72 Inventor/es:

**GAVIN, PAUL;**  
**GIANELLO, ROBERT y**  
**OGRU, ESRA**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 557 475 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

Un portador que comprende uno o más derivados di- y/o monofosfato de agentes de transferencia de electrones

### Área

- 5 La invención se refiere a un portador para usar en la administración de principios biológicamente activos y a formulaciones que contienen principios biológicamente activos y el portador. El portador ayuda a mejorar la eficacia, el transporte y la administración de principios biológicamente activos, en particular productos farmacéuticos incluidos los cosméticos.

### Antecedentes

- 10 En esta memoria cuando se alude a, o se trata, un documento, una ley o un artículo de conocimiento, esta alusión o discusión no es una admisión de que, en la fecha de prioridad, el documento, la ley o el artículo de conocimiento o cualquier combinación de éstos, estaba disponible para el público, era conocido por el público, era parte del conocimiento general común; o se sabía que era aplicable a un intento por solucionar cualquier problema con el que esta memoria esté relacionado.

- 15 El principal objetivo en la administración farmacéutica es obtener un efecto biológico apropiado en un sitio de acción deseado. La elección de la formulación puede ser fundamental para la eficacia de un producto farmacéutico ya que la bioactividad de un producto farmacéutico será sub-óptima si no posee las propiedades fisicoquímicas correctas para permitir la liberación desde la formulación en el sitio destinatario de la acción.

- 20 La administración entérica implica la administración del producto farmacéutico a través del tubo gastrointestinal donde el producto farmacéutico es absorbido y distribuido por el torrente sanguíneo al sitio destinatario de la acción. Por ejemplo, los productos farmacéuticos administrados por vía oral se absorben a través del intestino.

- 25 El ambiente químico del tubo gastrointestinal también es importante para la administración externa de un producto farmacéutico. El producto farmacéutico debe estar en una forma que sea estable a los diferentes valores de pH de las distintas partes del tubo gastrointestinal. Si el producto farmacéutico forma un complejo que no se puede absorber o que se degrada química o enzimáticamente entonces esto disminuirá la absorción. El producto farmacéutico debe estar en solución en los líquidos gastrointestinales para ser absorbido. La sedimentación del producto farmacéutico implica que éste forme partículas sólidas que de este modo abandonen la solución. La adsorción sobre partículas sólidas lumenales involucra sólidos que adsorben el producto farmacéutico; es decir que retiran el producto farmacéutico de la solución. Tanto la sedimentación como la adsorción disminuyen la absorción del producto farmacéutico. En muchos casos, la degradación y la formación de complejos pueden ser eludidas, o al menos minimizadas, por métodos químicos o de formulación, de modo que no presenten una limitación a la absorción de los productos farmacéuticos.

- 35 Además, si un producto farmacéutico se absorbe a través de la pared intestinal o estomacal, entonces debe pasar a través del hígado. El hígado está diseñado para eliminar compuestos extraños para el organismo. Como resultado, una proporción importante del producto farmacéutico (por ejemplo 40 a 50%) puede ser metabolizada y excretada antes de que alcance el torrente sanguíneo. Es posible reducir el efecto del hígado sobre la administración entérica absorbiendo el producto farmacéutico a través del revestimiento de la boca (bucal/sublingual) o el revestimiento del recto (supositorios), aunque estas vías no son siempre adecuadas.

- 40 Los intentos de mejorar la biodisponibilidad de los productos farmacéuticos administrados por vía entérica implican la formación de profármacos, por ejemplo sulfato de morfina o el uso de excipientes que mejoren la absorción.

- La administración tópica implica administrar el producto farmacéutico a una membrana del cuerpo donde éste es absorbido y distribuido. Por ejemplo, los productos farmacéuticos administrados por vía transdérmica son absorbidos a través de la piel.

- 45 La piel es el órgano más grande del cuerpo, que actúa protegiendo los órganos internos de los peligros químicos, físicos y patológicos externos. La piel normal se divide en tres capas: la epidermis, la dermis y el tejido subcutáneo. La capa externa cornificada de la epidermis, el estrato córneo, posee propiedades de resistencia, flexibilidad, alta impedancia eléctrica y sequedad que retardan la penetración y la proliferación de microorganismos. El estrato córneo también es la principal barrera para la absorción transdérmica del producto farmacéutico. Hay una capa de sebo que protege la piel que se considera que es una barrera para todas las formulaciones farmacéuticas a base de agua.

- 50 Cuando viaja a través de la piel, una molécula farmacéutica que difunde tiene tres posibles rutas de entrada a las capas más profundas de la piel: la ruta intercelular, la ruta transcelular y la ruta a través de faneras. Si bien la difusión en derivación de electrolitos y moléculas grandes a través de las faneras puede ser significativa, el área relativamente pequeña disponible para el transporte (0.1% de la superficie de la piel) significa que esta ruta tiene

- una contribución insignificante al flujo del producto farmacéutico en estado estacionario. La ruta principal de penetración de la mayoría de las moléculas se cree comúnmente que es la ruta intercelular, y por lo tanto, muchas de las técnicas de mejora están dirigidas a distorsionar la construcción resistente tipo "ladrillo y mortero" del estrato córneo. Las teorías actuales sobre la ruta de transporte señalan dos mecanismos posibles: (i) transporte pasivo transcelular y (ii) transporte epidérmico intracelular.
- Los productos farmacéuticos se aplican tópicamente en la piel de varias maneras que incluyen pomadas, parches, soluciones, depósitos subcutáneos, cataplasmas, emplastos y dispositivos de administración transdérmica.
- El interés en la administración transdérmica de productos farmacéuticos puede estar creciendo pero algunas limitaciones fundamentales restringen una aplicación más amplia de la tecnología. La principal limitación para el uso de la administración transdérmica es la velocidad de transporte del producto farmacéutico a través de la piel.
- No todo producto farmacéutico se puede administrar por vía transdérmica a una velocidad suficientemente alta como para alcanzar concentraciones en sangre que sean terapéuticamente beneficiosas para la medicación sistémica. Por ejemplo, productos farmacéuticos con pesos moleculares y tamaños semejantes pueden ser absorbidos a través de la piel a velocidades diferentes. El fentanilo por ejemplo penetra la piel a 2 mg/cm<sup>2</sup>/h en comparación con la efedrina a 200 mg/cm<sup>2</sup>/h. El gran tamaño de un sistema de administración transdérmica requerido para el fentanilo puede no ser, por lo tanto, ni práctico ni económico a pesar de las ventajas de la ruta de administración.
- Se han desarrollado diversos potenciadores de la penetración cutánea y técnicas de formulación para aumentar la absorción de los productos farmacéuticos a través de la piel. Los potenciadores de la penetración cutánea pueden incluir compuestos como ácido cáprico, ácido oleico, azona, decilmethylsulfóxido e hidroxicinamatos que actúan habitualmente modificando de manera especial la estructura del estrato córneo por disolución de la matriz lipídica para mejorar la permeabilidad de los productos farmacéuticos. La absorción dérmica de la progesterona, por ejemplo, aumenta en 143% cuando el estrato córneo es deslipidizado. La potenciación aumenta a 843% cuando el estrato córneo es totalmente eliminado. Con una modificación tan agresiva, los problemas que comúnmente se informan con el uso repetido de dichos sistemas son por lo tanto evidentes, e incluyen dermatitis de contacto, enrojecimiento de la piel, picazón y ardor que requieren desplazamiento del parche, o la aplicación del producto farmacéutico, alrededor del cuerpo para evitar la irritación local. Se dice que el enrojecimiento desaparece a las pocas horas de retirar el parche. Pero se ha planteado una preocupación respecto al riesgo a largo plazo y la seguridad en relación con el uso de este tipo de sistemas de administración transdérmica, principalmente porque el aumento de la permeabilidad del producto farmacéutico se consigue a costa de dañar una capa protectora de la piel fundamentalmente importante.
- WO 2004/014432 se refiere a un método para mejorar la eficacia y/o el transporte transdérmico de productos farmacéuticos y principios farmacológicamente activos administrados tópicamente, dicho método comprende el paso de incorporar el principio farmacéutica o farmacológicamente activo en un portador que contenga una cantidad eficaz de uno o más complejos de un derivado fosfato de un compuesto lipófilo farmacéuticamente aceptable.
- WO 03/011303 se refiere a un método para prevenir, aliviar síntomas o tratar afecciones cutáneas, que comprende administrar tópicamente a la piel de un sujeto una formulación cosmética o farmacéutica, que contenga una cantidad eficaz para penetrar la piel, de uno o más complejos de uno o más derivados fosfato de uno o más agentes de transferencia de electrones.
- WO 02/40034 da a conocer una composición que comprende el producto de reacción de: (a) uno o más derivados fosfato de uno o más principios activos hidroxilados; y (b) uno o más complejeantes elegidos del grupo que consiste en surfactantes anfóteros, surfactantes catiónicos, aminoácidos que tienen grupos funcionales de nitrógeno y proteínas ricas en esos aminoácidos.
- Una composición en emulsión para la administración terapéutica que comprende: (a) al menos un derivado fosfato de un mono-agente de transferencia de electrones; (b) al menos un derivado fosfato de un di-agente de transferencia de electrones; donde la cantidad de derivado fosfato del mono-agente de transferencia de electrones es no menos que equimolar con la cantidad de derivado fosfato del di-agente de transferencia de electrones; y (c) un portador adecuado como el que se discute en WO 02/40033.
- US 5,387,579 se refiere al uso de un fosfato de  $\alpha$ -tocoferol específico o de uno de sus ésteres o una de sus sales, para preparar una composición farmacéutica, dermatológica o cosmética para la prevención o el tratamiento de manifestaciones alérgicas como alergia cutánea o asma bronquial, o manifestaciones inflamatorias, o para la prevención o el tratamiento de los efectos dañinos de los radicales libres.
- EP-A-679 399 se refiere al uso de un compuesto diéster fosfórico específico o de una de sus sales farmacológicamente aceptables en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de las enfermedades proliferativas de la epidermis.
- Existe la necesidad de formulaciones que mejoren aún más la biodisponibilidad de los principios biológicamente

activos.

### Resumen

5 Se encontró que la eficacia, el transporte y la administración de principios biológicamente activos se puede aumentar si se administran en un portador que contenga uno o más alcoholes C<sub>1-4</sub>, polioles y sus polímeros, agua y uno o más derivados fosfato de di- y/o mono-(agente de transferencia de electrones) o sus complejos.

Según un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un portador para la administración de principios biológicamente activos que comprende:

(i) uno o más alcoholes C<sub>1-4</sub> en una cantidad de 5 a 40% (p/p);

(ii) agua en una cantidad de 50 a 90% (p/p); y

10 (iii) una combinación de un derivado fosfato de ditocoferol y un derivado fosfato de monotocoferol en una cantidad de hasta 3% (p/p), donde los derivados fosfato están en forma ácida; y

donde el portador está en forma de vesículas.

La presente invención también proporciona el uso de

(i) uno o más alcoholes C<sub>1-4</sub> en una cantidad de 5 a 40% (p/p);

15 (ii) agua en una cantidad de 50 a 90% (p/p); y

(iii) una combinación de un derivado fosfato de ditocoferol y un derivado fosfato de monotocoferol en una cantidad de hasta 3% (p/p), donde los derivados fosfato están en forma ácida;

en la fabricación del portador según se define en la reivindicación 1.

20 También se proporciona un proceso para la preparación del portador de la presente invención que comprende los pasos de:

(a) combinar un derivado fosfato de ditocoferol y un derivado fosfato de monotocoferol en una cantidad de hasta 3% (p/p), donde los derivados fosfato están en forma ácida; con uno o más alcoholes C<sub>1-4</sub> en una cantidad de 5 a 40% (p/p); y

(b) agregar agua en una cantidad de 50 a 90% (p/p) a la combinación del paso (a).

25 Se da a conocer una formulación que comprende un principio biológicamente activo y un portador según la presente invención.

Aún en otro aspecto de la presente invención se da a conocer un proceso para preparar la formulación de la presente invención que comprende el paso de combinar un principio biológicamente activo con un portador según la presente invención.

30 Se entenderá que el portador se puede preparar a partir de o el producto de la reacción del alcohol, el agua y los derivados fosfato de agentes de transferencia de electrones o sus complejos. En estas circunstancias, el alcohol, el agua y los derivados fosfato de los agentes de transferencia de electrones o sus complejos, pueden interactuar y estar presentes en formas modificadas.

Preferentemente, el alcohol C<sub>1-4</sub> es etanol.

35 El portador contiene una combinación de uno o más derivados fosfato de di-(agente de transferencia de electrones) y uno o más derivados fosfato de mono-(agente de transferencia de electrones), que son una combinación de un derivado fosfato de ditocoferol y un derivado de monotocoferol, donde los derivados fosfato están en forma ácida.

40 Se entenderá que la expresión "derivado fosfato de di- y/o mono-(agente de transferencia de electrones)" se refiere a ésteres fosfato de agentes de transferencia de electrones en los cuales el fosfato puede ser orto-fosfato o piro-fosfato di - o mono sustituido con agentes de transferencia de electrones. En una realización dada a conocer, el derivado fosfato de di-(agente de transferencia de electrones) se elige del grupo que consiste en derivados fosfato de ditocoferol, derivados difosfato de ditocoferol, derivados fosfato de ditocotrienol y sus mezclas.

45 El derivado fosfato de mono-(agente de transferencia de electrones) dado a conocer, se puede elegir del grupo que consiste en derivados fosfato de monotocoferol, derivados difosfato de monotocoferol, fosfato de monotocotrienol y sus mezclas.

En una realización dada a conocer, la formulación se prepara usando al menos uno de: difusión en derivación de electrolitos fosfato de ditocoferol, difosfato de ditocoferol y fosfato de ditocotrienol.

5 En otra realización dada a conocer, la formulación se prepara usando una combinación de al menos uno de: fosfato de monotocoferol, difosfato de monotocoferol y fosfato de monotocotrienol con al menos uno de: fosfato de ditocoferol, difosfato de ditocoferol y fosfato de ditocotrienol.

La formulación según la presente invención contiene una combinación de fosfato de monotocoferol y fosfato de ditocoferol. Estos compuestos pueden estar presentes en una o más de sus formas alfa, beta, gamma y delta, preferentemente las formas alfa y gamma.

10 La relación entre fosfato de monotocoferol y fosfato de ditocoferol es preferentemente de 4:1 a 1:4, más preferentemente de 2:1.

La presente invención proporciona además una formulación que contiene un principio biológicamente activo y un portador de la presente invención.

La presente invención proporciona además un método para preparar la formulación definida antes, que comprende el paso de combinar un principio biológicamente activo con un portador según la presente invención.

15 Además según la presente invención se da a conocer un método para administrar principios biológicamente activos que comprende el paso de combinar el principio biológicamente activo con un portador según la presente invención.

20 El portador está en forma de vesículas. El principio biológicamente activo puede estar al menos parcialmente encapsulado por las vesículas. Si bien no deseamos regirnos por la teoría, se cree que la formación de vesículas con maleabilidad controlada permite a la formulación recorrer caminos intercelulares y administrar el principio biológicamente activo intracelularmente en las células destinatarias o en la circulación sistémica. Los derivados fosfato de di- o mono-(agente de transferencia de electrones) ayudan a combatir cualquier inflamación causada por la administración de la formulación.

### Descripción detallada

25 El portador de la presente invención contiene uno o más alcoholes C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> en una cantidad de 5 a 40% (p/p), agua en una cantidad de 50 a 90% (p/p); y una combinación de un derivado fosfato de ditocoferol y un derivado de monotocoferol en una cantidad de hasta 3% (p/p), donde los derivados fosfato están en forma ácida; y donde el portador está en forma de vesículas. La cantidad de agua presente está en el intervalo de 50 a 90%, preferentemente de 60 a 90%, más preferentemente de 70 a 90%.

Después el portador se combina con un principio biológicamente activo para formar una formulación.

30 *Alcohol*

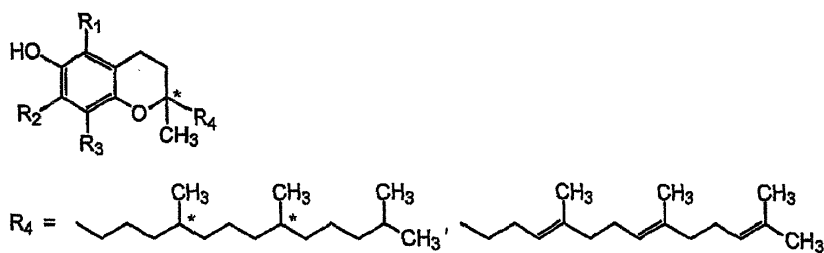
La expresión "alcohol C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>" se refiere a alcoholes que tienen de 1 a 4 átomos de carbono como alcanos C<sub>1-4</sub>, por ejemplo, metanol, etanol, propanol, isopropanol o butanol. Los polioles y los polímeros de alcoholes C<sub>1-4</sub> incluyen los glicoles como propilenglicol o polietilenglicol, por ejemplo PEG400. También se pueden usar combinaciones de alcoholes. Se prefiere el etanol.

35 La cantidad de alcohol C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> presente es de 5 a 40%, más preferentemente de 10 a 30%.

### *Derivados fosfato del agente de transferencia de electrones*

40 La expresión "agente de transferencia de electrones" se refiere a un agente que puede estar fosforilado y que puede (en la forma no fosforilada) aceptar un electrón para generar un radical molecular relativamente estable o aceptar dos electrones para permitir al agente participar en un sistema redox reversible. Los ejemplos de agentes de transferencia de electrones que pueden estar fosforilados incluyen hidroxí cromanos como alfa, beta, gamma y delta tocoles en formas enantioméricas y racémicas; quinoles que son las formas reducidas del agente de transferencia de electrones K1 y ubiquinona; hidroxí carotenoides como retinol; calciferol y ácido ascórbico. En una realización dada a conocer, el agente de transferencia de electrones se elige del grupo que consiste en tocoles, retinol, quinoles que son la forma reducida del agente de transferencia de electrones K1 y sus mezclas.

45 En otra realización dada a conocer, el agente de transferencia de electrones es un tocol como tocoferol o tocotrienol. Los tocoles incluyen todos los isómeros o derivados de 6:hidroxí 2:metil cromano que tienen la fórmula (I) siguiente, incluidos los derivados α-5:7:8 tri-metil; β-5:8 di-metil; γ-7:8 di-metil; y δ-8 metil.



(I)

en la cual:

5  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  se eligen independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo  $C_{1-4}$ , preferentemente metilo.

En los tocoferoles,  $R_4$  es 4:8:12 tri-metil tridecano y las posiciones 2, 4 y 8 (véase \*) pueden dar estereoisómeros con actividad R o S o racémicos. En los tocotrienoles,  $R_4$  es 4:8:12 tri-metil trideca-3:7:11 trieno y la posición 2 puede dar estereoisómeros con actividad R o S o racémicos. Muy preferentemente, el agente de transferencia de electrones es  $\alpha$ -tocoferol. También se da a conocer tocotrienol.

10 La expresión "derivado fosfato" se refiere a las formas ácidas de los agentes de transferencia de electrones fosforilados, las sales de los fosfatos que incluyen sales de metales como sales de metales alcalinos o alcalinotérreos por ejemplo sales de sodio, magnesio, potasio y calcio, y cualquier otro derivado en el que el protón del fosfato sea reemplazado por otros sustituyentes como grupos alquilo  $C_1-C_4$  o grupos fosfatidilo.

15 En algunas situaciones, puede ser necesario usar un derivado fosfato como un fosfátido. Los derivados fosfatidilo son derivados amino alquilo de fosfatos orgánicos. Estos derivados se pueden preparar a partir de aminas que tengan una estructura de  $R_5R_6N(CH_2)_nOH$  en la cual  $n$  es un número entero de 1 a 6 y  $R_5$  y  $R_6$  se eligen independientemente entre H y alquilo  $C_{1-4}$ . Los derivados fosfatidilo se preparan desplazando el protón de hidroxilo del agente de transferencia de electrones con una entidad fosfato que después se hace reaccionar con una amina, como etanolamina o N,N'-dimetiletanolamina. Un método para preparar los derivados fosfatidilo involucra un  
20 solvente básico como piridina o trietilamina con oxiclóruo de fósforo, para preparar un producto intermedio que después se hace reaccionar con el grupo hidroxilo de la amina para producir el derivado fosfatidilo correspondiente, como fosfato diácido de P colil P tocoferol.

25 La expresión "alquilo  $C_{1-4}$ " se refiere a grupos hidrocarburo de cadena lineal, ramificada o cíclica que tienen de 1 a 4 átomos de carbono. Los ejemplos incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, tert-butilo, ciclopropilo y ciclobutilo.

30 En una realización dada a conocer, los derivados fosfato de los agentes de transferencia de electrones son derivados fosfato de ditocoferol, derivados difosfato de ditocoferol, derivados fosfato de ditocotrienol, derivados fosfato de monotocoferol, derivados difosfato de monotocoferol y derivados fosfato de monotocotrienilo. Según la invención, se usa una combinación de derivados fosfato de monotocoferol y derivados fosfato de ditocoferol, donde los derivados fosfato están en forma ácida.

Se encontró que la estabilidad del portador aumenta a medida que la concentración del mono-agente de transferencia de electrones como fosfato de mono- $\alpha$ -tocoferol aumenta. Cuando está presente una combinación de fosfato de mono- $\alpha$ -tocoferol y fosfato de ditocoferol, están preferentemente en una relación de 4:1 a 1:4, más preferentemente en una relación de 2:1.

35 La cantidad de derivado fosfato del agente de transferencia de electrones presente, está en el intervalo hasta 3%, más preferentemente de 1 a 3%.

#### *Complejo del derivado fosfato del agente de transferencia de electrones*

40 Los complejos de derivados fosfato de agentes de transferencia de electrones se pueden utilizar también cuando son deseables propiedades adicionales tales como mayor estabilidad o capacidad de administración. El complejo es un producto de reacción de uno o más derivados fosfato de agentes de transferencia de electrones y uno o más complejeantes elegidos del grupo que consiste en surfactantes anfóteros, surfactantes catiónicos, aminoácidos que tienen grupos funcionales de nitrógeno y proteínas ricas en dichos aminoácidos como las dadas a conocer en la publicación de patente internacional N° WO 02/40034.

Los complejeantes preferidos se eligen del grupo que consiste en aminoácidos como arginina y lisina, y aminas

terciarias sustituidas como las de la fórmula (II):



en la cual:

R<sub>7</sub> se elige del grupo que consiste en alquilo C<sub>6-22</sub> opcionalmente interrumpido por carbonilo; y

- 5 R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> se eligen independientemente del grupo que consiste en H, CH<sub>2</sub>COOX, CH<sub>2</sub>CHOHCH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>X, CH<sub>2</sub>CHOHCH<sub>2</sub>OPO<sub>3</sub>X, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOX, CH<sub>2</sub>COOX, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CHOHCH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>X o CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CHOHCH<sub>2</sub>OPO<sub>3</sub>X en el cual X es H, Na, K o alcanolamina,

siempre que R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> no sean ambos H y cuando R<sup>7</sup> sea RCO, entonces R<sup>8</sup> es NCH<sub>3</sub> y R<sup>9</sup> es (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)N(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>OH)-H<sub>2</sub>CHOPO<sub>3</sub> o R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> forman juntos N(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>OH)CH<sub>2</sub>COO.

- 10 Los complejeantes preferidos incluyen arginina, lisina o ácido lauriliminodipropiónico donde la complejación se produce entre el centro de nitrógeno alcalino y el éster de ácido fosfórico, para formar un complejo estable.

La expresión "alquilo C<sub>6-22</sub>" se refiere a grupos hidrocarburo de cadena lineal, ramificada o cíclica que tienen de 6 a 22 átomos de carbono. Los ejemplos incluyen hexilo, ciclohexilo, decilo, dodecilo, tridecilo, tetradecilo, pentadecilo, hexadecilo, heptadecilo y/o octadecilo.

15 *Principio biológicamente activo*

- La expresión "principio biológicamente activo" se refiere a los compuesto que tienen un efecto biológico en seres humanos o animales para aplicaciones médicas, veterinarias o cosméticas. Los principios biológicamente activos incluyen los productos farmacéuticos o sus derivados, en particular sus derivados fosfato. Los productos farmacéuticos incluyen vitaminas, fitoquímicos, cosméticos, nutracéuticos, péptidos, polipéptidos, proteínas o ácidos nucleicos. Se apreciará que alguno de los principios biológicamente activos se pueden clasificar en más de una de esas clases.
- 20

- Los ejemplos de productos farmacéuticos incluyen, pero no exclusivamente, analgésicos narcóticos como morfina, oxycodona y levorfanol; agonistas opioides moderados como codeína y propoxifeno; agonistas opioides mixtos como buprenorfina y pentazocina; antagonistas opioides como naloxona y naltrexona; analgésicos no opioides como acetaminofén y fenacetina; corticoesteroides como cortisona; anestésicos inhalados como halotano, enflurano; anestésicos intravenosos como barbitúricos, benzodiazepinas, opioides, neurolépticos (por ej. droperidol con fentanilo), ketamina y propofol; anestésicos locales como procaína y lignocaína; antieméticos como escopolamina; productos farmacéuticos simpaticomiméticos como adrenalina y dopamina; agonistas adrenérgicos como agonistas de acción directa (por ej. dobutamina y epinefrina), agonistas de acción indirecta (por ej. anfetamina y tiramina) y agonistas de acción directa e indirecta (acción mixta) (por ej. efedrina y metaraminol), antagonistas adrenérgicos como alfa bloqueantes (por ej. prazosina y fentolamina), beta bloqueantes (por ej. atenolol, timolol y pindolol) y productos farmacéuticos que afectan la captación o liberación de neurotransmisores (por ej. cocaína, reserpina y guanetidina); productos farmacéuticos anticolinérgicos como antimuscarínicos (por ej. atropina y fosfato de atropina), bloqueantes ganglionares (por ej. nicotina y mecamilamina), bloqueantes neuromusculares (por ej. atracurium y tubocurarina); agonistas colinérgicos directos como pilocarpina; agonistas colinérgicos indirectos (reversible e irreversible) como neostigmina y ecotiofato; antiparkinsonianos como amantadina, levodopa, tolcapona, ropinirol, selegilina y bromocriptina; hormonas y sus fragmentos como hormonas sexuales, paratohormona humana (PTH), hormona del crecimiento e insulina; productos farmacéuticos antidiabéticos como insulina, péptidos semejantes al glucagón e hipoglucemiantes como sulfonilureas, biguanidas, inhibidores de la α-glucosidasa y tiazolidinadionas; antianginosos como nitratos orgánicos (por ej. Isosorbide y nitroglicerina), ranolazina, b-bloqueantes y bloqueantes de los canales de calcio (por ej. diltiazem, nifedipina y verapamilo); ansiolíticos e hipnóticos como benzodiazepinas (por ej. alprazolam y diazepam), buspirona, hidroxizina, zolpidem, barbitúricos (por ej. fenobarbital) y sedantes no barbitúricos (por ej. antihistamínicos e hidrato de cloral); estimulantes psicomotores como anfetamina, cafeína, cocaína, teofilina y nicotina; antidepresivos como antidepresivos tricíclicos/policíclicos (por ej. amitriptilina), inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (por ej. fluoxetina), inhibidores de la monoaminoxidasa (por ej. fenelzina); neurolépticos como antipsicóticos típicos (por ej. fenotiazinas y butirofenonas como clorpromazina y haloperidol) y antipsicóticos atípicos (por ej. benzisoxazoles, dibenzodiazepinas y tienobenzodiazepinas como risperidona, clozapina y olanzapina); antiepilépticos como carbamazepina, benzodiazepinas, gapapentina, tiagabina, topiramato, vigabatrina, lamotrigina, etosuximida, ácido valproico, barbitúricos y fenitoína; productos farmacéuticos para la insuficiencia cardíaca congestiva como vasodilatadores, diuréticos e inotrópicos (por ej. glucósidos cardíacos, agonistas beta-adrenérgicos e inhibidores de la fosfodiesterasa); vasodilatadores como inhibidores de ACE (por ej. enalapril), hidralazina, isosorbide y minoxidil; diuréticos como diuréticos de tiazida (por ej. hidroclorotiazida), diuréticos del asa (por ej. furosemide), diuréticos ahorradores de potasio (por ej. amilorida) e inhibidores de la anhidrasa carbónica (por ej. acetazolamida); glucósidos cardíacos como digoxina; agonistas β-adrenérgicos como dobutamina; inhibidores de la fosfodiesterasa como amrinona y milrinona; antiarrítmicos como bloqueantes de los canales de sodio (por ej. disopiramida, flecainida, lidocaína), bloqueantes del adrenergico receptor P
- 25
- 30
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55

(por ej. metoprolol, esmolol y propranolol), bloqueantes de los canales de potasio (por ej. amiodarona y sotalol), bloqueantes de los canales de calcio (por ej. diltiazem y verapamilo), adenosina y digoxina; antihipertensivos como diuréticos (por ej. tiazidas, diuréticos del asa y diuréticos ahorradores de potasio), beta-bloqueantes (por ej. atenolol), inhibidores de ACE (por ej. enalapril y ramipril), antagonistas de la angiotensina II (por ej. losartán),

5 bloqueantes de los canales de calcio (por ej. amlodipina, nifedipina y verapamilo), alfa-bloqueantes (por ej. doxazosina, prazosina y terazosina) y otros como clonidina, diazoxida e hidralazina; inhibidores de las plaquetas como abciximab, aspirina, clopidrogel y tirofiban; anticoagulantes como enoxaprina, heparina y warfarina; trombolíticos como alteplasa, streptocinasa y urocinasa; tratamientos contra la hemorragia como ácido aminocaproico, ácido tranexámico y vitamina K; tratamientos para la anemia como eritropoyetina, hierro, ácido fólico

10 y cianocobalamina; inhibidores de la trombina como lepirudina; antibióticos como agentes con actividad contra uno o más organismos anaeróbicos, organismos grampositivos y organismos gramnegativos; antibióticos con actividad de espectro amplio (por ej. tetraciclina y cloranfenicol), de espectro reducido (por ej. isoniazida) y de espectro extendido (por ej. ampicilina); antibióticos que inhiben el metabolismo (por ej. sulfonamidas y trimetoprim), que inhiben la síntesis de la pared celular (por ej.  $\beta$ -lactamas y vancomicina), que inhiben la síntesis de proteínas (por ej. tetraciclinas, aminoglucósidos, macrólidos, clindamicina y cloranfenicol) y que inhiben la función o la síntesis de ácido nucleico (por ej. fluoroquinolonas y rifampicina); antimicobacterianos como los utilizados para tratar la tuberculosis y la lepra; antimicóticos como anfotericina B, fluconazol, flucitosina, itraconazol, ketoconazol, clotrimazol, econazol, griseofulvina, miconazol y nistatina; antiprotozoarios como fluoroquina, metronidazol, mefloquina, pirimetamina, quinacrina y quinidina; antihelmínticos como praziquantel y mebendazol; antivirales para

20 infecciones respiratorias (por ej. amantadina, ribavirina y rimantadina), para infecciones por herpes y citomegalovirus (por ej. aciclovir, cidofovir, penciclovir, famciclovir, ganciclovir y vidarabina), para infecciones por el virus de la inmunodeficiencia humana (por ej. abacavir, adefovir, apremnavir, delavirdina, didanosina, estavudina, zalcitabina y zidovudina) y para la hepatitis, la leucemia y el sarcoma de kaposi (por ej. interferón); antineoplásicos como antimetabolitos (por ej. citarabina, fludarabina, 5-fluorouracilo, 6-mercaptopurina, metotrexato y 6-tioguanina) y antibióticos (por ej. bleomicina, doxorubicina, daunorubicina y plicamicina), agentes alquilantes (por ej. carmustina, lomustina, ciclofosfamida, ifosfamida, estreptozocina y mecloretamano), inhibidores del huso (por ej. navelbina, paclitaxel, vinblastina y vincristina), hormonas esteroides y sus antagonistas (por ej. aminoglutetimidias, estrógenos, flutamida, goserelina, leuprolida, prednisona y tamoxifeno) y otros como asparraginasas, cisplatino, carboplatino, etopósido, interferones y procarbazona; antiinflamatorios como antiinflamatorios no esteroides (por ej. aspirina, diclofenac, ibuprofeno, naproxeno, sulindac, piroxicam, fenilbutazona, tolmetina, indometacina y ketoprofeno), inhibidores de la ciclooxigenasa 2 (por ej. celecoxib y rofecoxib), antiartríticos (por ej. cloroquina, sales de oro, metotrexato y D-penicilamina) y tratamientos para la gota (por ej. alopurinol, colchicina, probenecid y sulfonilpirazona); autacoides y antagonistas de los autacoides como prostaglandinas (por ej. carbopost, misoprostol y dinoprost), antihistamínicos H1 (por ej. clizina, meclizina, dimenhidrinato, difenhidramina, fexofenadina, cetirizina y loratadina), antihistamínicos H2 (por ej. cimetidina, famotidina, nizatadina y ranitidina) y antimigrañosos (por ej.  $\beta$ -bloqueantes, dihidroergotamina, ergotamina, metisergida y sumatriptán); productos farmacéuticos antiasmáticos como agonistas beta-adrenérgicos, corticoesteroides, antiinflamatorios profilácticos (por ej. Cromolín y nedocromil) antagonistas colinérgicos (por ej. ipratropio); agentes que afectan al sistema respiratorio como agentes que se dirigen a la formación o la función de los leucotrienos (por ej. montelukast, zileuton y zafirlukast); productos farmacéuticos para la rinitis alérgica como antihistamínicos, agonistas alfa-adrenérgicos, corticoesteroides y antiinflamatorios profilácticos como cromolín; productos farmacéuticos para la enfermedad pulmonar obstructiva crónica como broncodilatadores (por ej. agonistas beta-adrenérgicos y antagonistas colinérgicos, inhibidores de la xantina-oxidasa como teofilina) y glucocorticoides; hormonas esteroides y sus antagonistas como estrógenos (por ej. estradiol, mestranol y quinestrol), moduladores selectivos de los estrógenos (por ej. raloxifeno), progestinas (por ej. hidroxiprogesterona, norgestrel, noretindrona y medroxiprogesterona), antiprogestinas (por ej. mifepristona), andrógenos (por ej. danazol, nandrolona, estanozolol, testosterona, cipionato de testosterona y fluoximesterona), antiandrógenos (por ej. ciproterona, finasterida y flutamida), corticoesteroides (por ej. beclometasona, cortisona, dexametasona, fludrocortisona, prednisolona y triamcinolona), e inhibidores de la biosíntesis de adrenocorticoides (por ej. aminoglutetimida, ketoconazol, metirapona, mifepristona y espironolactona); tratamientos para la osteoporosis como bisfosfonatos (por ej. alendronato, pamidronato y risedronato), calcitonina, calcio y estrógenos; agentes antiobesidad como inhibidores de la lipasa (por ej. orlistat), péptidos antiobesidad (por ej. hormona del crecimiento y sus fragmentos) y simpaticomiméticos; tratamientos para úlceras gástricas e inflamación como inhibidores de la bomba de protones (por ej. omeprazol y lansoprazol), antimicrobianos, prostaglandinas (por ej. misoprostol) y antihistamínicos H2 (por ej. ranitidina); productos farmacéuticos de anticuerpos; productos farmacéuticos anti-tiroideos como tiroxina; productos farmacéuticos de péptidos, proteínas y polipéptidos como ácidos nucleicos, oligonucleótidos, productos farmacéuticos antisentido, enzimas, citocinas (por ej. factor de necrosis tumoral), análogos de citocinas, agonistas de citocinas, antagonistas de citocinas, hormonas (por ej. calcitonina y paratohormona), fragmentos de hormonas (por ej. teriparatida), análogos de hormonas (por ej. agonistas de la hormona del crecimiento, antagonistas de la hormona del crecimiento como octreotida, y análogos de la hormona liberadora de la gonadotropina como leuprolida), insulina, fragmentos de insulina, análogos de la insulina (por ej. análogos de la insulina recombinante humana, lispro, glargina, aspart y detemir), péptido semejante al glucagón, fragmentos del péptido semejante al glucagón, análogos del péptido semejante al glucagón (por ej. exenatida), inmunoglobulinas, anticuerpos, vacunas, genoterapias, lipoproteínas, eritropoyetina, enfuvirtida y eptifibatida; terapias con hormonas, proteínas, péptidos, polipéptidos, ácidos nucleicos y oligonucleótidos que son agonistas



directos e indirectos, antagonistas, moduladores, estimulantes o inhibidores de hormonas naturales, proteínas, péptidos, polipéptidos, ácidos nucleicos y oligonucleótidos; proteínas, péptidos, polipéptidos, ácidos nucleicos y oligonucleótidos terapéuticos de molécula pequeña o molécula grande, preparados sintéticamente, por métodos de recombinación, o por modificación química de un producto natural; proteínas, péptidos, polipéptidos, ácidos nucleicos y oligonucleótidos de molécula pequeña y molécula grande sintéticos o derivados naturalmente; péptidos terapéuticos de molécula pequeña como factores de crecimiento, hormonas, citocinas y quimiocinas; análogos, fragmentos y variantes de proteínas, péptidos, polipéptidos, oligonucleótidos y ácidos nucleicos naturales y compuestos semejantes (por ej. hematida una variante de la eritropoyetina y octreotida un análogo de la somatostatina); hormonas, proteínas, péptidos, polipéptidos, oligonucleótidos y ácidos nucleicos para el tratamiento o la prevención de enfermedades de seres humanos y animales como alergia/asma, artritis, cáncer, diabetes, alteración del crecimiento, enfermedades cardiovasculares, inflamación, trastornos inmunológicos, calvicie, dolor, enfermedades oftalmológicas, epilepsia, trastornos ginecológicos, enfermedades del SNC, infecciones virales, infecciones bacterianas, enfermedades GI, obesidad y enfermedades hematológicas; fitoquímicos como  $\alpha$ -bisabolol, eugenol, silibina, isoflavonas de soja, fitoesteroles y glucósidos iridoides por ejemplo aucubina y catalpol; lactonas sesquiterpénicas como pseudoguaianolida de *Arnica chamissonis*; terpenos como ácido rosmarínico y rosmanol; glucósidos fenólicos como salicilatos por ejemplo salicina, saligenina y ácido salicílico; triterpenos como taxasterol,  $\alpha$ -lactucero, isolactucero y taraxacósido; derivados de hidroquinona como arbutina; fenilalcanonas como gingeroles y shagaoles; hipericina; antilipídicos como inhibidores de la HMGCoA reductasa (por ej. simvastatina, atorvastatina y pravastatina), fibratos (por ej. clofibrato y gemfibrozil), niacina, probucol, inhibidores de la absorción del colesterol (por ej. ezetimiba), antagonistas de la colesterol éster transferasa (por ej. torcetrapib), agentes para aumentar el colesterol HDL (por ej. torcetrapib); reductores de los triglicéridos (por ej. fibratos), protectores V (por ej. AGI-1067), variantes de la apolipoproteína humana (por ej. ETC-216); acilfloroglúcidos como xanthumol, lupulona, humulona y 2-metilbut-3-en-2-ol; nutracéuticos como suplementos nutricionales y otros, vitaminas por ejemplo coenzima Q y retinol (Vitamina A), nutrientes, moléculas precursoras para la generación de hormonas, proteínas por ejemplo elastina, colágeno e insulina, aminoácidos, extractos de plantas, extracto de semilla de uva, efedrina, DHEA, isoflavonas y fitoesteroles; y cosméticos como agentes antienvjecimiento o antiarrugas por ejemplo elastina y colágeno, y antioxidantes como retinol y coenzima Q, ácido retinoico, ácidos grasos omega-3, glucosamina, gamma-tocoferol y derivados fosfato de gamma-tocoferol.

Se entenderá que las sales farmacéuticamente aceptables y los derivados de los productos farmacéuticos descritos antes están incluidos en el alcance de la presente invención.

Preferentemente, la cantidad de principio biológicamente activo está en el intervalo de hasta 5%, más preferentemente de 0.5 a 3%, muy preferentemente de 0.5 a 2%.

#### *Vesículas*

Las vesículas pueden tener un diámetro en el intervalo de 50 a 10 000 nm, más preferentemente de 100 a 500 nm, muy preferentemente de 300 a 500 nm.

El principio biológicamente activo puede estar al menos parcialmente encapsulado por las vesículas.

#### *Tipos de administración*

Las formulaciones incluyen las adecuadas para la administración parenteral, entérica, oral, tópica, transdérmica, oftalmológica, rectal, vaginal, intranasal e intrapulmonar. Las formulaciones pueden estar en forma de líquidos, soluciones, suspensiones, cremas, pomadas, lociones, geles, polvos, aerosoles, parches, comprimidos entéricos recubiertos, cápsulas, supositorios, pesarios o tampones y se pueden preparar por métodos bien conocidos en el área farmacéutica como los descritos en Remington JP. The Science and Practice of Pharmacy, ed. AR Gennaro, 20ª edición, Lippincott, Williams y Wilkins Baltimore, Md (2000). Estos métodos incluyen el paso de asociar el principio biológicamente activo con el portador, y después, si es necesario, moldear la formulación en el producto deseado.

La formulación se puede administrar parenteralmente mediante inyección, infusión o implantación (intravenosa, intramuscular, subcutánea o similar) en formas farmacéuticas, formulaciones, o a través de dispositivos o implantes de administración adecuados que contengan portadores y adyuvantes convencionales, no tóxicos, farmacéuticamente aceptables.

Las formulaciones para uso parenteral se pueden presentar en formas farmacéuticas unitarias, (p. ej. en ampollas de una sola dosis), o en viales que contengan varias dosis y a los cuales se puede agregar un conservante adecuado. La formulación puede estar en forma de una solución, una suspensión, una emulsión, un dispositivo de infusión o un dispositivo de administración para implantación o se puede presentar como un polvo seco para ser reconstituido con agua u otro vehículo adecuado antes de usar. Aparte del principio biológicamente activo, la formulación puede contener portadores y/o excipientes adecuados aceptables para uso parenteral. El principio biológicamente activo se puede incorporar en microesferas, microcápsulas, nanopartículas, liposomas o similares para la liberación controlada. Además, la formulación puede incluir suspensivos, solubilizantes, estabilizantes, agentes para ajustar

el pH y/o dispersantes.

5 Según se indicó antes, las formulaciones pueden estar en una forma adecuada para inyección estéril. Para elaborar una formulación de ese tipo, el principio biológicamente activo se disuelve o se suspende en un vehículo líquido aceptable para uso parenteral. Entre los vehículos y solventes aceptables que se pueden emplear se encuentran el agua, el agua ajustada a un pH adecuado mediante el agregado de una cantidad apropiada de ácido clorhídrico, hidróxido de sodio o una solución amortiguadora adecuada, 1,3-butanodiol, solución de Ringer y solución isotónica de cloruro de sodio. La formulación acuosa también puede contener uno o más conservantes, (por ej., metil, etil o N-propil-p-hidroxibenzoato). En los casos en los que uno de los compuestos sea moderadamente o ligeramente soluble en agua, se puede agregar un potenciador de la disolución o solubilizante, o el solvente puede incluir 10 a 60% p/p de propileno o glicol o semejante.

Las composiciones parenterales de liberación controlada pueden estar en forma de suspensiones acuosas, microesferas, microcápsulas, microesferas magnéticas, soluciones oleosas, suspensiones oleosas o emulsiones. Alternativamente, el principio biológicamente activo se puede incorporar en portadores biocompatibles, liposomas, nanopartículas, implantes o dispositivos de infusión.

15 Los materiales para usar en la preparación de microesferas y/o microcápsulas son, por ej., polímeros biodegradables/bioerosionables como poliglactina, poli-(cianoacrilato de isobutilo), poli(2-hidroxietil-L-glutamina) y poli(ácido láctico).

Los portadores biocompatibles que se pueden usar cuando se formula una formulación parenteral de liberación controlada son carbohidratos (por ej., dextranos), proteínas (por ej., albúmina), lipoproteínas o anticuerpos.

20 Los materiales para usar en implantes son, no biodegradables (por ej., polidimetilsiloxanos), o biodegradables (por ej., poli(caprolactona), poli(ácido láctico), poli(ácido glicólico) o poli(orto-ésteres)).

25 Las formulaciones adecuadas para administración oral se pueden presentar de manera conveniente como unidades discretas, por ejemplo cápsulas, sellos o comprimidos cada uno con una cantidad predeterminada del principio biológicamente activo; como un polvo o gránulos; como una solución, una suspensión o como una emulsión. El principio biológicamente activo también se puede presentar como un bolo, un electuario o una pasta. Los comprimidos y las cápsulas para administración oral pueden contener excipientes convencionales como aglutinantes, rellenos, lubricantes, desintegrantes o humectantes. Los comprimidos se pueden recubrir por métodos bien conocidos en el área. Las preparaciones líquidas orales pueden estar por ejemplo en forma de suspensiones acuosas u oleosas, soluciones, emulsiones, jarabes o elixires, o se pueden presentar como un producto seco para ser reconstituido con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Dichas preparaciones líquidas pueden contener aditivos convencionales como suspendentes, emulsionantes, vehículos no acuosos que pueden incluir aceites comestibles, o conservantes.

35 Para la administración tópica transdérmica, los principios biológicamente activos se pueden formular como pomadas, cremas o lociones, o como un parche transdérmico. Las pomadas y las cremas se pueden formular, por ejemplo, con una base acuosa u oleosa con el agregado de espesantes y/o gelificantes adecuados. Las lociones se pueden formular con una base acuosa u oleosa, y en general también contendrán uno o más emulsionantes, estabilizantes, dispersantes, suspendentes, espesantes o colorantes.

40 Las formulaciones adecuadas para administración tópica en la boca, incluyen tabletas que contienen el principio activo en una base saborizada, generalmente sacarosa y goma de acacia o goma tragacanto; pastillas que contienen el principio activo en una base inerte como gelatina o sacarosa y goma de acacia; y enjuagues bucales que contienen el principio activo en un portador líquido adecuado.

45 Las formulaciones adecuadas para administración rectal se pueden presentar como supositorios. Los excipientes adecuados incluyen manteca de cacao y otros materiales utilizados comúnmente en el área, y los supositorios se pueden preparar convenientemente mediante mezcla del principio biológicamente activo con el portador o los portadores ablandados o fundidos, seguido de enfriamiento y moldeado.

Las formulaciones adecuadas para administración vaginal se pueden presentar como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o pulverizaciones que contienen además del principio biológicamente activo excipientes que los técnicos saben que son apropiados.

50 Para la administración intranasal o intrapulmonar, las formulaciones se pueden administrar en forma de una solución o una suspensión o como un polvo seco.

Las soluciones y las suspensiones serán generalmente acuosas (por ejemplo agua estéril apirógena) con un cosolvente fisiológicamente aceptable (por ejemplo etanol, propilenglicol o polietilenglicoles como PEG 400).

Dichas soluciones o suspensiones pueden contener además otros excipientes por ejemplo conservantes (como

cloruro de benzalconio), solubilizantes o surfactantes como polisorbatos (por ej. Tween 80, Span 80, cloruro de benzalconio), soluciones amortiguadoras, agentes para ajustar la isotonicidad (por ejemplo cloruro de sodio), potenciadores de la absorción y potenciadores de la viscosidad. Las suspensiones pueden contener además suspendentes (por ejemplo celulosa microcristalina, carboximetilcelulosa sódica).

- 5 Las soluciones o suspensiones se pueden aplicar directamente en la cavidad nasal por medios convencionales, por ejemplo con un cuentagotas, una pipeta o un pulverizador. Las formulaciones se pueden proporcionar en una presentación monodosis o multidosis. El último caso significa que se proporciona deseablemente un dosificador. En el caso de un cuentagotas o pipeta, esto se puede lograr mediante la administración de un volumen apropiado, predeterminado, de la solución o la suspensión. En el caso de un pulverizador, esto se puede lograr por ejemplo por medio de una bomba pulverizadora que dosifique la atomización.

- 10 La administración en el aparato respiratorio también se puede lograr por medio de una formulación en aerosol en la cual el principio biológicamente activo se proporciona en un envase presurizado con un propelente adecuado, como clorofluorocarbono (CFC), por ejemplo diclorodifluorometano, triclorofluorometano o diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. El aerosol puede también contener convenientemente un surfactante como lecitina. La dosis de producto farmacéutico se puede controlar mediante una válvula dosificadora.

- 15 Alternativamente los compuestos se pueden proporcionar en forma de un polvo seco, por ejemplo, una mezcla en polvo del compuesto en una base de polvo adecuada como lactosa, almidón, derivados del almidón como hidroxipropilmetilcelulosa y polivinilpirrolidona (PVP). De manera conveniente, el portador en polvo formará un gel en la cavidad nasal. La composición en polvo se puede presentar en formas farmacéuticas unitarias, por ejemplo en cápsulas o cartuchos, por ej. de gelatina, o blísteres de los que el polvo puede ser administrado por medio de un inhalador como Diskhaler (marca registrada de GlaxoSmithKline) o un inhalador de aerosol de dosis fija.

#### *Otros excipientes*

- 25 Una persona con experiencia en el área sabrá que otros excipientes se pueden incluir en la formulación. La elección de otros excipientes dependerá de las características del principio biológicamente activo y de la forma de administración utilizada. Los ejemplos de otros excipientes incluyen solventes, espesantes o gelificantes, surfactantes, soluciones amortiguadoras, emolientes, edulcorantes, desintegrantes, aromatizantes, colorantes, conservantes, fragancias, electrolitos, polímeros formadores de película y semejantes. Los edulcorantes adecuados incluyen sacarosa, lactosa, glucosa, aspartamo o sacarina. Los desintegrantes adecuados incluyen almidón de maíz, metilcelulosa, polivinilpirrolidona, goma xantano, bentonita, ácido alginico o agar. Los aromatizantes adecuados incluyen esencia de menta piperita, esencia de wintergreen, aromatizantes de cereza, naranja o frambuesa. Los conservantes adecuados incluyen benzoato de sodio, vitamina E, alfatocoferol, ácido ascórbico, metilparabeno, propilparabeno o bisulfito de sodio.

- 30 Los excipientes típicos para la formulación de la presente invención incluyen gelificantes como carbómero (Carbopol) que es un carboxivinilpolímero, conservantes como metilparabeno, butilparabeno, etilparabeno, propilparabeno y benzoato de sodio y soluciones amortiguadoras como hidróxido de sodio. Los excipientes pueden estar presentes en una cantidad hasta de aproximadamente 5%.

#### *Proceso para preparar el portador o la formulación*

- 40 El proceso para preparar el portador implica combinar los derivados fosfato del agente de transferencia de electrones, o sus complejos, con el alcohol y después agregar agua. La formulación se prepara después agregando el principio biológicamente activo al portador en cualquier paso del proceso para preparar el portador.

Generalmente el alcohol se calienta a una temperatura de 55 °C o más y los derivados fosfato del agente de transferencia de electrones se disuelven en el alcohol. Si el principio biológicamente activo es soluble en el alcohol, entonces éste se agrega cuando los derivados fosfato del agente de transferencia de electrones y los alcoholes se combinan, y el balance de la formulación se hace con agua.

- 45 Los otros excipientes como los gelificantes, conservantes y soluciones amortiguadoras se pueden agregar durante cualquier paso del proceso, habitualmente luego de la adición del agua.

Los componentes del portador y la formulación se pueden combinar empleando cualquier técnica de mezcla conocida adecuada, como por ejemplo, agitación o agitación en vórtex.

#### *Descripción detallada de las figuras*

- 50 Los ejemplos se describirán con referencia a las figuras adjuntas en las cuales:

La figura 1 es una gráfica que muestra la concentración media de PTH en plasma de rata.

La figura 2 es una gráfica que muestra la distribución de radiactividad en órganos de rata luego de la

administración tópica de TPM-I<sup>125</sup>-Insulina transdérmica.

La figura 3 es una gráfica de los niveles de insulina en suero de rata.

La figura 4 es una gráfica del cambio promedio en la concentración de glucosa sanguínea luego del tratamiento con insulina transdérmica (Lispro).

**5 Ejemplos**

Diversas realizaciones y aspectos de la invención se describirán ahora con referencia a los ejemplos no limitantes siguientes.

**Ejemplo 1**

10 Este ejemplo investiga la absorción transdérmica de la paratohormona humana (fragmento 1-34) (PTH) empleando una formulación según la invención.

Materiales y métodos

Las formulaciones de prueba se prepararon de la manera siguiente. Todos los porcentajes son p/p.

Ingrediente	TPM-01/PTH	TPM-02/PTH
PTH-(1-34) (American Peptide, EE.UU.)	0.1%	0.1%
Una mezcla de las formas ácidas de tocoferols fosforilados (TPM) que contiene TP:T <sub>2</sub> P en una relación 2:1. TP se refiere al éster monofosfato de α-tocoferol y T <sub>2</sub> P se refiere al fosfato de ditocoferol.	1%	1%
Etanol	-	20%
Carbopol	0.4%	0.75%
Metilparabeno	0.1%	0.1%
Agua	c.s. para 100%	c.s. para 100%
TPM-01/PTH es un ejemplo de referencia.		

15 La formulación TPM-02/PTH fue una suspensión coloidal de apariencia semejante a la leche. Esto indicó que se habían formado las vesículas.

Tratamiento

Se asignaron aleatoriamente ratas Sprague-dawley (machos de 10-12 semanas de vida) a los grupos de tratamiento (Grupos 1 y 2, n = 6) y se alojaron en cajas individuales para evitar que sus compañeros de caja lamieran la formulación de sus dorsos. Grupos de tratamiento:

- 20
- Grupo 1 - 100 mg de TPM-01/PTH / 200 g de peso corporal dos veces al día durante 24 horas.
  - Grupo 2 - 100 mg de TPM-02/PTH / 200 g de peso corporal dos veces al día durante 24 horas.

25 Las ratas se anestesiaron, se pesaron y se les afeitó inmediatamente una región de ~5 x 4 cm debajo del cuello. Se extrajo sangre de la cola de las ratas durante la anestesia y se recogió el plasma para determinar el nivel de PTH antes del comienzo del tratamiento. Comenzando al día siguiente, se pesó la dosis apropiada de formulación para cada rata y se masajó sobre la piel de la rata usando un dedo enguantado. La formulación se aplicó a los grupos 1 y 2, dos veces al día (mañana y tarde) en el transcurso de 24 horas. Al completarse el período de tratamiento, las ratas se sacrificaron asfixiándolas con CO<sub>2</sub> y desangrándolas mediante punción cardíaca.

Análisis de PTH en el plasma: el plasma se separó de la sangre extraída por centrifugación y se almacenó a -20 °C

hasta su análisis. Se analizó el nivel de PTH en el plasma de las ratas usando el kit de ELISA Human Bioactive PTH 1-34 (Immunotopics Inc., EE.UU.) siguiendo las instrucciones del fabricante.

### Resultados

Los niveles medios de PTH detectados en el plasma se resumen en la figura 1.

- 5 La aplicación dos veces al día de TPM-01/PTH produjo un aumento significativo ( $p < 0.05^*$ ) en la cantidad de PTH presente en el plasma después de 24 horas. Los niveles plasmáticos medios de PTH aumentaron en 685 pg/ml con respecto al nivel basal en las ratas sin tratar. Este aumento en el plasma representa 4.5% de la dosis total.

- 10 La aplicación dos veces al día de TPM-02/PTH produjo un aumento significativo ( $p < 0.05^*$ ) en la cantidad de PTH presente en el plasma después de 24 horas. Este aumento (1185 pg/ml) representa 7.7% de la dosis total, y un 70% de mejora respecto a la formulación TPM-01/PTH.

\*Resultados de la prueba t de Student

- 15 El tratamiento transdérmico con TPM-02/PTH aumentó los niveles plasmáticos de PTH en las ratas lo que indica que TPM fue capaz de permitir la absorción de PTH-(1-34) a través de la piel en el transcurso de 24 horas, elevando significativamente los niveles plasmáticos de PTH circulantes en comparación con los controles sin tratar. 72 horas después del tratamiento, los niveles plasmáticos de PTH habían retornado a los niveles basales.

- 20 Estudios informados muestran que luego de la inyección subcutánea de cantidades terapéuticas (25  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de peso corporal), los niveles plasmáticos de PTH en ratas llegan al máximo ~40-60 minutos después de la inyección, y se metabolizan completamente en el correr de 4 horas. Aunque se les aplicó tópicamente, las ratas en este estudio recibieron una dosis mucho más grande (500  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de peso corporal). Dada la gran velocidad de metabolización del PTH, es razonable concluir que los elevados niveles de PTH restantes 24 horas después de la aplicación inicial, representan sólo un pequeño porcentaje de la dosis total recibida. La dosis eficaz producida por la aplicación tópica de las formulaciones de TPM sería por lo tanto mucho mayor que los niveles de PTH medidos después de 24 horas.

### Conclusiones

- 25 Aunque ambas formulaciones TPM-01 y TPM-02 fueron eficaces para administrar PTH, TPM-02/PTH administró 70% más PTH al sistema circulatorio que TPM-01/PTH. La formulación según la invención es más eficaz para administrar principios activos a través de la piel y en la circulación sistémica.

### Ejemplo 2

- 30 Este método describe la producción de 100 ml de una formulación mezcla de coenzima Q (CoQ)/fosfato de tocoferol para el uso posterior en formulaciones según la invención. La formulación final contiene 0.5% de CoQ10, 1% de TPM, 10% de etanol, 1% de carbopol, 0.1% de metilparabeno, c.s. de MilliQ.

### Equipo y materiales

- Etanol (grado RA)
- Agua MilliQ
- 35 Coenzima Q (Kaneka)
- Mezcla de fosfato de tocoferol (TPM) que contiene fosfato de tocoferol (TP) y fosfato de ditocoferol (T2P), en una relación 2:1 p/p (Phosphagenics Ltd).
- Carbómero 934P USP polvo (Croda Surfactants Ltd)
- Metilparabeno BP polvo (Bronson & Jacobs)
- 40 Hidróxido de sodio (NaOH) 1 M
- Balanza (Mettler AE 240)
- Tubo Falcon
- Recipiente para muestras de plástico de 100 ml
- Baño de agua a 70 °C

Multi-Vórtex

Procedimiento

1. Se pesó exactamente 0.5 g de CoQ en un tubo Falcon de 50 ml.
- 5 2. Se pesó exactamente 1 g de TPM en un tubo Falcon de 50 ml.
3. Se pesaron 10 g (no ml) de etanol en el tubo. Se tapó firmemente y se mezcló.
4. Se calentó en un baño de agua a 70 °C para ayudar a disolver/fundir los componentes. Se agitó a mano cada pocos minutos hasta que la CoQ y el TPM se disolvieron. Se dejó en el calor hasta que se necesitó. A esta concentración la CoQ, precipitó del etanol al enfriar.
- 10 5. Se midieron 80 ml de MilliQ en un recipiente para muestras de 100 ml. Se tapó firmemente y se colocó en el baño de agua durante 5 minutos para calentar el agua.
6. Se vertió la solución calentada de CoQ/TPM/etanol directamente en el agua MilliQ.
7. Se tapó inmediatamente y se agitó vigorosamente a mano para mezclar los componentes. La formulación tuvo un aspecto opaco, amarillo. Se agitó en vórtex durante 5 minutos.
- 15 8. Se pesó exactamente 1 g de Carbopol y 100 mg de metilparabeno en una navecilla para pesar. Se agregó gradualmente a la solución de CoQ/TPM, agitando vigorosamente en vórtex entre adiciones. La muestra se calentó en el baño de agua a 70 °C durante períodos cortos para ayudar a disolver las muestras.
9. Una vez que todo el carbopol/metilparabeno se hubo agregado, se agitó en vórtex hasta que todos los componentes lograron una consistencia uniforme, aunque en esta etapa no se había formado un gel.
- 20 10. Se agregaron 3 ml de NaOH 1 M, se tapó y se agitó vigorosamente.
11. Si la formulación no había formado un gel, se controlaba el pH. El carbopol formará un gel óptimo a un pH entre 7 y 8.
12. Se repitieron los pasos 10 y 11 hasta que se formó un gel de la consistencia deseada.
13. Cuando fue necesario, se llevó a 100 g con agua MilliQ.
- 25 14. Se agitó en vórtex durante otros 5 minutos.
15. Se envolvió el recipiente en una lámina metálica para evitar la fotodegradación de la CoQ.
16. Al día siguiente, todos los grumos restantes de carbopol sin disolver habrán absorbido agua de la formulación y formado bolsas de gel transparentes. Se agitó vigorosamente hasta que la formulación asumió una consistencia uniforme.
- 30 La formulación fue una suspensión coloidal de apariencia semejante a la leche. Esto indicó que se habían formado las vesículas.

Ejemplo 3

Este ejemplo investiga la absorción transdérmica de coenzima Q10 (CoQ10) empleando una formulación según la invención.

35 Materiales y métodos

Etanol (grado RA)

Agua MilliQ (suministro interno)

Mezcla de fosfato de tocoferol (TPM) que contenía fosfato de tocoferol (TP) y fosfato de ditocoferol (T2P), en una relación 2:1 p/p (Phosphagenics Ltd).

40 Coenzima Q (CoQ) (Kaneka, Japón)

Nivea Visage<sup>®</sup> antiarrugas Q10 cuidado diurno (Beiersdorf)

Carbómero 934P USP polvo (Croda Surfactants Ltd)

Metilparabeno BP polvo (Bronson & Jacobs)

Hidróxido de sodio (NaOH) 1 M

Balanza (Mettler AE 240)

5 Tubo Falcon

Recipiente para muestras de plástico de 100 ml

Baño de agua a 55 °C

Multi-Vórtex

Formulaciones de prueba

10 **Control de CoQ:** La formulación de control de CoQ se usó para evaluar la cantidad de CoQ10 capaz de penetrar la piel en ausencia de TPM. Contenido: 0.5% de CoQ10 (Kaneka, Japón), 10% de etanol, 1% de carbopol, 0.1% de metilparabeno, se llevó a 100% con agua.

Se pesó 0.5 g de CoQ10 en un tubo Falcon de 50 ml. Se agregaron 10 g de etanol usando la balanza de laboratorio. Se tapó firmemente y se mezcló. Se calentó en un baño de agua a 55 °C para ayudar a disolver/fundir la CoQ. Se dejó en el calor hasta que se necesitó. A esta concentración la CoQ, precipitó del etanol al enfriar. Se midieron 80 ml de agua en un recipiente para muestras de 100 ml. Se vertió la solución calentada de CoQ/etanol directamente en el agua. Se tapó inmediatamente y se agitó vigorosamente a mano para mezclar los componentes. Se agitó en vórtex durante 5 minutos. Algo de CoQ10 quedó fuera de la solución, formando un anillo anaranjado alrededor del recipiente. Esto no se puede evitar debido a la naturaleza insoluble de la CoQ10. Se pesó exactamente 1 g de Carbopol y 100 mg de metilparabeno en una navecilla para pesar. Se vertieron en la formulación y se agitó en vórtex hasta que se alcanzó una consistencia uniforme, aunque en esta etapa no se habrá formado un gel. Se agregaron 3 ml de NaOH 1 M, se tapó y se agitó vigorosamente. Si la formulación no había formado un gel, se controlaba el pH. El carbopol formará un gel óptimo a un pH entre 7 y 8. Se repitió la adición de 3 ml de NaOH 1 M, se agitó y se controló el pH hasta que se formó un gel. Cuando fue necesario, se llevó a 100 g con agua MilliQ. Se agitó en vórtex durante otros 5 minutos. Se envolvió el recipiente en una lámina metálica para evitar la fotodegradación de la CoQ. Al día siguiente, todos los grumos restantes de carbopol sin disolver habrán absorbido agua de la formulación y formado bolsas de gel transparentes. Se agitó en vórtex vigorosamente hasta que la formulación adoptó una consistencia uniforme.

30 **Control de TPM:** La formulación de control de TPM se usó para determinar el efecto de TPM sobre los niveles de CoQ10 endógenos. Contenido: 1% de TPM, 10% de etanol, 1% de carbopol, 0.1% de metilparabeno, se llevó a 100% con agua. No hay CoQ10 presente en esta formulación.

Se pesó 1 g de TPM en un tubo Falcon de 50 ml. Se agregaron 10 g de etanol usando la balanza de laboratorio. Se tapó firmemente y se mezcló. Se calentó en un baño de agua a 55 °C para ayudar a disolver/fundir el TPM. Se dejó en el calor hasta que se necesitó. Se midieron 80 ml de agua en un recipiente para muestras de 100 ml. Se vertió la solución calentada de TPM/etanol directamente en el agua. La formulación obtuvo inmediatamente una calidad lechosa. Se tapó inmediatamente y se agitó vigorosamente a mano para mezclar los componentes. Se agitó en vórtex durante 5 minutos. Se pesó exactamente 1 g de Carbopol y 100 mg de metilparabeno en una navecilla para pesar. Se vertió en la formulación y se agitó en vórtex hasta que se alcanzó una consistencia uniforme, aunque en esta etapa no se habrá formado un gel. Se agregaron 3 ml de NaOH 1 M, se tapó y se agitó vigorosamente. Si la formulación no había formado un gel, se controlaba el pH. El carbopol formará un gel óptimo a un pH entre 7 y 8. Se repitió la adición de 3 ml de NaOH 1 M, se agitó y se controló el pH hasta que se formó un gel. Cuando fue necesario, se llevó a 100 g con agua. Se agitó en vórtex durante otros 5 minutos. Se envolvió el recipiente en una lámina metálica para evitar la fotodegradación de la CoQ. Al día siguiente, todos los grumos restantes de carbopol sin disolver habrán absorbido agua de la formulación y formado bolsas de gel transparentes. Se agitó en vórtex vigorosamente hasta que la formulación adoptó una consistencia uniforme.

**TPM-02/CoQ:** La formulación de TPM-02/CoQ según la invención se preparó como se indica en el ejemplo 2 anterior. Contenido: 0.5% de CoQ10, 1% de TPM, 10% de etanol, 1% de carbopol, 0.1% de metilparabeno, se llevó a 100% con agua.

50 **Nivea Visage® antiarrugas Q10 cuidado diurno** (Beiersdorf, Alemania) Nivea Visage® es una crema facial comercial publicitada como una fuente eficaz de CoQ10 para la piel. Como el contenido exacto de CoQ10 se desconoce, se comparó la crema Nivea Visage® con la formulación de TPM-02/CoQ peso a peso. Contenido: Desconocido

Grupos de tratamiento:

5 Se adquirieron ratas Sprague-dawley (machos de 10-12 semanas de vida) a Animal Services, Monash University y se aclimataron en el alojamiento departamental para animales (Departmental Animal House) por un mínimo de 5 días antes de que comenzaran los tratamientos. Los animales se asignaron aleatoriamente a grupos de tratamiento (n = 6), y se alojaron en cajas individuales para evitar que los compañeros de caja lamieran la formulación de sus dorsos. Se proporcionaron libremente alimento (granulado estándar para ratas de laboratorio; Barastoc, Australia) y agua.

Grupo 1 - Sin tratar

Grupo 2 - 100 mg de control de CoQ / 200 g de peso corporal dos veces al día durante 24 horas.

10 Grupo 3 - 100 mg de control de TPM / 200 g de peso corporal dos veces al día durante 24 horas.

Grupo 4 - 100 mg de TPM-02/CoQ / 200 g de peso corporal dos veces al día durante 24 horas.

Grupo 5 - 100 mg de crema Nivea Visage® / 200 g de peso corporal dos veces al día durante 24 horas.

Grupo 6 - 100 mg de control de CoQ / 200 g de peso corporal dos veces al día durante 48 horas.

Grupo 7 - 100 mg de control de TPM / 200 g de peso corporal dos veces al día durante 48 horas.

15 Grupo 8 - 100 mg de TPM-02/CoQ / 200 g de peso corporal dos veces al día durante 48 horas.

Grupo 9 - 100 mg de crema Nivea Visage® / 200 g de peso corporal dos veces al día durante 48 horas.

20 Las ratas se anestesiaron, se pesaron y se les afeitó inmediatamente una región de ~5 x 4 cm debajo del cuello. Comenzando al día siguiente, se pesó la cantidad de formulación apropiada para cada rata y se masajé sobre la piel de la rata dos veces al día (mañana y tarde) en el transcurso de 24 o 48 horas, usando un dedo enguantado. La formulación se restringió a áreas de la piel dorsal de modo que la rata no pudiera alcanzarla al acicalarse.

25 *Análisis de CoQ10 en piel y plasma:* Al completarse el período de tratamiento las ratas se sacrificaron asfixiándolas con gas de CO<sub>2</sub>. Se les extrajo sangre mediante punción cardíaca que se recogió en tubos heparinizados, y luego se centrifugó para separar el plasma. El área de piel afeitada se lavó exhaustivamente con agua destilada para eliminar toda la CoQ10 no absorbida restante en la superficie, y se extirpó el área. La extracción de CoQ de los tejidos y la cuantificación por HPLC se realizaron esencialmente según el método de Aberg et al., (1992) Distribution and redox state of ubiquinones in rat and human tissues. Arch Biochem Biophys 295: 230-234.

30 *Análisis estadístico:* Los resultados se expresan como medias ± DE. Se llevó a cabo una prueba t de Student para determinar si había diferencias significativas en los niveles de CoQ extraída tanto del plasma como de la piel entre los grupos de tratamiento.

Resultados

Tabla I - Niveles medios de CoQ10 en el plasma y la piel luego del tratamiento

Tratamiento	Media de CoQ <sub>10</sub> en el plasma (ng/ml)		Media de CoQ <sub>10</sub> en la piel (µg/g)	
	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas
Sin tratar	27.67 ± 4.97	-	0.24 ± 0.04	-
Control de CoQ	35.00 ± 6.45	36.33 ± 4.84	0.74 ± 0.20	1.73 ± 0.27
Control de TPM	33.67 ± 7.06	28.33 ± 5.79	0.32 ± 0.02	0.61 ± 0.12
TPM-02/CoQ	59.33 ± 16.47	42.33 ± 8.80	6.13 ± 0.98	10.59 ± 4.08
Nivea Visage®	41.33 ± 4.59	29.83 ± 6.18	0.38 ± 0.05	0.62 ± 0.11

Plasma

La aplicación dos veces al día de TPM-02/CoQ en la región dorsal de las ratas produjo un aumento significativo



(p<0.05) en la cantidad de CoQ10 presente en el plasma (Tabla I). Los niveles plasmáticos medios de CoQ10 aumentaron en 114% (p<0.05) luego del tratamiento con TPM-02/CoQ con respecto a los niveles endógenos de CoQ10 observados en los controles sin tratar. En contraposición, los controles de CoQ y TPM sólo fueron capaces de elevar los niveles plasmáticos medios de CoQ10 en 26% y 22%, respectivamente. Ninguno de los dos últimos aumentos logró significación estadística. Es de destacar que TPM-02/CoQ elevó significativamente (p<0.05) los niveles plasmáticos de CoQ10 en 70% con respecto a la formulación de control de CoQ que carecía de TPM, lo que evidencia la participación directa de TPM con el etanol en la absorción transdérmica de CoQ10.

La crema Nivea Visage® aumentó los niveles plasmáticos de CoQ10 en 49% con respecto a los controles sin tratar luego del tratamiento de un solo día. Sin embargo, las cantidades plasmáticas de CoQ10 producidas por Nivea Visage® fueron significativamente menores (44%; p<0.05) que las producidas con el tratamiento con TPM-02/CoQ.

Piel

El tratamiento con TPM-02/CoQ aumentó significativamente (p<0.05) los niveles endógenos de CoQ10 en la piel en 2454% en las primeras 24 horas (Tabla I). A las 48 horas este aumento se había elevado a 4312% de los niveles endógenos. En contraposición, los controles de CoQ y TPM elevaron los niveles medios de CoQ10 en la piel en 208% y 33% respectivamente en las primeras 24 horas, y en 621% y 154% a las 48 horas. Si bien fue significativa (p<0.05), la magnitud del aumento luego del tratamiento con el control de TPM puede parecer de poco interés. TPM-02/CoQ produjo aumentos en la media de CoQ10 en la piel con respecto al control de CoQ de 728% y 512% después de 24 y 48 horas respectivamente.

Los niveles medios de CoQ10 en la piel fueron significativamente (p<0.05) aumentados (1513%) por TPM-02/CoQ luego de 24 horas, en comparación con la crema Nivea Visage® que no pudo elevar significativamente los niveles de CoQ10 en la piel por encima de los observados en las otras formulaciones de control.

Conclusión

La formulación de TPM/etanol aumentó la solubilidad y la posterior absorción de CoQ10 a través de la piel, elevando significativamente los niveles de CoQ10 en plasma y piel en comparación con las formulaciones de control que incluyeron una fuente cosmética comercial de CoQ10. Formular compuestos con una formulación de TPM/etanol según la invención tiene enorme potencial para la aplicación tópica y la absorción de moléculas que se sabe que tienen poca biodisponibilidad oral, especificidad cutánea o efectos secundarios adversos que se manifiestan durante la digestión.

Ejemplo 4

Se preparó una formulación que contenía insulina como se indica en la descripción anterior. Los detalles de la formulación son los siguientes:

Ingrediente	TPM-02/Insulina
Insulina	60 unidades/g de gel
Una mezcla de tocoferilos fosforilados (TPM) que contiene TP:T <sub>2</sub> P en una relación 2:1. TP se refiere al éster monofosfato de α-tocoferol y T <sub>2</sub> P se refiere al fosfato de ditocoferol.	2%
Etanol	30%
Carbómero 934	1%
Agua	c.s. para 100%

Ejemplo 5

Este ejemplo investiga la administración transdérmica de insulina formulada con TPM.

COMPONENTES DE LA FORMULACIÓN	LISPRO, análogo de la insulina humana (Eli Lilly)
	Insulina bovina (Sigma)

	3-[ <sup>125</sup> I]Yodotirosil A14)insulina, humana recombinante (Amersham Biosciences, código IM166, lote B0602) ( <sup>125</sup> I-insulina)
	TPM - mezcla de fosfato de α-tocoferol (TP) y fosfato de ditocoferol (T2P; 2:1)
COMPONENTES DE LA FORMULACIÓN DE DOSIFICACIÓN	32.5 U de LISPRO por kg de peso corporal
	10 U de insulina bovina por kg de peso corporal
	<sup>125</sup> I-insulina (humana recombinante; 400 nCi) por rata
	Formulación 2% de TPM
<u>Experimentos 1 a 3</u>	
ESPECIFICACIONES DEL	Ratas Sprague Dawley
MODELO ANIMAL	Sexo: machos
	Intervalo de peso corporal: 220 - 450 g
	Edad: 10 - 12 semanas
<u>Experimento 4</u>	
MODELO ANIMAL:	Cerdos

5 Se realizaron cuatro experimentos separados para demostrar independientemente la administración transdérmica de insulina empleando formulaciones de TPM luego de la administración tópica. TPM se formuló con insulina bovina, con un análogo de la insulina de acción rápida (LISPRO), o con una insulina humana recombinante radiomarcada. El éxito de la administración transdérmica se evaluó mediante los aumentos en los niveles plasmáticos de insulina, la detección de radiactividad subcutánea o los menores niveles de glucosa en sangre luego de una carga de glucosa.

Experimento 1: Aumento de los niveles de insulina plasmática

10 Se afeitó la región de piel dorsal de ratas macho Sprague Dawley (220-300g) bajo anestesia ligera (éter) el día antes del experimento. Mientras estaban dormidas, las ratas se pesaron para calcular la dosis de nembutal y la formulación de tratamiento necesaria para cada rata. Las ratas se dejaron en ayunas toda la noche (~16 h) con libre acceso al agua.

15 Las ratas se anestesiaron a la mañana siguiente y se mantuvieron anestesiadas durante todo el experimento. La formulación de prueba contenía 2% de TPM, insulina bovina (3 U/100 µl; Sigma), etanol (30%) y carbómero (1%) y agua hasta completar. Las ratas recibieron una dosis final de insulina de 10 U/kg de peso corporal. El grupo de control recibió la misma formulación que contenía TPM pero sin insulina. Se aplicaron tópicamente la formulación de control (n = 2) y de TPM-Insulina (n = 2) y se masajearon sobre la piel con un dedo enguantado. Se extrajo suero 1, 2, 3, 4 y 6 horas después de la administración.

Se usó un radioinmunoensayo de competición (Linco Research Inc.) específico para la insulina bovina para medir la cantidad de insulina presente en las muestras de suero.

Experimento 2: Detección de la absorción transdérmica de insulina usando sondas radiactivas.

20 Se prepararon ratas Sprague Dawley (300-450 g) para la administración tópica de las formulaciones según el experimento 1. Las ratas se dejaron en ayunas toda la noche (~16 h) con libre acceso al agua.

Se formuló insulina humana recombinante que contenía un radiomarcador (<sup>125</sup>I-Insulina, Amersham Biosciences) con 2% de TPM, 30% de etanol, 1% de carbómero y agua para formar un gel (TPM-<sup>125</sup>I-Insulina). Se aplicó tópicamente TPM-<sup>125</sup>I-Insulina (según se indicó antes) en una dosis de ~400 nCi por rata (n = 4). Las ratas de control (n = 5)

recibieron una formulación sin TPM, para abordar el rol de TPM en la absorción transdérmica. Las ratas se alojaron individualmente luego de la aplicación con libre acceso al alimento y al agua. Después de 5 horas, las ratas se sacrificaron y se les extrajeron los órganos que se pesaron y colocaron en viales de centelleo para determinar la cantidad total de radiactividad en cada órgano. La piel se lavó para eliminar toda la  $^{125}$ -insulina sin absorber restante de la superficie de la piel.

#### Experimento 3: Reducción de la glucosa sanguínea usando insulina transdérmica

Se prepararon ratas Sprague Dawley (220-300 g) para la administración tópica de las formulaciones según el experimento 1. Las ratas se dejaron en ayunas toda la noche (~16 h) con libre acceso al agua.

Se formuló el análogo de insulina humana de rápida acción, LISPRO (Eli Lilly), con 2% de TPM, 30% de etanol, 1% de carbómero y agua para formar un gel (TPM-LISPRO). El grupo de tratamiento (n = 15) recibió una aplicación tópica de TPM-LISPRO (dosis de 32.5 U de LISPRO/kg de peso corporal) 30 minutos antes de la carga de glucosa para permitir el tiempo para que LISPRO ingrese en la circulación sistémica. El grupo de control (n = 15) recibió una formulación sin LISPRO. Se inyectó glucosa (30% p/v) IP en una dosis de 2 g/kg de peso corporal (2 ml por 300 g de rata).

Las ratas se mantuvieron anestesiadas (nembutal) durante todo el experimento, y se les midió la glucosa sanguínea en la cola usando un monitor de glucosa sanguínea Medisense Optium Blood Glucose (Abbott). El nivel de glucosa en sangre se midió 5 minutos después de la carga de glucosa y otros 5 minutos más tarde. La glucosa sanguínea se midió después cada 10 minutos durante ~2-2.5 horas. Se restaron los niveles de glucosa en sangre medidos inmediatamente antes de la carga de glucosa de todos los valores posteriores para determinar el cambio en la glucosa sanguínea para cada rata durante el experimento. Se calculó el cambio promedio en la glucosa sanguínea para cada tiempo de toma de muestras y se graficó (Figura 3). Como en este estudio se usaron ratas no diabéticas, la eficacia de TPM-LISPRO se juzgó como una reducción en la glucosa sanguínea máxima con respecto a los animales de control.

Se calculó el área bajo la curva para cada rata y los grupos de poblaciones se compararon usando la prueba t de Student.

#### Experimento 4: Reducción de la glucosa sanguínea usando insulina transdérmica

Se prepararon ocho cerdos con 2 catéteres introducidos quirúrgicamente al menos 5 días antes del estudio. Se entrenó a los cerdos para que consumieran su alimento aproximadamente a las 3:00 pm en la tarde, de modo que se aclimataran a un ayuno de toda la noche. El diseño experimental fue una inversión única siendo los dos tratamientos gel de TPM-02 que contenía insulina o gel de TPM-02 sin insulina. Las infusiones intravenosas (IV) estuvieron separadas por al menos 1 día. El día de la infusión se extrajo sangre de los cerdos cada 15 minutos durante 1 hora para obtener concentraciones de glucosa sanguínea basales antes de la aplicación de los geles. Después de 30 min se comenzó una infusión de glucosa (0.33 g/kg por h) y xilazina (0.033 mg/kg por h) y se continuó con la toma de muestras de sangre durante otras 3 h. La sangre se analizó inmediatamente para determinar la glucosa usando un Glucometer. Durante el curso del estudio los catéteres de un cerdo perdieron permeabilidad y sólo 7 cerdos ingresaron en el estudio. Asimismo, un día de extracción de sangre (tratamiento con insulina) el catéter de muestreo de uno de los cerdos perdió permeabilidad durante la infusión. Por consiguiente, el número de días de extracción de sangre para el control y los cerdos tratados con insulina fueron de 7 y 6, respectivamente.

Los datos de glucosa sanguínea se analizaron utilizando REML con los efectos fijos que incluyeron tratamiento (control o insulina) y tiempo de toma de muestra de sangre mientras el modelo aleatorio incluyó cerdo y día de extracción de sangre. Además, se promediaron los valores de glucosa sanguínea en el período de pretratamiento y en las últimas 2 y 4 muestras. Estos datos también se analizaron usando REML siendo los efectos fijos el tiempo de extracción de sangre (antes o después de la aplicación del gel y la infusión) mientras que el modelo aleatorio incluyó cerdo y día de extracción de sangre. Para estos últimos análisis los datos se sometieron a transformación logarítmica.

#### Resultados y discusión:

##### Experimento piloto 1: Aumento de los niveles de insulina plasmática

En un experimento de un ensayo clínico, la aplicación tópica de TPM-insulina fue capaz de aumentar los niveles séricos de insulina (Figura 3). En ambos animales tratados, el aumento en los niveles séricos de insulina alcanzó el máximo 4 horas después del tratamiento. Los niveles de insulina en los animales de control disminuyeron en este período o no lograron alcanzar niveles similares a los de los animales tratados. El pequeño número de animales utilizado en este experimento piloto significa que la evaluación estadística no es posible; sin embargo es evidente una tendencia positiva para la absorción transdérmica exitosa, lo que garantiza un examen adicional en

experimentos más grandes.

#### Experimento 2: Detección de la absorción transdérmica de insulina usando sondas radiactivas

Habiéndose obtenido evidencia positiva de mayores niveles séricos de insulina en un experimento de un ensayo clínico, buscamos demostrar conclusivamente la absorción transdérmica de insulina formulada con TPM. Para hacer esto, formulamos TPM con una forma de insulina radiomarcada, con el objetivo de usar la desintegración radiactiva para controlar la absorción transdérmica de la insulina "caliente" y la posterior distribución (si la hubiera) en toda la rata. Los resultados muestran que TPM fue capaz de conducir exitosamente la absorción transdérmica de <sup>125</sup>I-insulina (Figura 2). Los niveles de radiactividad detectados en la piel en el sitio de aplicación fueron significativamente elevados ( $p < 0.001$ ) en comparación con los animales de control. Como la superficie de la piel de cada rata se lavó, esta radiactividad está presente en las capas más profundas de la piel. Es de destacar que la grasa subcutánea directamente por debajo del área de aplicación contenía niveles significativamente mayores ( $p < 0.05$ ) de radiactividad en comparación con los controles, lo que demuestra conclusivamente la capacidad de TPM para conducir la absorción de insulina a través de la piel al tejido subyacente.

#### Ejemplo 3: Reducción de la glucosa sanguínea usando insulina transdérmica.

Habiéndose demostrado el éxito de la absorción transdérmica de la insulina cuando se formula con TPM, buscamos examinar si la molécula administrada podría ingresar efectivamente en la circulación sistémica para reducir la glucosa sanguínea. Se sometieron ratas en ayunas a una prueba de tolerancia de glucosa 30 minutos después de la aplicación tópica de TPM-LISPRO, y se midió la glucosa sanguínea a intervalos subsiguientes (Figura 4). Los niveles de glucosa sanguínea se redujeron significativamente ( $p < 0.02$ ) en los animales tratados con TPM-LISPRO en comparación con los controles, lo que demuestra tanto la administración transdérmica como la subsiguiente actividad de la LISPRO transportada. Por consiguiente, TPM es capaz de transportar moléculas activas grandes como la insulina a través de la piel.

#### Experimento 4: Reducción de la glucosa sanguínea usando insulina transdérmica

Este estudio expandió el estudio en ratas en el que las pruebas de tolerancia de glucosa mostraron que la formulación de insulina transdérmica penetra la piel y está biodisponible. Esto se evaluó en cerdos con una prueba de tolerancia de glucosa IV empleando TPM-02/Insulina.

Los métodos se refinaron reemplazando las pruebas de glucosa oral iniciales que no actuaron como se preveía, con una dosificación IV de glucosa. Además, se infundió conjuntamente xilazina (un producto químico que inhibe la insulina liberada por el páncreas) con la glucosa.

El efecto estadístico total de TPM-02/Insulina fue muy significativo ( $p < 0.005$ ). El efecto más obvio pareció estar en la última parte de la infusión cuando la glucosa sanguínea hubo alcanzado la meseta. En la meseta, el aumento en la glucosa sanguínea fue significativamente menor en los cerdos que recibieron la preparación de insulina transdérmica lo que representa una marcada mejora en el control de la glucemia. Los datos indican que la insulina fue absorbida transdérmicamente.

La infusión simultánea de glucosa y un inhibidor de la secreción de la insulina como xilazina parece ser un buen sistema modelo para medir la administración transdérmica de insulina. El trabajo posterior deberá extender el uso del modelo actual para observar el efecto de la administración transdérmica durante un aumento más abrupto en la glucosa sanguínea y deberá extender el tiempo de estudio para determinar por cuánto tiempo se podría mantener la administración. También se podrían llevar a cabo otros estudios en un sistema modelo adecuado para el destinatario (es decir el ser humano diabético) como el de estreptozocina en cerdos diabético. Es decir, cerdos que han sido tratados con el compuesto químico estreptozocina, que destruye las células secretoras de insulina del páncreas volviendo al cerdo diabético.

#### Conclusiones:

Los resultados presentados demuestran que la mezcla de fosfatos de ditocoferol (TPM) puede conducir exitosamente la absorción transdérmica de moléculas grandes como la insulina. Se demostraron mayores niveles de insulina en la dermis en el sitio de aplicación, en la grasa subcutánea por debajo y en la sangre. Notablemente, las pruebas de tolerancia de glucosa indican que la molécula administrada es activa y capaz de reducir eficazmente la glucosa sanguínea. Este es un hallazgo positivo para los diabéticos, que ofrece la esperanza de disponer de un método de administración de insulina no invasivo para aliviar el malestar de las inyecciones diarias.

Se propone llevar adelante experimentos usando cédulas de difusión verticales (Franz), con piel de cerdo y ser humano, para determinar las velocidades de flujo y la permeabilidad de múltiples variantes de la formulación. Esta técnica permitirá una optimización más rápida de la formulación de TPM-insulina.

Ejemplo 6

Se preparó una formulación que contenía atropina como se indica en la descripción anterior. Los detalles de la formulación son los siguientes

Ingrediente	TPM-02/atropina
Fosfato de atropina	1%
Una mezcla de tocoferilos fosforilados (TPM) que contiene TP:T <sub>2</sub> P en una relación 2:1. TP se refiere al éster monofosfato de α-tocoferol y T <sub>2</sub> P se refiere al fosfato de ditocoferol.	2%
Etanol	30%
Carbómero 934	1%
Agua	c.s. para 100%

Ejemplo 7

5 Vesículas de TPM que contenían una mezcla del éster monofosfato de α-tocoferol (TP) y fosfato de ditocoferol (T<sub>2</sub>P) en una relación 2:1 se expusieron a jugos gástrico e intestinal simulados para determinar si las formulaciones entéricas de la presente invención podrían resistir las condiciones del intestino.

Las vesículas se prepararon con 2% de TPM que incluía la tintura fluorescente rodamina 6G, y se hizo un análisis de la distribución de la población de vesículas con clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS).

10 Los jugos gástrico e intestinal simulados se prepararon según la farmacopea de Estados Unidos. El jugo gástrico fue una solución ácida de enzima pepsina, a pH 1.2. El jugo intestinal se preparó con polvo de pancreatina en una solución amortiguadora de fosfato a pH 6.8.

Las vesículas se expusieron a ambos jugos por separado. La exposición a jugo gástrico simulado creó vesículas más grandes y/o agregados de vesículas. La exposición al jugo intestinal simulado casi no tuvo efecto sobre el aspecto de las vesículas, y mantuvieron la distribución de tamaño original.

15

Ejemplo 8

Se preparó una formulación a partir de complejos de TPM como se indica en la descripción anterior para examinar si los complejos de TPM formarán vesículas. Los detalles de la formulación son los siguientes:

Ingrediente	% w/w
Una mezcla de ácido lauriliminodipropiónico fosfato de tocoferol (TPM) que contiene TP:T <sub>2</sub> P en una relación 2:1. TP se refiere al éster monofosfato de α-tocoferol y T <sub>2</sub> P se refiere al fosfato de ditocoferol.	3.2%
Etanol	30%
Agua	c.s. para 100%

Las vesículas se formaron según esta formulación.

20 La palabra 'comprende' y formas de la palabra 'comprende' según se usan en esta descripción no limitan la invención reivindicada para excluir ninguna variante o adición.

**REIVINDICACIONES**

1. Un portador para administrar principios biológicamente activos que comprende:
  - (i) uno o más alcoholes C<sub>1-4</sub> en una cantidad de 5 a 40% (p/p);
  - (ii) agua en una cantidad de 50 a 90% (p/p); y
- 5 (iii) una combinación de un derivado fosfato de ditocoferol y un derivado fosfato de monotocoferol en una cantidad de hasta 3% (p/p), donde los derivados fosfato están en forma ácida; y  
 donde el portador está en forma de vesículas.
2. El portador de acuerdo con la reivindicación 1 en el cual los alcoholes C<sub>1-4</sub> se eligen del grupo que consiste en metanol, etanol, propanol, isopropanol y butanol o sus combinaciones.
- 10 3. El portador de acuerdo con la reivindicación 2 en el cual el alcohol C<sub>1-4</sub> es etanol.
4. El portador de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en el cual el alcohol C<sub>1-4</sub> está presente en una cantidad de 10 a 30% (p/p).
5. El portador de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en el cual la relación entre fosfato de monotocoferol y fosfato de ditocoferol es de 4:1 a 1:4, o de 2:1 (p/p).
- 15 6. El portador de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en el cual el agua está presente en una cantidad de 60 a 90% (p/p), o de 70 a 90% (p/p).
7. El portador de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en el cual el diámetro de las vesículas es de 50 a 10 000 nm, 100 a 500 nm, o 300 a 500 nm.
8. El uso de
- 20 (i) uno o más alcoholes C<sub>1-4</sub> en una cantidad de 5 a 40% (p/p);
- (ii) agua en una cantidad de 50 a 90% (p/p); y
- (iii) una combinación de un derivado fosfato de ditocoferol y un derivado fosfato de monotocoferol en una cantidad de hasta 3% (p/p), donde los derivados fosfato están en forma ácida;
- en la fabricación del portador según se define en la reivindicación 1.
- 25 9. Un proceso para la preparación del portador según se define en la reivindicación 1 que comprende los pasos de:
  - (a) combinar un derivado fosfato de ditocoferol y un derivado fosfato de monotocoferol en una cantidad de hasta 3% (p/p), donde los derivados fosfato están en forma ácida; con uno o más alcoholes C<sub>1-4</sub> en una cantidad de 5 a 40% (p/p); y
  - (b) agregar agua en una cantidad de 50 a 90% (p/p) a la combinación del paso (a).
- 30 10. Una formulación que comprende un principio biológicamente activo y un portador según se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.
11. La formulación de acuerdo con la reivindicación 10 en la cual el principio biológicamente activo es un producto farmacéutico o un derivado fosfato de éste.
- 35 12. La formulación de acuerdo con la reivindicación 11 en la que el producto farmacéutico se elige del grupo que consiste en vitaminas, fitoquímicos, cosméticos, nutracéuticos, hormonas, péptidos, polipéptidos, proteínas, aminoácidos, enzimas, ácidos nucleicos, oligonucleótidos, inmunoglobulinas, anticuerpos, vacunas, genoterapias, antioxidantes, antimicrobianos, antifúngicos, antivirales, antiherpéticos y antibióticos.
- 40 13. La formulación de acuerdo con la reivindicación 12 en la cual el producto farmacéutico se elige del grupo que consiste en neurolépticos, analgésicos narcóticos, antiinflamatorios, antiinflamatorios no esteroides, antiartríticos, agentes antiobesidad, péptidos antiobesidad, lipoproteínas, inhibidores de la lipasa, vasodilatadores, corticosteroides, progestinas, andrógenos, antiandrógenos, antineoplásicos, antihistamínicos, antianginosos, agentes que afectan al sistema respiratorio, productos farmacéuticos para la rinitis alérgica, tratamientos contra la hemorragia, antidislipidémicos, antidiabéticos, insulina, hipoglucemiantes, péptidos semejantes al glucagón, hormonas esteroides, antagonistas de las hormonas esteroides, hormona del crecimiento, agonistas de la hormona del crecimiento, antagonistas de la hormona del crecimiento, octreotida, análogos de las hormonas liberadoras de
- 45

- 5 gonadotropina, leuprolida, paratohormona humana (PTH), variantes de la apolipoproteína humana,  $\beta$ -bloqueantes, bloqueantes de los canales del calcio, ansiolíticos, hipnóticos, sedantes no barbitúricos, estimulantes psicomotores, antidepresivos, antiepilépticos, inhibidores de la ciclooxigenasa 2, agonistas opioides, antagonistas opioides, analgésicos no opioides, corticoesteroides, anestésicos, benzodiazepinas, opioides, agentes antienvjecimiento y antiarrugas.
- 10 14. La formulación de acuerdo con la reivindicación 13 en la cual el producto farmacéutico se elige del grupo que consiste en coenzima Q, paratohormona humana, insulina, péptido semejante al glucagón, morfina, oxicodona, diclofenac, lidocaína, propofol, timolol, aciclovir, clindamicina, ácido tranexámico, vitamina K, ácido fólico, eritropoyetina, hierro, elastina, niacina, prostaglandinas, nicotina, colágeno, ácidos grasos omega-3, glucosamina, extracto de semilla de uva, isoflavonas, fitoesteroles, derivados de hidroquinona, retinol y ácido retinoico.
- 15 15. La formulación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 10 a 14 en la que el principio biológicamente activo está presente en una cantidad de hasta 5% (p/p), 0.5 a 3% (p/p), o 0.5 a 2% (p/p).
16. La formulación de acuerdo con la reivindicación 15 que contiene además otro excipiente.
- 15 17. La formulación de acuerdo con la reivindicación 16 en la que el excipiente se elige del grupo que consiste en solventes, espesantes, gelificantes, surfactantes, tampones, emolientes, edulcorantes, desintegrantes, aromatizantes, colorantes, conservantes, fragancias, electrolitos y polímeros formadores de película.
18. La formulación de acuerdo con la reivindicación 16 o 17 en la que el excipiente está presente en una cantidad de hasta 5% (p/p).
- 20 19. La formulación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 10 a 18 en la que el principio biológicamente activo y el portador son para administrar por vía parenteral, entérica, oral, tópica, transdérmica, oftalmológica, rectal, vaginal, intranasal o intrapulmonar.
20. Un proceso para preparar la formulación definida en la reivindicación 10 que comprende el paso de combinar un principio biológicamente activo con un portador como el definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.

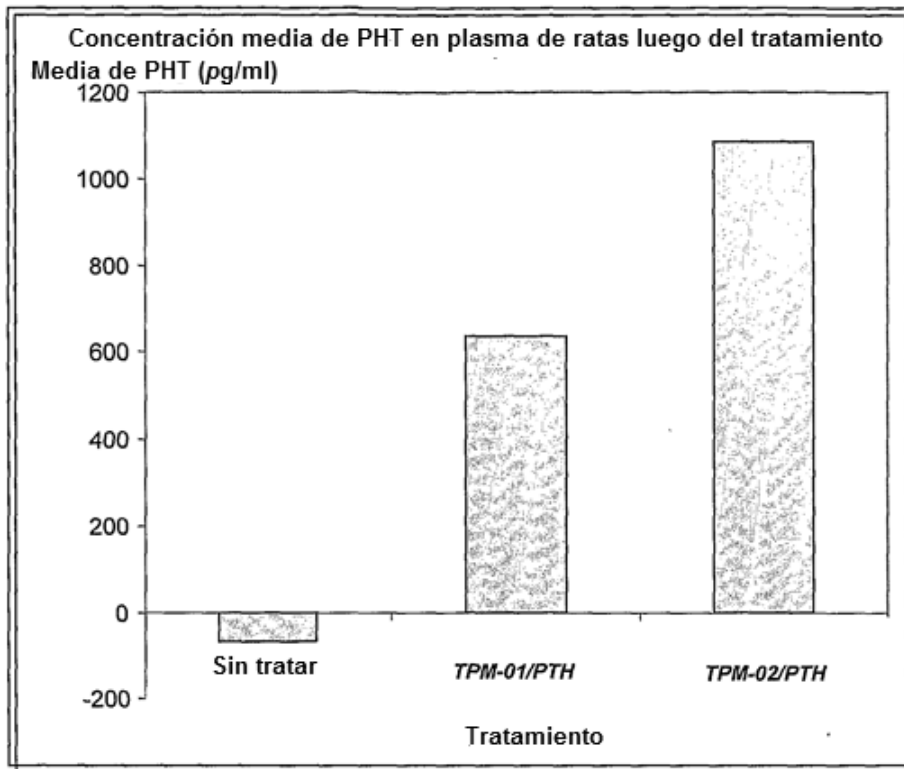


Figura 1



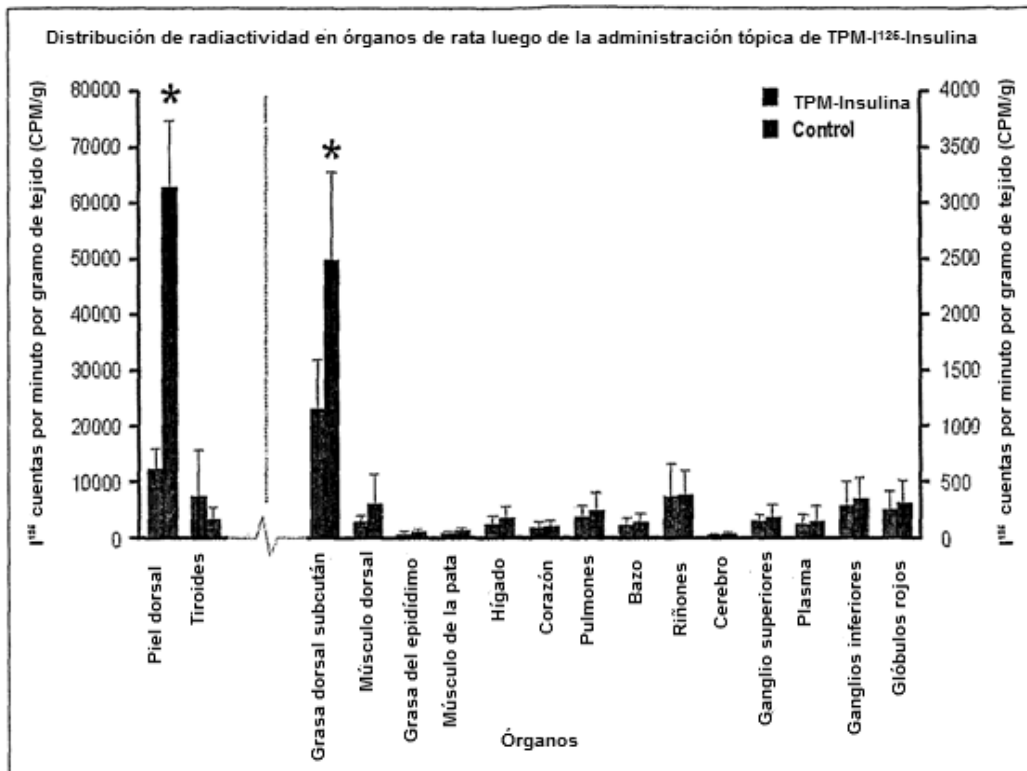


Figura 2

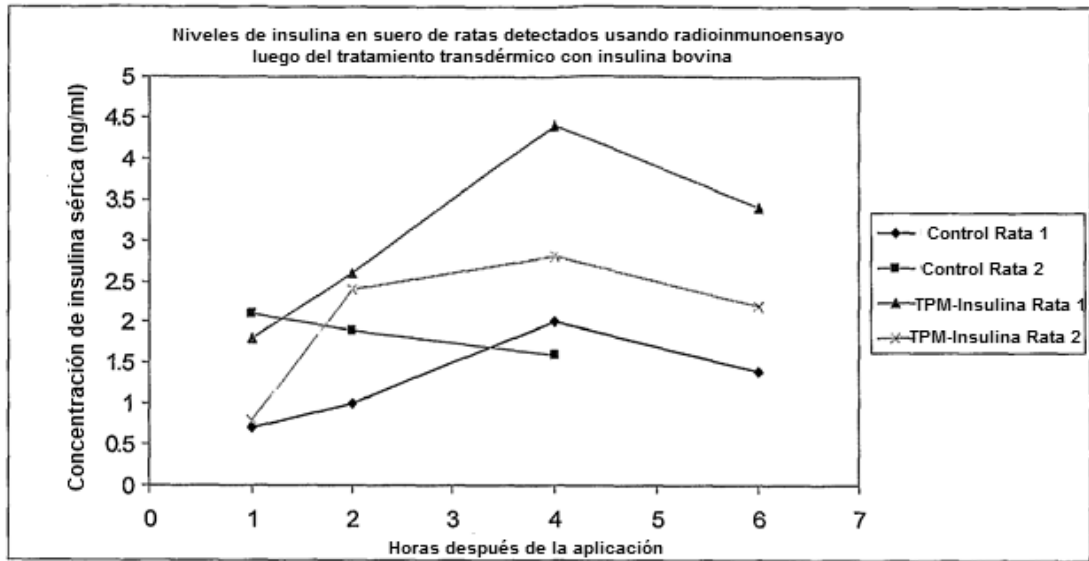


Figura 3

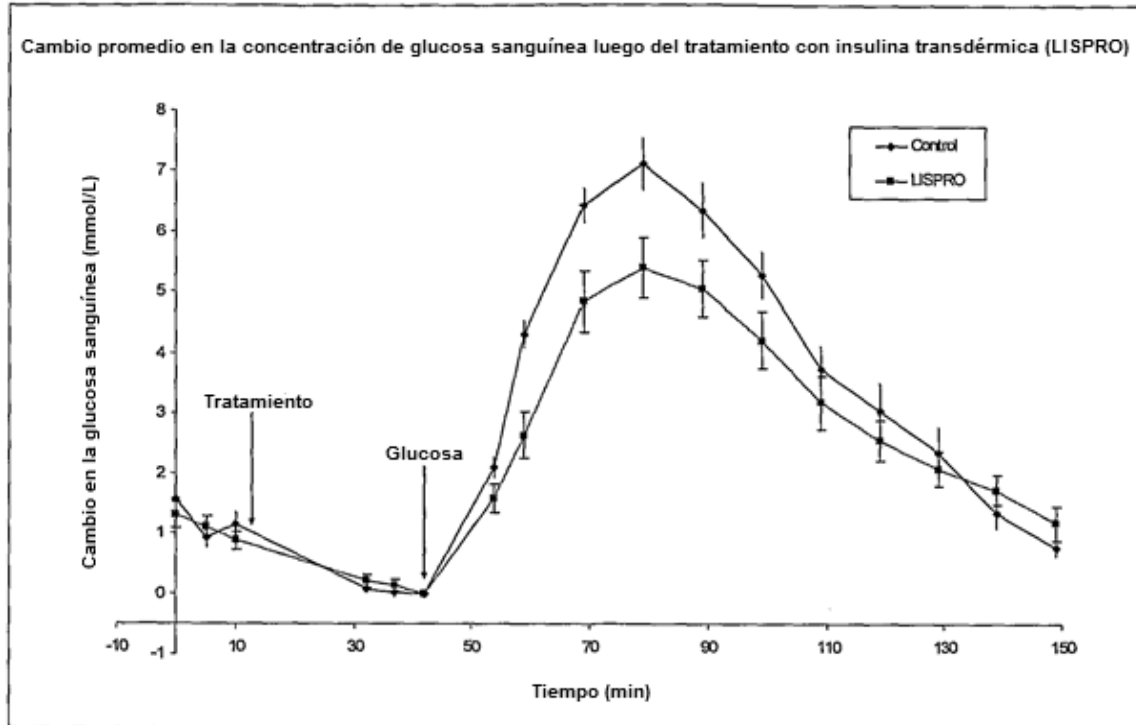


Figura 4