

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 618 457**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 48/00 (2006.01)

A61K 9/127 (2006.01)

A61K 47/36 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.03.2008 PCT/JP2008/056156**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.10.2008 WO08120736**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.03.2008 E 08739274 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.01.2017 EP 2133097**

54 Título: **Liposoma transpulmonar para controlar la llegada del fármaco**

30 Prioridad:

30.03.2007 JP 2007090874

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
21.06.2017

73 Titular/es:

**Takeuchi, Hirofumi (50.0%)
7-91, Awanonishi, Gifu-shi
Gifu 5020006, JP y
OTSUKA PHARMACEUTICAL CO., LTD. (50.0%)**

72 Inventor/es:

**TAKEUCHI, HIROFUMI;
NAKANO, KOJI y
TOYOBUKU, HIDEKAZU**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 618 457 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

Liposoma transpulmonar para controlar la llegada del fármaco

CAMPO TECNICO

5 La presente invención se refiere a un liposoma que es excelente en la capacidad de controlar la administración de fármacos o genes y que es adecuado para administración pulmonar. Además, la presente invención se refiere a una preparación de liposoma en la que los fármacos o genes se encapsulan en el liposoma.

TECNICA ANTERIOR

10 Un liposoma es una vesícula cerrada que tiene una estructura de bicapa lipídica. Un liposoma puede encapsular fármacos o genes en un estado aislado del ambiente externo con una membrana bimolecular, y así puede proteger a los fármacos o genes encapsulados de ser descompuestos o metabolizados. Además, un liposoma puede unirse a una membrana celular y membrana de mucosa controlando la composición de la membrana liposómica, y así es posible administrar los fármacos o genes encapsulados en las células. Los liposomas llaman la atención como un vehículo para fármacos o genes debido a tal función protectora y función de administración.

15 En general, se desea que los fármacos y genes usados para tratamiento de enfermedades sean administrados a un sitio de acción diana y que ejerzan una acción farmacológica prevista en un sitio tal. Se pretende que la administración de liposomas mejore las características de administración para fármacos o genes en el sitio de acción diana. Se han propuesto medios para controlar los tipos, relación y cargas superficiales de lípidos constituyentes para dar a los liposomas una función de transporte selectiva al sitio de acción diana. Sin embargo, los métodos del estado de la técnica anteriores no pueden controlar de manera adecuada las características de administración para fármacos bajo las actuales circunstancias. Particularmente, se requiere que los fármacos y genes aplicados a tejido pulmonar controlen altamente el comportamiento *in vivo* de fármacos o genes dependiendo de su modo de acción, es decir, en algunos casos se desea la retención en la superficie de tejido pulmonar (por ejemplo, en la superficie broncovescicular) y en otros casos se desea la incorporación en el tejido pulmonar. Sin embargo, todavía no están establecidas las técnicas para controlar el comportamiento *in vivo* de los fármacos y genes en tejido pulmonar.

25 Mientras tanto, se han informado técnicas para modificar la superficie de liposomas con macromoléculas tales como polímeros (por ejemplo, Documentos no de patente 1, 2, 6 y Documento de patente 1).

30 También se ha examinado el comportamiento *in vivo* tras la administración oral y parenteral de liposomas modificados en la superficie (véanse los Documentos no de patente 3-5 y 7-9). Los Documentos no de patente 8 y 9 describen además la administración pulmonar de partículas de polímero, que han sido recubiertas en la superficie con un polímero mucoadhesivo.

Sin embargo, no se conocen de manera suficiente técnicas para controlar el comportamiento *in vivo* de fármacos o genes en tejido pulmonar modificando la superficie de los liposomas.

[Documento no de patente 1]

35 Takeuchi H et al., "Effectiveness of submicron-sized, chitosan-coated liposomes in oral administration of peptide drugs", Int J Pharm., 2005 Oct 13; 303(1-2): 160-170

[Documento no de patente 2]

Takeuchi H et al., "Evaluation of circulation profiles of liposomes coated with hydrophilic polymers having different molecular weights in rats", J Control Release., 2001 Jul 10; 75(1-2): 83-91

[Documento no de patente 3]

40 Takeuchi H. et al.: "Enteral absorption of insulin in rats from mucoadhesive chitosan-coated liposomes", Pharm. Res. Vol. 13,(6)m 1996, p. 896-901;

[Documento no de patente 4]

Takeuchi H. et al.: "Effectiveness of submicron-sized, chitosan-coated liposomes in oral administration of peptide drugs", Int. J. Pharm. Vol. 303, no. 1-2, 13 de octubre de 2005, páginas 160-17;

45 [Documento no de patente 5]

Takeuchi H. et al.: "Mucoadhesive liposomes coated with chitosan or carbopol for oral administration of peptide drugs", Proceedings of the International Symposium on Controlled Release Bioactive Materials, Vol. 26(1), 1999, páginas 988-989;

[Documento no de patente 6]

Takeuchi H. et al.: "Physical stability of size controlled small unilamellar liposomes coated with a modified polyvinyl alcohol" J. Pharm. Vol. 164, no. 1-2, 1998, páginas 103-111

[Documento no de patente 7]

5 Takeuchi H. et al.: "Polymer coating of liposomes with a modified polyvinyl alcohol and their systemic circulation and RES uptake in rats", J. Controlled Release, Vol. 68, no. 2, 2000, páginas 195-205;

[Documento no de patente 8]

Yamamoto, H.: "Peptide no Keinenmaku Toyo o Mezashita Seibunkaisei Biryushiseizai no Sekkei", Annual Proc. Gifu Pharm. Univ., Vol. 49, 2000, p. 23 a 32;

[Documento no de patente 9]

10 Takeuchi H. et al.: "Mucoadhesive nanoparticulate systems for peptide drug delivery" Advanced Drug Delivery Reviews Vol. 47(1), 2001, páginas 39 - 54

DIVULGACIÓN DE LA INVENCION

Problema técnico

15 Así, es un objetivo de la invención resolver los problemas anteriores del estado de la técnica. Específicamente, es un objetivo de la invención proveer un liposoma que sea excelente en la capacidad de controlar la administración de fármacos o genes y que sea adecuado para administración pulmonar, y una preparación de liposoma para administración pulmonar en la que los fármacos o genes son encapsulados en el liposoma. Además, es otro objetivo de la invención proveer un método de tratamiento de una enfermedad de tejido pulmonar usando dicha preparación de liposoma.

20 Medios para resolver el problema

Los presentes inventores han estudiado intensamente para lograr el objetivo anterior y encontraron que, modificando la superficie de un liposoma usando un poli(alcohol vinílico) hidrofobizado terminal, pueden modular de manera apropiada la retención de fármacos o genes encapsulados en el liposoma en la superficie de tejido pulmonar, y la transferencia de fármacos o genes al tejido pulmonar o células de la superficie pulmonar, y así puede controlarse el comportamiento *in vivo* de los fármacos o genes. La invención ha sido completada haciendo una mejora adicional basada en estos hallazgos.

25 Concretamente, la presente invención proporciona las siguientes realizaciones.

Punto 1. Un liposoma para su uso en fármaco terapéutico o administración génica por administración pulmonar, en el que la superficie del liposoma está modificada con un poli(alcohol vinílico) hidrofobizado terminal.

30 Punto 2. El liposoma para su uso según el punto 1, que contiene un fosfolípido como componente constituyente de una membrana liposómica.

Punto 3. El liposoma para su uso según el punto 1, que contiene fosfatidilcolina, colesterol y un éster de dialquifosfato como componentes constituyentes de una membrana liposómica.

35 Punto 4. El liposoma para su uso según el punto 1, en el que la superficie de tejido pulmonar o células superficiales son sitios diana del liposoma.

Punto 5. El liposoma para su uso según el punto 1, que es un liposoma de liberación sostenida para administración pulmonar.

40 Punto 6. El liposoma para su uso según el punto 1, en el que la superficie del liposoma está modificada con un poli(alcohol vinílico) hidrofobizado terminal en el que un grupo hidrófobo es un grupo alquilo que tiene 1 a 30 átomos de carbono, un grupo alcoxi que tiene 1 a 30 átomos de carbono, un grupo carboxialquilo que tiene 1 a 30 átomos de carbono o un grupo tioalquilo que tiene 1 a 30 átomos de carbono.

Punto 7. Una preparación de liposoma para su uso en un fármaco terapéutico o administración génica por administración pulmonar, en el que un fármaco o un gen está encapsulado en el liposoma definido en el punto 1.

45 Punto 8. La preparación de liposoma para su uso según el punto 7, en el que la superficie de tejido pulmonar o células superficiales son sitios diana de la preparación de liposoma.

EFECTOS DE LA INVENCION

5 El liposoma para administración transpulmonar de la invención puede conferir comportamiento *in vivo* deseado a fármacos o genes que serán aplicados a tejido pulmonar debido a que la retención de fármacos o genes encapsulados en el liposoma en la superficie de tejido pulmonar y la transferencia de fármacos o genes en tejido pulmonar puede controlarse modulando la cantidad de un poli(alcohol vinílico) hidrofobizado terminal. Por lo tanto, según el liposoma para administración pulmonar de la invención, puede ejercerse de manera efectiva una acción farmacológica debido a fármacos o genes encapsulados en el sitio de acción diana de tejido pulmonar.

10 Se considera que el liposoma para administración pulmonar de la invención tiene una seguridad comparativamente alta debido a que el poli(alcohol vinílico) hidrofobizado terminal usado para la modificación superficial del liposoma para la administración pulmonar de la presente invención tiene características de biocompatibilidad o biodegradación. Además, según el liposoma para administración pulmonar de la invención, es posible proteger el liposoma por el poli(alcohol vinílico) hidrofobizado terminal con el cuales se modifica la superficie del liposoma, así puede suprimirse la descomposición de fármacos o genes encapsulados. Así, el liposoma para administración pulmonar de la invención también tiene ventaja en vista de la alta estabilidad de los fármacos o genes encapsulados.

15 BREVE DESCRIPCION DEL DIBUJO

La Fig. 1 es un gráfico que muestra los resultados de evaluación del Ejemplo de prueba 1 que mide los comportamientos de liposomas modificados con polímero de los Ejemplos 1 y 2 y un liposoma sin modificar del Ejemplo comparativo 2 en pulmones de ratas.

MEJOR MODO PARA LLEVAR A CABO LA INVENCION

20 A continuación la invención se describirá en detalle.

En el liposoma para administración pulmonar de la invención, el número de bicapas lipídicas no está específicamente limitado, siempre que el liposoma sea una vesícula cerrada que tenga una estructura de membrana de bicapa lipídica. Puede ser cualquiera de vesículas unilaminares pequeñas (SUV), vesículas unilaminares grandes (LUV) y vesículas multilaminares (MLV).

25 En el liposoma para la administración pulmonar de la invención, un componente que constituye la bicapa lipídica no está específicamente limitado, siempre que se use generalmente como un componente constituyente de una membrana liposómica. En particular, los ejemplos de los componentes constituyentes de la membrana liposómica incluyen lípidos, estabilizadores de membrana, materiales cargados, antioxidantes y proteínas de membrana.

30 El lípido que es un componente de la membrana liposómica es un componente esencial en la membrana liposómica, y ejemplos del mismo incluyen fosfolípidos, glicolípidos, esteroides y ácidos grasos saturados o insaturados.

Ejemplos específicos del fosfolípido incluyen fosfatidilcolinas tales como dilauroilfosfatidilcolina, dimiristoilfosfatidilcolina, dipalmitoilfosfatidilcolina, diestearoilfosfatidilcolina, dioleoilfosfatidilcolina, dilinoleoilfosfatidilcolina, miristoilpalmitoilfosfatidilcolina, miristoilestearoilfosfatidilcolina y palmitoilestearoilfosfatidilcolina; fosfatidilgliceroles tales como dilauroilfosfatidilglicerol, dimiristoilfosfatidilglicerol, dipalmitoilfosfatidilglicerol, diestearoilfosfatidilglicerol, dioleoilfosfatidilglicerol, dilinoleoilfosfatidilglicerol, miristoilpalmitoilfosfatidilglicerol, miristoilestearoilfosfatidilglicerol y palmitoilestearoilfosfatidilglicerol; fosfatidiletanolaminas tales como dilauroilfosfatidiletanolamina, dimiristoilfosfatidiletanolamina, dipalmitoilfosfatidiletanolamina, diestearoilfosfatidiletanolamina, dioleoilfosfatidiletanolamina, dilinoleoilfosfatidiletanolamina, miristoilpalmitoilfosfatidiletanolamina, miristoilestearoilfosfatidiletanolamina y palmitoilestearoilfosfatidiletanolamina; fosfatidilserina; ácido fosfatídico; fosfatidilinositol; esfingomielina; cardiolipina; lecitina de yema de huevo; lecitina de soja; y productos hidrogenados de los mismos.

35

40

Ejemplos específicos del glicolípido incluyen glicerolglicolípidos tales como diglicosildiglicérido, digalactosildiglicérido, galactosildiglicérido y glicosildiglicérido; glicoesfingolípidos tales como galactosilcerebrósido y gangliósido; estearilglucósido; y estearilglucósido esterificado.

45 Ejemplos específicos del esteroil incluyen colesterol, hemisuccinato de colesterilo, lanosterol, dihidrolanosterol, desmosterol, dihidrocolesterol, fitosterol, estigmasterol, zimosterol, ergosterol, sitosterol, campesterol y brassicasterol. Particularmente, el esteroil tiene la acción de estabilizar la membrana liposómica y modular la fluidez de la membrana liposómica, y por lo tanto es preferible que esté contenido como un lípido constituyente de la membrana liposómica.

50 Ejemplos específicos del ácido graso saturado o insaturado incluyen ácidos grasos saturados o insaturados que tienen 10 a 22 átomos de carbono, tales como ácido decanoico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido araquidónico, ácido oleico y ácido docosanoico.

Estos lípidos constituyentes de la membrana liposómica pueden usarse solos, o dos o más tipos de ellos pueden usarse en combinación. De estos lípidos constituyentes de la membrana liposómica, es preferible una combinación

de fosfolípido(s) y esteroles y es más preferible una combinación de fosfatidilcolina y colesterol. Cuando se usan fosfolípido(s) y esteroles en combinación, la relación de ambos no está específicamente limitada, y por ejemplo, la cantidad de esteroles es de 1 a 100 moles, preferentemente de 5 a 50 moles, y más preferentemente de 10 a 30 moles, por 100 moles del (de los) fosfolípido(s).

- 5 El contenido del lípido constituyente de la membrana liposómica no está específicamente limitado y por ejemplo, es del 1 al 100 %, preferentemente del 60 al 95 %, y más preferentemente del 70 al 90 %, basado en la cantidad total de los componentes constituyentes de la membrana liposómica en términos de relación molar.

10 Un material cargado se mezcla para modular la carga eléctrica de la membrana liposómica y se usa opcionalmente como un componente constituyente de la membrana liposómica. Como se usa en el presente documento, material cargado significa un componente constituyente de la membrana que tiene una carga eléctrica distinta al fosfolípido, glicolípido y esteroles. La carga eléctrica de la membrana liposómica puede modularse empleando, como líquido que sirve como un componente constituyente de la membrana liposómica, fosfolípidos iónicos tales como hemisuccinato de colesterol, fosfatidilserina, fosfatidilinositol y ácido fosfátido, y también puede modularse usando el material cargado en lugar de los fosfolípidos iónicos, o usando el material cargado en combinación con los fosfolípidos iónicos. Ejemplos específicos de materiales cargados que confieren una carga positiva incluyen aminas primarias alifáticas tales como laurilamina, miristilamina, palmitilamina, estearilamina y oleilamina. Ejemplos de materiales cargados que confieren una carga negativa incluyen ésteres de dialquil (C14-18) fosfato tales como dicetilfosfato. De estos materiales cargados, los ésteres de dialquilfosfato, particularmente dicetilfosfato, son aptos para uso en el liposoma para administración pulmonar de la invención ya que el uso de estos materiales cargados puede formar un liposoma negativamente cargado, modificando así de manera eficiente la superficie del liposoma.

20 La proporción del material cargado contenida en la membrana liposómica no está específicamente limitada, y por ejemplo, es del 0 al 5 %, preferentemente del 5 al 40 %, y más preferentemente del 10 al 25 %, basado en la cantidad total de los componentes constituyentes de la membrana liposómica en términos de relación molar.

25 Un antioxidante puede estar contenido para prevenir la oxidación de la membrana liposómica y opcionalmente se usa como un componente constituyente de la membrana liposómica. Ejemplos del antioxidante usado como un componente constituyente de la membrana liposómica incluyen hidroxitolueno butilado, galato de propilo, tocoferol, acetato de tocoferol, mezcla enriquecida con tocoferol, vitamina E, ácido ascórbico, estearato de L-ascorbilo, palmitato de ascorbilo, hidrogenosulfato de sodio, sulfato de sodio, edetato de sodio, ácido eritórlico y ácido cítrico.

30 La proporción del antioxidante contenida en la membrana liposómica no está específicamente limitada, y por ejemplo, es del 0 al 40 %, preferentemente del 5 al 20 %, y más preferentemente del 2,5 al 10 %, basado en la cantidad total de los componentes constituyentes de la membrana liposómica en términos de relación molar.

35 Una proteína de membrana puede mezclarse con el fin de adición de funciones a la membrana liposómica o estabilización de la estructura de la membrana liposómica, y se usa opcionalmente como un componente constituyente de la membrana liposómica. Ejemplos de la proteína de membrana incluyen proteína de superficie de membrana, proteína de membrana integral, albúmina y albúmina recombinante.

La proporción de la proteína de membrana contenida en la membrana liposómica no está específicamente limitada, y por ejemplo, es del 0 al 20 %, preferentemente del 2,5 a 10 %, más preferentemente del 5 al 8 %, basado en la cantidad total de los componentes constituyentes de la membrana liposómica en términos de relación molar.

40 En vista de realizar la modificación con quitosano de manera eficiente y firme, se prefiere contener un componente que tenga una carga negativa como un componente constituyente de la membrana liposómica. El liposoma contiene, como componentes de constitución de membrana, preferentemente fosfolípidos, esteroles y un material cargado capaz de conferir una carga negativa, y más preferentemente fosfatidilcolina, colesterol y un éster de dialquilfosfato. Según el liposoma que contiene tales componentes de constitución de membrana, la modificación superficial del liposoma puede realizarse de manera eficiente y firme, y también puede controlarse de manera efectiva la retención en la superficie de tejido pulmonar y transferencia en tejido pulmonar.

45 El diámetro de partícula del liposoma usado en el liposoma para administración pulmonar de la invención (concretamente, el diámetro de partícula del liposoma en un estado en donde no está modificado en la superficie) puede establecerse de manera apropiada según el tipo de lípido que vaya a usarse y el tipo de polímero que vaya a usarse para la modificación superficial y, por ejemplo, es de aproximadamente 20 a 1.000 nm, preferentemente de aproximadamente 50 a 500 nm, y más preferentemente de aproximadamente 100 a 200 nm. El diámetro de partícula del liposoma se mide por un método de dispersión de luz dinámica.

50 El liposoma puede prepararse, por ejemplo, usando métodos conocidos tales como un método de hidratación de membrana delgada, un método de ultrasonificación, un método de inyección de etanol, un método de inyección de éter, un método de evaporación en fase inversa, un método de agente tensoactivo, un método de congelación/descongelación y un método de hidratación ultrasónica de membrana delgada. El diámetro de partícula del liposoma puede modularse por métodos conocidos tales como un método de extrusión, un método de prensa francesa y un método de homogeneización.

En el liposoma para administración pulmonar de la invención, la superficie del liposoma se modifica con al menos un polímero seleccionado del grupo que consiste en poli(alcoholes vinílicos) hidrofobizados terminales (en lo sucesivo, referido algunas veces como un polímero de modificación superficial). En el liposoma para administración pulmonar de la invención, la superficie del liposoma se modifica uniendo el polímero de modificación superficial en la superficie del liposoma mediante un enlace hidrófobo, un enlace hidrógeno o un enlace electrostático.

En el presente documento, el poli(alcohol vinílico) hidrofobizado terminal significa un polímero en el que un grupo hidrófobo está unido en el extremo del poli(alcohol vinílico). Ejemplos específicos del poli(alcohol vinílico) hidrofobizado terminal incluyen polímeros en los que un grupo hidrófobo seleccionado de un grupo alquilo, un grupo alcoxi, un grupo carboxialquilo y un grupo tioalquilo está unido en el extremo del poli(alcohol vinílico). De estos polímeros, se prefiere un polímero en el que el grupo hidrófobo sea un grupo tioalquilo. Puede usarse el grupo alquilo, grupo alcoxi, grupo carboxialquilo y grupo tioalcoxi que constituyen el grupo hidrófobo que tiene aproximadamente 1 a 30 átomos de carbono, preferentemente aproximadamente 5 a 25 átomos de carbono, y más preferentemente aproximadamente 10 a 20 átomos de carbono. El grupo alquilo, grupo alcoxi, grupo carboxialquilo y grupo tioalquilo que constituyen el grupo hidrófobo pueden ser lineales o ramificados, y preferentemente son lineales. El grupo hidrófobo del poli(alcohol vinílico) hidrofobizado terminal usado en la invención es preferentemente un grupo tioalquilo que tiene 1 a 30 átomos de carbono, más preferentemente un grupo tioalquilo lineal que tiene 5 a 25 átomos de carbono, y particularmente preferentemente un grupo tioalquilo lineal que tiene 10 a 20 átomos de carbono. El poli(alcohol vinílico) hidrofobizado terminal para su uso en la presente invención puede ser cualquier poli(alcohol vinílico) que tenga un grupo hidrófobo unido al átomo de carbono terminal del poli(alcohol vinílico). Por ejemplo, cuando el grupo hidrófobo es un grupo tioalquilo, el átomo de azufre del grupo tioalquilo puede unirse de manera covalente al átomo de carbono terminal del poli(alcohol vinílico).

El grado de saponificación del resto de poli(alcohol vinílico) del poli(alcohol vinílico) hidrofobizado terminal es del 70 al 95 % en moles, preferentemente del 80 al 95 % en moles, y más preferentemente del 82 al 93 % en moles. Además, el grado de polimerización del resto de poli(alcohol vinílico) del poli(alcohol vinílico) hidrofobizado terminal es de 100 al 1.000, preferentemente de 200 a 800, y más preferentemente de 300 a 600.

En la invención, estos poli(alcoholes vinílicos) hidrofobizados terminales pueden usarse solos, o dos o más tipos de ellos pueden usarse en combinación.

El poli(alcohol vinílico) hidrofobizado terminal es un compuesto conocido, y está comercialmente disponible o se prepara por un método de producción conocido.

El quitosano, que se usa en el ejemplo de referencia, es un polisacárido en el que un resto de glucosamina está unido a través de un enlace β 1-4. El grado de polimerización del quitosano usado para la modificación superficial del liposoma es de 2 a 1.000, preferentemente de 50 a 900, y más preferentemente de 100 a 800 (aproximadamente 20.000 a 150.000 en términos de peso molecular). Por lo tanto, el grado de desacetilación del quitosano no está específicamente limitado y, por ejemplo, es del 60 % o más, preferentemente del 70 al 100 %, y más preferentemente del 80 al 100 %.

Cuando existe más poli(alcohol vinílico) hidrofobizado terminal en la superficie liposómica, se hace posible la retención durante un tiempo prolongado en la superficie de tejido pulmonar (por ejemplo, en la superficie broncovesicular), mientras que, cuando existe más quitosano en la superficie liposómica, se hace posible la rápida transferencia en tejido pulmonar. Por lo tanto, si existe más poli(alcohol vinílico) hidrofobizado terminal en la superficie liposómica, las sustancias incluidas en el liposoma pueden actuar en la superficie de tejido pulmonar o células superficiales de manera más eficiente. Si existe más quitosano en la superficie liposómica, puede mejorarse la transferencia de sustancias incluidas en el liposoma en el tejido pulmonar. Así, el liposoma modificado en la superficie con el poli(alcohol vinílico) hidrofobizado terminal es útil como un liposoma de liberación sostenida para administración pulmonar o como un liposoma para administración pulmonar que tiene como objetivo la superficie de tejido pulmonar o células de superficie. Además, el liposoma modificado en la superficie con quitosano (Referencia) es útil como un liposoma de acción rápida para administración pulmonar o como un liposoma para administración pulmonar que tiene como objetivo la superficie o el interior del tejido pulmonar, particularmente como un liposoma para administración pulmonar que tiene como objetivo el interior del tejido pulmonar.

El tipo de polímero para modificación superficial en el liposoma para administración pulmonar de la invención puede establecerse de manera apropiada basándose en el comportamiento intrapulmonar previsto teniendo en cuenta la transferencia anteriormente mencionada en tejido pulmonar y la capacidad de retención en la superficie del tejido pulmonar. En la invención, la superficie liposómica puede ser modificada con el poli(alcohol vinílico) hidrofobizado terminal solo, o una combinación de ambos polímeros.

La cantidad de polímero para modificación superficial en el liposoma para administración pulmonar de la invención también puede determinarse de manera apropiada basándose en el comportamiento intrapulmonar previsto teniendo en cuenta la transferencia anteriormente mencionada en el tejido pulmonar y la capacidad de retención en la superficie del tejido pulmonar. Por ejemplo, el polímero para modificación superficial puede usarse en la proporción de 1 a 300 partes en peso, preferentemente 5 a 250 partes en peso, y más preferentemente 10 a 200 partes en peso, por 100 partes en peso de la cantidad total de los componentes constituyentes de la membrana liposómica.

La modificación superficial del liposoma con el polímero para modificación superficial se lleva a cabo mezclando de manera suficiente el polímero para modificación superficial con el liposoma en agua purificada o un tampón. Específicamente, el liposoma modificado con el polímero para modificación superficial se forma mezclando una cantidad igual de una disolución acuosa que contiene aproximadamente 0,1 al 10 % en peso del polímero para modificación superficial y una disolución acuosa que contiene aproximadamente 1 al 10 % en peso del liposoma, seguido de agitación entre 4 y 10 °C durante 0,5 horas a 1 hora. Además, el liposoma modificado con el polímero para modificación superficial puede volver a dispersarse en agua purificada o un tampón después de la separación sólido-líquido.

El liposoma para administración pulmonar de la invención encapsula fármaco(s) que se requiere(n) para ejercer una acción farmacológica en tejido pulmonar o gen(es) para terapia génica en tejido pulmonar, y se usa como un vehículo para administración pulmonar. En la presente invención, el (los) gen(es) incluyen ácidos nucleicos tales como ARNip, ARNm, ARNr, miARN (micro ARN) ribozimas, oligonucleótido antisentido, oligonucleótido señuelo, ADN de plásmido, ácido nucleico peptídico, oligonucleótido formador de tríplex (TFO), aptámero y ADN aislado. La cantidad de fármaco(s) o gen(es) encapsulados en el liposoma puede determinarse de manera apropiada basándose en el tipo de fármaco(s) o gen(es), y la dosificación.

Además, se conocen métodos para encapsular fármaco(s) o gen(es) en el liposoma modificado con un polímero para modificación superficial y puede usarse un método que se usa comúnmente en este campo. En particular, los fármaco(s) o gen(es) se encapsulan en el liposoma formando un liposoma usando una disolución que contiene fármaco(s) o gen(es) y componentes constituyentes de la membrana liposómica. Más específicamente, una preparación de liposoma para administración pulmonar en la que el fármaco(s) o gen(es) se encapsulan en el liposoma para administración pulmonar de la invención puede prepararse por las siguientes etapas (i) y (ii):

- (i) una etapa de mezclar fármaco(s) o gen(es) con componentes constituyentes de la membrana liposómica para obtener un liposoma con fármaco(s) o gen(es) encapsulados, y
- (ii) mezclar el liposoma que encapsula fármaco(s) o gen(es) así obtenido con el polímero para modificación superficial para modificar la superficie del liposoma con el polímero para modificación superficial.

Además, la preparación liposómica para administración pulmonar, en la que fármaco(s) o gen(es) se encapsulan en el liposoma para administración pulmonar de la invención, también puede prepararse mezclando los fármaco(s) o gen(es), los componentes constituyentes de la membrana liposómica y el polímero para modificación superficial.

La preparación de liposoma para administración pulmonar en la que los fármaco(s) o gen(es) se encapsulan en el liposoma para administración pulmonar de la invención se usa administrando al pulmón usando un método de administración tal como administración transbronquial o administración por goteo nasal. Específicamente, una cantidad terapéuticamente eficaz de la preparación de liposoma que contiene fármaco(s) o gen(es) eficaz para tratar una enfermedad de tejido pulmonar se administra al pulmón de un paciente que padece la enfermedad de tejido pulmonar, tratando así la enfermedad de tejido pulmonar.

35 EJEMPLOS

La presente invención se describirá ahora en detalle basándose en ejemplos y similares, pero la presente invención no está limitada a los mismos.

Ejemplo 1

Preparación de liposoma modificado con poli(alcohol vinílico) hidrofobizado terminal

Se preparó un liposoma que tiene una composición lipídica de diestearoilfosfatidilcolina:colesterol:dicetilfosfato de 8:1:2 (relación molar) y contiene antraceno-9-carboxilato de colesterilo (CA) como sustancia fluorescentemente marcada por un método de hidratación ultrasónica de membrana. Específicamente, se disolvieron diestearoilfosfatidilcolina (103,2 mg), colesterol (6,3 mg), dicetilfosfato (17,9 mg) y CA (1 mg) en cloroformo, y entonces se obtuvo una membrana lipídica delgada en las condiciones a 40 °C durante 2 horas usando un evaporador. Posteriormente, la membrana se secó a presión reducida durante la noche, y entonces el liposoma se preparó mediante hidratación con 6,4 ml de tampón acetato 100 mM.

El liposoma así obtenido se modificó en la superficie con un poli(alcohol vinílico) hidrofobizado terminal (grado de saponificación: 88 %, grado de polimerización: 480, grupo hidrófobo: C₁₆H₃₃S-). Específicamente, se mezclaron un tampón acetato 100 mM que contenía 20 g/l de poli(alcohol vinílico) hidrofobizado terminal y un tampón acetato 100 mM que contiene 20,1 g/l del liposoma obtenido anteriormente en iguales proporciones. Posteriormente, la mezcla así obtenida se incubó durante una hora a 10 °C, obteniéndose el liposoma modificado con el poli(alcohol vinílico) hidrofobizado terminal.

Ejemplo 2 (Ejemplo de referencia)

Preparación de liposoma modificado con quitosano

5 Se preparó un liposoma modificado con quitosano de la misma manera que en el Ejemplo 1, excepto que se usó quitosano (peso molecular: 150.000, grado de desacetilación: 85 %) en lugar del poli(alcohol vinílico) hidrofobizado terminal. Sin embargo, el diámetro de partícula aumentó mezclando una cantidad igual de una suspensión de liposomas y tampón que contenía quitosano disuelto en el mismo, y por lo tanto se realizó un tratamiento ultrasónico después de mezcla.

Ejemplo de prueba 1

Evaluación del comportamiento intrapulmonar en ratas

10 El liposoma modificado con polímero del Ejemplo 1 o 2 (Ejemplo de referencia) se administró por vía transbronquial ((15,63 µg de CA/rata) a ratas Wistar macho (7 semanas de edad). Cinco horas después de la administración, se calculó la relación residual de dosificación (% de dosis) midiendo la concentración de CA en tejido pulmonar, fluido de lavado broncoalveolar (BALF) y células de lavado broncoalveolar (BALC) usando un espectrofluorómetro (HITACHI F3010). Para comparación, se realizó una prueba de la misma manera a la anteriormente descrita,
15 excepto que se usó un liposoma que no está modificado con un polímero (la composición de membrana y el contenido de CA son los mismos que en el Ejemplo 1) en lugar del liposoma modificado con polímero (Ejemplo comparativo 1). Los resultados se muestran en la Fig. 1.

20 Como es evidente a partir de los resultados mostrados en la Fig.1, en el liposoma modificado con polímero del Ejemplo 1, se detectó una fluorescencia más fuerte derivada de CA en BALF en comparación con el Ejemplo comparativo 1. Así, se confirmó que el liposoma modificado con polímero del Ejemplo 1 es útil para ejercer una acción farmacológica en la superficie o las células de superficie de tejido pulmonar, ya que son capaces de retenerse en la superficie de tejido pulmonar durante un largo periodo de tiempo.

25 En el liposoma modificado con polímero del Ejemplo 2 (Ejemplo de referencia), se mostró que se transfirió más liposoma en el tejido pulmonar debido a que se observó una fluorescencia más fuerte derivada de CA en el liposoma modificado con polímero del Ejemplo 2 (Ejemplo de referencia) en comparación con el Ejemplo comparativo 1. Por lo tanto, se reveló que el liposoma modificado con polímero del Ejemplo 2 (Ejemplo de referencia) puede ser transferido de manera eficiente en tejidos pulmonares en un corto tiempo, y así es posible administrar de manera eficiente en tejido pulmonar fármacos que, por ejemplo, no son fácilmente transferidos en el tejido pulmonar.

REIVINDICACIONES

1. Un liposoma para su uso en fármaco terapéutico o administración génica por administración pulmonar, en el que la superficie del liposoma está modificada con un poli(alcohol vinílico) hidrofobizado terminal.
- 5 2. El liposoma para su uso según la reivindicación 1, que contiene un fosfolípido como componente constituyente de una membrana liposómica.
3. El liposoma para su uso según la reivindicación 1, que contiene fosfatidilcolina, colesterol y un éster de dialquilfosfato como componentes constituyentes de una membrana liposómica.
4. El liposoma para su uso según la reivindicación 1, en el que la superficie del tejido pulmonar o células superficiales son sitios diana del liposoma.
- 10 5. El liposoma para su uso según la reivindicación 1, que es un liposoma de liberación sostenida para administración pulmonar.
6. El liposoma para su uso según la reivindicación 1, en el que la superficie del liposoma está modificada con un poli(alcohol vinílico) hidrofobizado terminal en el que un grupo hidrófobo es un grupo alquilo que tiene 1 a 30 átomos de carbono, un grupo alcoxi que tiene 1 a 30 átomos de carbono, un grupo carboxialquilo que tiene 1 a 30 átomos de carbono o un grupo tioalquilo que tiene 1 a 30 átomos de carbono.
- 15 7. Una preparación de liposoma para su uso en fármaco terapéutico o administración génica por administración pulmonar, en la que un fármaco o un gen está encapsulado en el liposoma definido en la reivindicación 1.
8. La preparación de liposoma para su uso según la reivindicación 7, en la que la superficie de tejido pulmonar o células superficiales son sitios diana de la preparación de liposoma.

20

[Fig.1]

