

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 661 325**

51 Int. Cl.:

A61K 9/127 (2006.01)

A61K 38/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.09.2008 PCT/US2008/077990**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.04.2009 WO09042945**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.09.2008 E 08834499 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.12.2017 EP 2205217**

54 Título: **Construcciones basadas en lípidos biodisponibles por vía oral**

30 Prioridad:

28.09.2007 US 904937

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

28.03.2018

73 Titular/es:

**SDG, INC. (100.0%)
10000 Cedar Avenue Suite 6
Cleveland, OH 44106, US**

72 Inventor/es:

**LAU, JOHN, R. y
GEHO, W. BLAIR**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 661 325 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

Construcciones basadas en lípidos biodisponibles por vía oral

5 La presente invención se refiere a una composición biodisponible por vía oral que comprende gelatina y constituyentes adicionales, y a los métodos para preparar dicha composición biodisponible por vía oral. Además, la presente invención se refiere a dicha composición biodisponible para su uso en un método para tratar una enfermedad en un ser humano, en particular la diabetes. Finalmente, la presente invención se refiere a un kit que comprende dichas composiciones biodisponibles por vía oral.

10

Antecedentes de la invención

15 Una de las maneras más preferidas para administrar un compuesto farmacéutico a un sujeto es una formulación oral. Sin embargo, las formulaciones orales de muchos compuestos farmacéuticos a menudo no están disponibles debido a la incompatibilidad farmacéutica con el ambiente difícil del tracto digestivo. Esto es especialmente cierto para compuestos farmacéuticos tales como péptidos, proteínas, determinadas moléculas pequeñas, y ácidos nucleicos.

20 Una formulación oral de una proteína, tal como insulina, podría ser muy deseable. Las estrategias actuales para normalizar los niveles de glucosa en sangre en pacientes diabéticos de Tipo I y Tipo II utilizan la administración subcutánea en diversas formulaciones de liberación prolongada, tales como insulina NPH ultralenta y humulina. El uso de estas formulaciones retrasa, y posteriormente controla la biodistribución de insulina, regulando la liberación del fármaco en los tejidos. La gestión sostenida de la insulina conduce a un mejor control de la glucosa y la necesidad de pocas inyecciones durante el curso de la enfermedad. Desafortunadamente, siguen siendo necesarias múltiples inyecciones dolorosas porque estas formulaciones no proporcionan niveles sostenidos de insulina en el sujeto que padece diabetes.

30 Muchos otros fármacos importantes no están actualmente disponibles en formulaciones orales. Los ejemplos incluyen calcitonina, serotonina, hormona paratiroidea, GLP-1, eritropoyetina, interferón de diversos tipos, hormona del crecimiento humana, anticuerpos monoclonales y otros muchos, cuyas utilidades se han revisado ampliamente en la bibliografía. Por ejemplo, el documento US 2007/0104777 describe un sistema liposómico dirigido de administración de fármacos. Cunji Dong et al. (1993) *Pharmaceutical Research* 10(1), 141 - 146 describen liposomas microencapsulados de acacia-gelatina. El documento WO 87/01587 describe microcápsulas que comprenden liposomas.

35

Lo que se necesita en el campo de la administración oral de fármacos es una composición que permita la administración oral de una amplia gama de productos farmacéuticos y otros agentes terapéuticos. La presente invención satisface y resuelve esta necesidad.

40 Breve resumen de la invención

La presente invención es como se establece en las reivindicaciones. La materia objeto que se establece a continuación se extiende más allá de la materia objeto de las reivindicaciones, no obstante, se divulga como parte de la presente solicitud.

45

De acuerdo con un aspecto reivindicado, la invención se refiere a una composición biodisponible por vía oral que comprende gelatina y constituyentes adicionales, comprendiendo dichos constituyentes un liposoma dimensionado dinámicamente, un fragmento de liposoma y una partícula lipídica, en el que dicho liposoma, fragmento de liposoma y partícula lipídica se generan a partir de una mezcla de componentes lipídicos que comprende dihexadecil fosfato, 1,2 diestearoil-sn-glicero-3-fosfolina, y colesterol; comprendiendo dicha composición además al menos un agente terapéutico o de diagnóstico y al menos un agente de direccionamiento derivado de biotina; en el que al menos dicho agente terapéutico es insulina y dicho al menos un agente de direccionamiento derivado de biotina es biotina-X-DHPE o biotina DHPE; en el que de 5% a 50% de dichos constituyentes adicionales presentan un diámetro promedio igual o menor de 20 nanómetros.

55

En un aspecto adicional reivindicado, la presente invención se refiere a un método para preparar una composición biodisponible por vía oral que comprende gelatina y constituyentes adicionales, comprendiendo dichos constituyentes un liposoma dimensionado dinámicamente, un fragmento de liposoma y una partícula lipídica, en el que dicho liposoma, fragmento de liposoma y partícula lipídica se generan a partir de una mezcla de componentes lipídicos que comprende dihexadecil fosfato, 1,2 diestearoil-sn-glicero-3-fosfolina, y colesterol, comprendiendo dicha composición además al menos un agente terapéutico o de diagnóstico y al menos un agente de direccionamiento derivado de biotina, en el que al menos dicho agente terapéutico es insulina y dicho al menos un agente de direccionamiento derivado de biotina es biotina-X-DHPE o biotina DHPE, en el que de 5% a 50% de dichos constituyentes adicionales presentan un diámetro promedio igual o menor de 20 nanómetros, comprendiendo dicho método las etapas de:

65

- a. mezclar dichos componentes lipídicos y, opcionalmente, dicho al menos un agente de direccionamiento en medio acuoso para formar una primera mezcla;
- b. añadir dicho agente terapéutico o diagnóstico a dicha primera mezcla para formar una segunda mezcla;
- c. añadir dicha segunda mezcla a gelatina para formar una mezcla asociada a gelatina; y
- d. secar dicha mezcla asociada a gelatina.

En un aspecto adicional reivindicado, la invención se refiere a una composición biodisponible por vía oral que comprende gelatina y constituyentes adicionales, comprendiendo dichos constituyentes un liposoma dimensionado dinámicamente, un fragmento de liposoma y una partícula lipídica, en el que dicho liposoma, fragmento de liposoma y partícula lipídica se generan a partir de una mezcla de componentes lipídicos que comprende dihexadecil fosfato, 1,2 diestearoil-sn-glicero-3-fosfolina, y colesterol, comprendiendo dicha composición además al menos un agente terapéutico y al menos un agente de direccionamiento derivado de biotina, en el que al menos dicho un agente terapéutico es insulina y dicho al menos un agente de direccionamiento derivado de biotina es biotina-X-DHPE o biotina DHPE, en el que de 5% a 50% de dichos constituyentes adicionales presentan un diámetro promedio igual o menor de 20 nanómetros, para su uso en un método de tratar una enfermedad en un ser humano.

Un aspecto reivindicado adicionalmente de la presente invención se refiere a una composición biodisponible por vía oral que comprende gelatina y constituyentes adicionales, comprendiendo dichos constituyentes un liposoma dimensionado dinámicamente, un fragmento de liposoma y una partícula lipídica, en el que dicho liposoma, fragmento de liposoma y partícula lipídica se generan a partir de una mezcla de componentes lipídicos que comprende dihexadecil fosfato, 1,2 diestearoil-sn-glicero-3-fosfolina, y colesterol, comprendiendo dicha composición además al menos un agente terapéutico y al menos un agente de direccionamiento derivado de biotina, en el que al menos dicho un agente terapéutico es insulina y dicho al menos un agente de direccionamiento derivado de biotina es biotina-X-DHPE o biotina DHPE, en el que de 5% a 50% de dichos constituyentes adicionales presentan un diámetro promedio igual o menor de 20 nanómetros, para su uso en un método de tratamiento de la diabetes en un ser humano.

En otro aspecto reivindicado, la presente invención se refiere a una composición que comprende gelatina y constituyentes adicionales preparados mediante un método que comprende las etapas de:

- a. mezclar al menos tres componentes lipídicos y, opcionalmente, al menos un agente de direccionamiento en medio acuoso para formar una primera mezcla en la que dichos componentes lipídicos comprenden dihexadecil fosfato, 1,2 diestearoil-sn-glicero-3-fosfolina, y colesterol;
- b. someter dicha mezcla a homogeneización para formar una mezcla de liposomas, fragmentos de liposomas, y partículas;
- c. añadir un agente terapéutico o diagnóstico a dicha mezcla de liposomas, fragmentos de liposomas, y partículas para crear una segunda mezcla;
- d. añadir dicha segunda mezcla a gelatina para formar una mezcla asociada a gelatina; y e. secar dicha mezcla asociada a gelatina

en el que de 5% a 50% de dichos constituyentes adicionales presentan un diámetro promedio igual o menor de 20 nanómetros.

Un aspecto reivindicado final de la presente invención se refiere a un kit que comprende

- a. una composición biodisponible por vía oral que comprende gelatina y constituyentes adicionales, comprendiendo dichos constituyentes un liposoma dimensionado dinámicamente, un fragmento de liposoma y una partícula lipídica, en el que dicho liposoma, fragmento de liposoma y partícula lipídica se generan a partir de una mezcla de componentes lipídicos que comprende dihexadecil fosfato, 1,2 diestearoil-sn-glicero-3-fosfolina, y colesterol, comprendiendo dicha composición además al menos un agente terapéutico o de diagnóstico y al menos un agente de direccionamiento derivado de biotina, en el que al menos dicho un agente terapéutico es insulina y dicho al menos un agente de direccionamiento derivado de biotina es biotina-X-DHPE o biotina DHPE, en el que de 5% a 50% de dichos constituyentes adicionales presentan un diámetro promedio igual o menor de 20 nanómetros; y
- b. material de instrucción para la administración de dicha composición a un ser humano.

La presente invención incluye composiciones que facilitan y/o permiten la absorción de compuestos terapéuticos que no están biodisponibles por vía oral de forma típica. En una realización, una composición de la invención funciona mediante asociación con un agente terapéutico y acompañando el agente terapéutico a través de la luz del intestino en el flujo sanguíneo portal y finalmente a la circulación sistémica. En determinadas realizaciones, la composición de la invención posee muchas propiedades únicas y ventajosas. Una de estas propiedades es la capacidad de introducirse en los huecos intercelulares y atravesar el intestino de mamífero hacia la circulación portal. En determinadas realizaciones, una composición de la invención puede dirigirse a receptores celulares o extracelulares específicos mediante uno o más agentes de direccionamiento.

En una realización preferida, una composición biodisponible por vía oral de la invención comprende gelatina y

constituyentes adicionales. Los constituyentes adicionales comprenden un liposoma dimensionado dinámicamente, un fragmento de liposoma y una partícula lipídica, en el que la partícula lipídica comprende al menos un componente lipídico y el liposoma o fragmento de liposoma comprende al menos dos componentes lipídicos. La composición comprende además al menos un agente terapéutico o de diagnóstico y, opcionalmente, al menos un agente de direccionamiento. La gelatina interactúa reversiblemente de forma activa con uno o más de los constituyentes de la composición de la invención.

En determinadas realizaciones, los componentes lipídicos se seleccionan entre el grupo que consiste en MPB-PE, 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfolina, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfolina, 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfolina, colesterol, oleato de colesterol, fosfato de dihexadecilo, 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfato, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfato, 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfato, 1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina-N-(succinilo), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-[fosfo-rac-(1-glicerol)] (sal de sodio), y fosfato de trietilamonio 2,3-diacetoxipropil 2-(5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il) pentanamido)etilo.

En determinadas realizaciones, el agente terapéutico se selecciona entre el grupo que consiste en insulina, interferón, eritropoyetina, hormona paratiroidea, calcitonina, serotonina, rituximab, trastuzumab, uricasa, activador del plasminógeno tisular, timoglobina, una vacuna, heparina o un análogo de heparina, antitrombina III, filgrastina, acetato de pramilitida, exanatida, epifibatida, antiveninas, IgG, IgM, HGH, tiroxina, GLP-1, factores de coagulación sanguínea VII y VIII, un anticuerpo monoclonal, y glicolípidos que actúan como agentes terapéuticos.

En una realización preferida, el agente terapéutico es insulina.

En determinadas realizaciones, el agente de direccionamiento comprende un agente de direccionamiento derivado de metal o un agente de direccionamiento derivado de biotina.

En una subrealización, el agente de direccionamiento derivado de metal comprende un metal y al menos un agente complejantes. Preferentemente, el metal del agente de direccionamiento derivado de metal se selecciona entre el grupo que consiste en un metal de transición, un metal de transición interno y un vecino del metal de transición y, el al menos un agente complejante se selecciona entre el grupo que consiste en:

ácido N-(2,6-diisopropilfenilcarbamoilmetil) iminodiacético;
 ácido N-(2,6-dietilfenilcarbamoilmetil) iminodiacético;
 ácido N-(2,6-dimetilfenilcarbamoilmetil) iminodiacético;
 ácido N-(4-isopropilfenilcarbamoilmetil) iminodiacético;
 ácido N-(4-butilfenilcarbamoilmetil) iminodiacético;
 ácido N-(2,3-dimetilfenilcarbamoilmetil) iminodiacético;
 ácido N-(2,4-dimetilfenilcarbamoilmetil) iminodiacético;
 ácido N-(2,5-dimetilfenilcarbamoilmetil) iminodiacético;
 ácido N-(3,4-dimetilfenilcarbamoilmetil) iminodiacético;
 ácido N-(3,5-dimetilfenilcarbamoilmetil) iminodiacético;
 ácido N-(3-butilfenilcarbamoilmetil) iminodiacético;
 ácido N-(2-butilfenilcarbamoilmetil) iminodiacético;
 ácido N-(4-terc-butilfenilcarbamoilmetil) iminodiacético;
 ácido N-(3-butoxifenilcarbamoilmetil) iminodiacético;
 ácido N-(2-hexiloxifenilcarbamoilmetil) iminodiacético;
 ácido N-(4-hexiloxifenilcarbamoilmetil) iminodiacético;
 ácido aminopirrol iminodiacético;
 ácido N-(3-bromo-2,4,6-trimetilfenilcarbamoilmetil) iminodiacético;
 ácido bencimidazol metil iminodiacético;
 ácido N-(3-ciano-4,5-dimetil-2-pirrilcarbamoilmetil) iminodiacético;
 ácido N-(3-ciano-4-metil-5-bencil-2-pirrilcarbamoilmetil) iminodiacético; y
 ácido N-(3-ciano-4-metil-2-pirrilcarbamoilmetil) iminodiacético.

En una realización, el metal es cromo.

En otra realización de la invención, el agente de direccionamiento derivado de metal es poli[Cr-bis(ácido N-2,6-diisopropilfenilcarbamoilmetil iminodiacético)].

En otra realización adicional más, el agente de direccionamiento es un agente de direccionamiento derivado de biotina seleccionado entre el grupo que consiste en N-hidroxisuccinimida (NHS) biotina; sulfo-NHS-biotina; N-hidroxisuccinimida biotina de cadena larga; sulfo-N-hidroxisuccinimida biotina de cadena larga; D-biotina; biocitina; sulfo-N-hidroxisuccinimida-S-S-biotina; biotin-BMCC; biotin-HPDP; yodoacetil-LC-biotina; biotin-hidrazida; biotin-LC-hidrazida; biocitina hidrazida; biotina cadaverina; carboxibiotina; fotobiotina; trifluoroacetato de p-aminobenzoil biocitina; p-diazobenzoil biocitina; biotina DHPE; biotina-X-DHPE; ácido 12-((biotinil)amino)dodecanoico; éster de succinimidilo del ácido 12-((biotinil)amino)dodecanoico; S-biotinil homocisteína; biocitina-X; biocitina x-hidrazida; biotinetilendiamina; biotina-XL; biotina-X-etilendiamina; biotina-XX hidrazida; biotina-XX-SE; biotina-XX, SSE; biotina-

X-cadaverina; α -(t-BOC)biotina; N-(biotinil)-N'-(yodoacetil) etilendiamina; DNP-X-biotina-X-SE; biotina-X-hidrazida; clorhidrato de norbiotina; 3-(N-maleimidilpropionil)biotina; ARP; biotin-1-sulfóxido; éster metílico de biotina; biotin-maleimida; biotin-poli(etilenglicol)amina; sal de sodio del ácido (+) biotina 4-amidobenzoico; Biotina 2-N-acetilamino-2-desoxi- β -D-glucopiranosido; biotin- α -D-N-acetilneuraminida; biotin- α -L-fucosida; Biotina lacto-N-biosida; biotin-Lewis-trisacárido A; biotin-Lewis-tetrasacárido Y; biotin- α -D-mannopiranosido; biotina 6-O-fosfo- α -D-mannopiranosido; y 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina-N-(biotinilo), los derivados de iminobiotina de los compuestos anteriormente mencionados, y las mezclas de los mismos.

En otra subrealización de la invención, el agente de direccionamiento es poli[Cr-bis(ácido N-2,6-diisopropilfenilcarbamoilmetil iminodiacético)] y el agente terapéutico es insulina.

En otra subrealización más, el agente de direccionamiento es biotina DHPE o biotina-X-DHPE y el agente terapéutico es insulina.

La presente invención describe también un método de preparar una composición biodisponible por vía oral que comprende gelatina y constituyentes adicionales, donde los constituyentes comprenden un liposoma dimensionado dinámicamente, un fragmento de liposoma y una partícula, en el que el liposoma, el fragmento de liposoma, y la partícula se generan a partir de una mezcla de componentes lipídicos, comprendiendo la composición además al menos un agente terapéutico o de diagnóstico y, opcionalmente, al menos un agente de direccionamiento, en el que la gelatina interactúa reversiblemente de forma activa con uno o más de los constituyentes. El método comprende las etapas de mezclar los componentes lipídicos y, opcionalmente, el al menos un agente de direccionamiento en medio acuoso para formar una primera mezcla; añadir el agente terapéutico o diagnóstico a dicha primera mezcla para formar una segunda mezcla; añadir la segunda mezcla a gelatina para formar una mezcla asociada a gelatina; y secar la mezcla asociada a gelatina.

En una subrealización del método, los componentes lipídicos se seleccionan entre el grupo que consiste en MPB-PE, 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina, 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfocolina, colesterol, oleato de colesterol, fosfato de dihexadecilo, 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfato, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfato, 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfato, 1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina-N-(succinilo), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-[fosforac-(1-glicerol)] (sal de sodio), y fosfato de trietilamonio 2,3-diacetoxipropil 2-(5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il)pentanamido)etilo; y cuando está presente, el agente de direccionamiento opcional es un agente de direccionamiento derivado de metal o un agente de direccionamiento derivado de biotina; y el agente terapéutico se selecciona entre el grupo que consiste en insulina, interferón, eritropoyetina, hormona paratiroidea, calcitonina, serotonina, rituximab, trastuzumab, uricasa, activador del plasminógeno tisular, timoglobina, una vacuna, heparina o un análogo de heparina, antitrombina III, filgrastina, acetato de pramilitida, exanatida, epifibatida, antiveninas, IgG, IgM, HGH, tiroxina, GLP-1, factores de coagulación sanguínea VII y VIII, un anticuerpo monoclonal, y glicolípidos que actúan como agentes terapéuticos.

En otra subrealización del método de preparación de la composición biodisponible por vía oral de la invención, el agente de direccionamiento derivado de metal es poli[Cr-bis(ácido N-2,6-diisopropilfenilcarbamoilmetil iminodiacético)].

En otra subrealización del método de preparación de la composición biodisponible por vía oral de la invención, el agente de direccionamiento derivado de biotina se selecciona entre el grupo que consiste en biotina DHPE y biotina-X-DHPE.

De acuerdo con otra subrealización de la invención, el agente terapéutico es insulina.

La presente invención contempla también un método para tratar una enfermedad en un ser humano, comprendiendo el método administrar al ser humano una composición biodisponible por vía oral que comprende gelatina y constituyentes adicionales, donde los constituyentes comprenden un liposoma dimensionado dinámicamente, un fragmento de liposoma, y una partícula lipídica, y donde la partícula lipídica comprende al menos un componente lipídico y el liposoma o fragmento de liposoma comprende al menos dos componentes lipídicos, y donde la composición comprende además al menos un agente terapéutico y, opcionalmente, al menos un agente de direccionamiento, en el que la gelatina interactúa reversiblemente de forma activa con uno o más de los constituyentes.

En una subrealización del método para tratar la enfermedad, la enfermedad es diabetes.

En una subrealización adicional, los componentes lipídicos se seleccionan entre el grupo que consiste en MPB-PE, 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina, 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfocolina, colesterol, oleato de colesterol, fosfato de dihexadecilo, 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfato, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfato, 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfato, 1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina-N-(succinilo), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-[fosforac-(1-glicerol)] (sal de sodio), y fosfato de trietilamonio 2,3-diacetoxipropil 2-(5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il)pentanamido)etilo; el al

menos uno o más agentes terapéuticos es insulina; y cuando está presente, el agente de direccionamiento opcional es un agente de direccionamiento derivado de metal o un agente de direccionamiento derivado de biotina.

5 En otra subrealización más, en la que el agente de direccionamiento no es opcional, el agente de direccionamiento es poli[Cr-bis(ácido N-2,6-diisopropilfenilcarbamoilmetil iminodiacético)], biotina DHPE o biotina-X-DHPE.

10 En realización preferida de la composición, los componentes lipídicos son 1,2 diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina, dihexadecil fosfato, y colesterol; el agente de direccionamiento no es opcional y es poli[Cr-bis(ácido N-2,6-diisopropilfenilcarbamoilmetil iminodiacético)]; y el agente terapéutico es insulina.

15 En otra realización preferida, los componentes lipídicos son 1,2 diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina, dihexadecil fosfato, y colesterol; el agente de direccionamiento no es opcional y es biotina-X-DHPE o biotina DHPE; y el agente terapéutico es insulina.

20 En una realización preferida de un método de la invención, los componentes lipídicos son 1,2 diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina, dihexadecil fosfato, y colesterol; el agente de direccionamiento no es opcional y es poli[Cr-bis(ácido N-2,6-diisopropilfenilcarbamoilmetil iminodiacético)]; y el agente terapéutico es insulina.

25 En otra realización preferida de la invención, los componentes lipídicos son 1,2 diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina, dihexadecil fosfato, y colesterol; el agente de direccionamiento no es opcional y es biotina-X-DHPE o biotina DHPE; y el agente terapéutico es insulina.

30 En otro aspecto de la invención, se puede preparar una composición de la invención según el método que comprende las etapas de a) mezclar al menos tres componentes lipídicos y, opcionalmente, al menos un agente de direccionamiento en medio acuoso para formar una primera mezcla en la que los componentes lipídicos se seleccionan entre el grupo que consiste en MPB-PE, 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina, 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfocolina, colesterol, oleato de colesterol, fosfato de dihexadecilo, 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfato, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfato, 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfato, 1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina-N-(succinilo), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-[fosfo-rac-(1-glicerol)] (sal de sodio), y fosfato de trietilamonio 2,3-diacetoxipropil 2-(5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il) pentanamido)etilo; b) someter la mezcla a homogeneización para formar una mezcla de liposomas, fragmentos de liposomas, y partículas; c) añadir un agente terapéutico o diagnóstico a la mezcla de liposomas, fragmentos de liposomas, y partículas para crear una segunda mezcla; c) añadir la segunda mezcla a gelatina para formar una mezcla asociada a gelatina, y; d) secar dicha mezcla asociada a gelatina.

35 La invención incluye además un método para tratar una enfermedad en un ser humano. Este método comprende administrar a dicho ser humano una composición biodisponible por vía oral que comprende gelatina y constituyentes adicionales, comprendiendo dichos constituyentes un liposoma dimensionado dinámicamente, un fragmento de liposoma y una partícula lipídica, en el que dicha partícula lipídica comprende al menos un componente lipídico y dicho liposoma o fragmento de liposoma comprende al menos dos componentes lipídicos, comprendiendo dicha composición adicional además insulina y, opcionalmente, al menos un agente de direccionamiento, en el dicha gelatina interactúa reversiblemente de forma activa con uno o más de dichos constituyentes. El método comprende además administrar simultáneamente insulina a dicho ser humano.

45 La presente invención incluye también un kit que comprende una composición biodisponible por vía oral que comprende gelatina y constituyentes adicionales, comprendiendo dichos constituyentes un liposoma dimensionado dinámicamente, un fragmento de liposoma y una partícula lipídica, en el que dicha partícula lipídica comprende al menos un componente lipídico y dicho liposoma o fragmento de liposoma comprende al menos dos componentes lipídicos, comprendiendo dicha composición además al menos un agente terapéutico o de diagnóstico y, opcionalmente, al menos un agente de direccionamiento, en el dicha gelatina interactúa reversiblemente de forma activa con uno o más de dichos constituyentes. El kit incluye además material de formación para la administración de dicha composición a un ser humano.

50 En una subrealización del kit de la invención, el kit incluye además insulina para la administración simultánea de dicha composición a dicho ser humano.

Breve descripción de los dibujos

60 El anterior sumario, así como la siguiente descripción detallada de las realizaciones preferidas de la invención, se comprenderán mejor cuando se lean junto con los dibujos adjuntos. A fin de ilustrar la invención, se muestran en los dibujos las realizaciones que se prefieren actualmente. Debe entenderse que, sin embargo, la invención no está limitada a las disposiciones e instrumentos que se muestran.

65 La Figura 1 es una representación esquemática de una composición de la invención.

La Figura 2 es un gráfico que representa los recuentos de fosfolípidos radiomarcados con ^{14}C que se encuentran en las venas femoral y porta 15 y 30 minutos después inyectar la composición radiomarcada de una rata de 230

gramos en ayuno y anestesiada.

La Figura 3 es un gráfico de barras que representa la distribución de los fosfolípidos radiomarcados con ^{14}C entre la sangre, el hígado, y el bazo en las ratas de la Figura 2, después del sacrificio.

5 La Figura 4 es un gráfico que representa la absorción de la composición radiomarcada de agua corriente a los 15, 30 y 45 minutos tras la dosificación.

La Figura 5 es un gráfico de barras que representa la distribución de la composición radiomarcada entre la sangre, el hígado, y el bazo en las ratas de la Figura 4, después del sacrificio.

La Figura 6 es un gráfico que representa la eficacia de una insulina administrada por vía oral en la forma de una composición de la invención.

10 La Figura 7 es un gráfico de barras que representa la eficacia de una composición de la invención (a dosis bajas), en convertir un perro diabético de tipo 2 desde la salida de la glucosa hepática hasta la captación durante una carga de glucosa portal.

La Figura 8 es un gráfico de los niveles de calcio en sangre tras la administración de calcitonina asociada con una composición no dirigida de la invención.

15 La Figura 9 es un gráfico de la distribución de tamaños de los miembros constituyentes de una composición de la invención.

La Figura 10 es un gráfico de la eficacia de una composición de la invención que comprende un agente de direccionamiento de biotina e insulina al reducir los efectos de la diabetes de tipo 2 en seres humanos.

20 La Figura 11 es un cromatograma de una composición de la invención que muestra la eficacia de la carga de insulina.

La Figura 12 es un gráfico que representa la eficacia de la administración de anticuerpos IgG unidos covalentemente a una composición de la invención frente a la absorción oral de anticuerpos IgG no asociados (libres).

25 La Figura 13 es un gráfico que representa el efecto de la administración oral de tiroxina asociado con una composición de la invención sobre el colesterol y los triglicéridos en suero ("TG") en ratones.

La Figura 14 es un gráfico que representa el efecto de la administración oral de interferón asociado con una composición de la invención sobre la reducción de la carga vírica en seres humanos que padecen hepatitis C.

30 Descripción detallada de la invención

La presente invención incluye composiciones que facilitan y/o permiten la absorción de compuestos terapéuticos que no están biodisponibles por vía oral de forma típica. En una realización, una composición de la invención funciona mediante asociación con un agente terapéutico y acompañando el agente terapéutico a través de la luz del intestino en el flujo sanguíneo portal y finalmente a la circulación sistémica. En determinadas realizaciones, la composición de 35 la invención posee muchas propiedades únicas y ventajosas. Una de estas propiedades es la capacidad de introducirse en los huecos intercelulares y atravesar el intestino de mamífero hacia la circulación portal. En determinadas realizaciones, una composición de la invención puede dirigirse a receptores celulares o extracelulares específicos mediante uno o más agentes de direccionamiento.

40 En una realización preferida, una composición biodisponible por vía oral de la invención comprende gelatina y constituyentes adicionales. Los constituyentes adicionales comprenden un liposoma dimensionado dinámicamente, un fragmento de liposoma y una partícula lipídica, en el que la partícula lipídica comprende al menos un componente lipídico y el liposoma o fragmento de liposoma comprende al menos dos componentes lipídicos. La composición comprende además al menos un agente terapéutico o de diagnóstico y, opcionalmente, al menos un agente de 45 direccionamiento. La gelatina interactúa reversiblemente de forma activa con uno o más de los constituyentes de la composición de la invención.

Definiciones

50 A no ser que se defina de otra forma, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen generalmente el mismo significado que el que entiende comúnmente una persona normalmente experta en la materia a la cual pertenece la invención. En general, la nomenclatura utilizada en el presente documento y los procedimientos de laboratorio en química orgánica y química de proteínas son aquellos bien conocidos y comúnmente empleados en la técnica.

55 Los artículos "un" y "uno/a" se usan en el presente documento para referirse a uno o más de uno (es decir, a al menos uno) del objeto gramatical del artículo. A modo de ejemplo, "un elemento" significa un elemento o más de un elemento.

60 Como se usa en el presente documento, los aminoácidos se representan por su nombre completo, por el código de tres letras así como el código de una letra correspondiente al anterior, como se indica en la siguiente tabla:

Nombre completo	Código de 3 letras	Código de 1 letra	Nombre completo	Código de 3 letras	Código de 1 letra
Alanina	Ala	A	Leucina	Leu	L
Arginina	Arg	R	Lisina	Lys	K
Asparagina	Asn	N	Metionina	Met	M
Ácido aspártico	Asp	D	Fenilalanina	Phe	F
Cisteína	Cys	C	Prolina	Pro	P
Cistina	Cys-Cys	C-C	Serina	Ser	S
Ácido glutámico	Glu	E	Treonina	Thr	T
Glutamina	Gln	Q	Triptófano	Trp	W
Glicina	Gly	G	Tirosina	Tyr	Y
Histidina	His	H	Valina	Val	V
Isoleucina	Ile	I			

El término "inferior", cuando se usa en referencia a una estructura química, describe un grupo que contiene de 1 a 6 átomos de carbono.

5

El término "alquilo", por sí mismo o como parte de otros sustituyente significa, a menos que se indique otra cosa, un hidrocarburo lineal, ramificado o cíclico que tiene el número de átomos de carbono designado (es decir, C₁-C₆ significa uno a seis carbonos). Los ejemplos incluyen: metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, terc-butilo, pentilo, neopentilo, hexilo, ciclohexilo y ciclopropilmetilo. Lo más preferido es alquilo (C₁-C₃), particularmente etilo, metilo e isopropilo.

10

El término "alquilenos", por sí mismo o como parte de otros sustituyente significa, a menos que se indique otra cosa, un hidrocarburo lineal, ramificado o cíclico que tiene dos sitios de sustitución, por ejemplo, metileno (-CH₂-), etileno (-CH₂CH₂-), isopropileno (-C(CH₃)=CH-), etc.

15

El término "arilo", empleado solo o en combinación con otros términos, significa, a menos que se indique otra cosa, una estructura carbocíclica, con o sin saturación, que contiene uno o más anillos (normalmente uno, dos o tres anillos) en el que dichos anillos pueden unirse entre sí de forma colgante, tal como un bifenilo, o puede estar condensado, tal como naftaleno. Los ejemplos incluyen fenilo, antracilo, y naftilo. La estructura puede sustituirse opcionalmente con uno o más sustituyentes, seleccionados independientemente entre halógeno; alquilo (C₁-C₆); alqueno (C₁-C₆); alcoxi (C₁-C₆); OH; NO₂; C≡N; C(=O)O alquilo (C₁-C₃); alquilenos (C₂-C₆)-OR²; fosfonato; NR²; NHC(=O) alquilo (C₁-C₆); sulfamilo; carbamilo; OC(=O) alquilo (C₁-C₃); O alquilenos (C₂-C₆)-N(alquilo (C₁-C₆))₂; y perfluoroalquilo (C₁-C₃).

20

El término "arilalquilo inferior" significa un grupo funcional en el que un grupo arilo se une a un grupo alquilenos inferior, por ejemplo, -CH₂CH₂-fenilo.

25

El término "alcoxi" empleado solo o en combinación con otros término significa, a menos que se indique otra cosa, un grupo alquilo o un grupo alquilo que contiene un sustituyente tal como un grupo hidroxilo, que tiene el número designado de átomos de carbono junto con el resto de la molécula mediante un átomo de oxígeno, tal como, por ejemplo, -OCH(OH)-, -OCH₂OH, metoxi (-OCH₃), etoxi (-OCH₂CH₃), 1-propoxi (-OCH₂CH₂CH₃), 2-propoxi (isopropoxi), butoxi (-OCH₂CH₂CH₂CH₃), pentoxi (-OCH₂CH₂CH₂CH₂CH₃), y los homólogos e isómeros superiores.

30

El término "acilo" significa un grupo funcional de la fórmula general C(=O)-R, en el que R es hidrógeno, alquilo, amino o alcoxi. Los ejemplos incluyen acetilo (-C(=O)CH₃), propionilo (-C(=O)CH₂CH₃), benzoilo (-C(=O)C₆H₅), fenilacetilo (C(=O)CH₂C₆H₅), carboetoxi (-CO₂CH₂CH₃), y dimetilcarbamoilo (C(=O)N(CH₃)₂).

35

Los términos "halo" o "halógeno" por sí mismos o como parte de otro sustituyente significa, a menos que se indique otra cosa, un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo.

40

El término "heterociclo" o "heterociclilo" o "heterocíclico" por sí mismo o como parte de otro sustituyente significa, a menos que se indique otra cosa, un sistema de anillo saturado o insaturado, estable, monocíclico o multicíclico, que comprende átomos de carbono y al menos un heteroátomo seleccionado entre el grupo que comprende N, O, y S, y en el que los heteroátomos de nitrógeno y azufre pueden oxidarse opcionalmente, y el átomo de nitrógeno puede estar cuaternizado opcionalmente. Los ejemplos incluyen piridina, pirrol, imidazol, bencimidazol, ftaleína, piridinilo, piranilo, furanilo, tiazol, tiofeno, oxazol, pirazol, 3-pirrolina, pirrolidina, pirimidina, purina, quinolina, isoquinolina, carbazol, etc. Donde la sustitución darán como resultado compuestos estables, la estructura puede sustituirse opcionalmente con uno o más sustituyentes, seleccionados independientemente entre halógeno; alquilo (C₁-C₆); alqueno (C₁-C₆); alcoxi (C₁-C₆); OH; NO₂; C=N; C(=O)O alquilo (C₁-C₃); alquilenos (C₂-C₆)-OR²; fosfonato; NR²; NHC(=O) alquilo (C₁-C₆); sulfamilo; carbamilo; OC(=O) alquilo (C₁-C₃); O alquilenos (C₂-C₆)-N(alquilo (C₁-C₆))₂; y

45

50

perfluoroalquilo (C₁-C₃).

La expresión "lípidio anfifático" significa una molécula lipídica que tiene un extremo polar y un extremo no polar.

5 Un "agente complejante" es un compuesto capaz de formar un compuesto de coordinación insoluble en agua con un metal, por ejemplo, una sal de cromo, circonio, etc., que es sustancialmente insoluble en agua y soluble en disolventes orgánicos.

10 "Medio acuoso" significa un medio que comprende agua o un medio que comprende agua que contiene al menos un tampón o una sal.

Los términos "asociado", o "asociado con", cuando se usa en referencia a una composición o constituyente de una composición de la invención, significa que el material al que se hace referencia se incorpora (o intercala) en, o sobre la superficie d, o en una composición o un constituyente de una composición de la presente invención.

15 El término "insulina" se refiere a formas naturales o recombinantes de insulina, insulina sintética, y derivados de las insulinas anteriormente mencionadas. Los ejemplos de insulina incluyen, aunque no de forma limitativa insulina lispro, insulina aspart, insulina regular, insulina glargina, insulina cinc, insulina humana cinc extendida, insulina isofánica, insulina regular tamponada humana, insulina glulisina, insulina regular humana recombinante, insulina ultralenta, humulina, insulina NPH, Levemir, Novolog, e insulina isofánica humana recombinante. Se incluyen también insulinas animales, tales como insulina de bovino o de porcino.

20 Los términos "glargina" e "insulina glargina" se refieren a un análogo de insulina humana recombinante que difiere de la insulina humana en que el aminoácido asparagina en la posición A21 está sustituido por glicina y se añaden dos argininas al extremo C de la cadena B. Químicamente, es una insulina 21A-Gly-30Ba-L-Arg-30Bb-L-Arg-humana y tiene la fórmula empírica C₂₆₇H₄₀₄ N₇₂O₇₈S₆ y un peso molecular de 6063.

25 La expresión "insulina isofánica humana recombinante" se refiere a una insulina humana que se ha tratado con protamina.

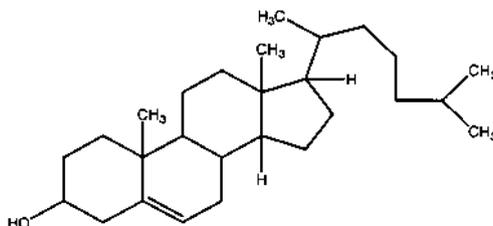
30 El término "biodisponibilidad" se refiere a una medición de la velocidad y la extensión en que un agente farmacéutico, tal como, aunque no de forma limitativa, insulina, alcanza la circulación sistémica y está disponible en su sitio de acción.

35 Como se usa en el presente documento, "tratar" significa reducir la frecuencia con la que los síntomas de una enfermedad, trastorno, o dolencia adversa, y similares, son experimentados por un paciente.

40 Como se usa en el presente documento, la expresión "transportador farmacéuticamente aceptable" significa una composición que con el principio activo puede combinarse y que, tras la combinación, puede utilizarse para administrar el principio activo a un sujeto.

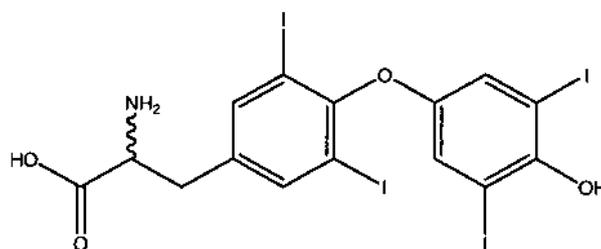
45 El término "lípidio" o "lípidos" significa un compuesto orgánico caracterizado por su preferencia por los disolventes orgánicos apróticos no polares. Un lípidio puede poseer o no una cola de alquilo. Los lípidos de acuerdo con la presente invención incluyen, aunque no de forma limitativa, la clase de compuestos conocidos en la técnica como fosfolípidos, colesteroles, y dialquil fosfatos.

Como se usa en el presente documento, "colesterol" significa el compuesto y todos los derivados y análogos del compuesto:



50 Como se usa en el presente documento, "partícula" comprende una aglomeración de múltiples unidades de uno o más lípidos.

55 Como se usa en el presente documento, "tiroxina" se refiere al compuesto:



en el que el grupo amino puede estar en cualquiera de la configuración "D" o "L".

- 5 Como se usa en el presente documento, "coadministración" o "coadministrar" así como las variaciones de los mismos, significa administrar un segundo agente terapéutico antes, durante, o después de la administración de un primer agente terapéutico. El primer y el segundo agentes terapéuticos puede ser igual o diferente.

- 10 Como se usa en el presente documento, "interferón" se refiere a todas las formas de interferón, incluyendo, aunque no de forma limitativa, interferón-a, interferón-beta, interferón-gamma, así como todas las subunidades de los mismos.

Descripción

- 15 Una composición de la presente invención comprende gelatina y uno o más constituyentes, en el que dichos constituyentes incluyen liposomas, fragmentos de liposomas, y partículas lipídicas.

- 20 Tradicionalmente, los liposomas, fragmentos de liposomas, y partículas lipídicas hechas de materiales anfipáticos se han limitado a una distribución de tamaños inferior de aproximadamente 40 nanómetros. Se creía que este límite era función de los tamaños colectivos de los lípidos constituyentes (fosfolípidos, colesterol, dialquilfosfatos, etc.) que constituirían la estructura de la membrana.

- 25 Los constituyentes de una composición de la presente invención, sin embargo, demuestran un dimensionamiento dinámico y una elasticidad de tamaño no observados hasta ahora. Específicamente, los constituyentes de las composiciones de la presente invención, existen en un equilibrio dinámico en medio acuoso en el que los constituyentes, en promedio, fluctúan de tamaño entre aproximadamente 6 nanómetros y aproximadamente 60 nanómetros de diámetro. En cualquier momento dado, cualquiera de aproximadamente 5% a aproximadamente 50% de los constituyentes presenta un diámetro promedio de aproximadamente 20 nanómetros o menos. Debido a las fluctuaciones casi constantes en los tamaños, los constituyentes de las composiciones de la presente invención no se pueden separar físicamente mediante fraccionamiento tradicional, lo que significa formar poblaciones discretas de estructuras dimensionadas de forma diferente. Los constituyentes de una composición de la invención pueden ser, aunque no de forma limitativa, un liposoma, un fragmento de liposoma y una partícula lipídica.

- 35 Los constituyentes de la composición de la presente invención pueden asociarse con uno o más agentes terapéuticos y/o agentes de diagnóstico. Sin desear quedar ligados a teoría alguna, se cree que los constituyentes que tienen diámetros de 20 nanómetros o menos son suficientemente pequeños para pasar a través de huecos intercelulares, permitiendo de esta manera el transporte del agente terapéutico o el agente diagnóstico asociados desde la luz del intestino a la sangre portal.

- 40 Los agentes terapéuticos y/o los agentes de diagnóstico asociados pueden unirse de forma covalente o no covalente con uno o más constituyentes de la composición de la presente invención. En las realizaciones de la invención donde los agentes terapéuticos o diagnósticos asociados se unen de forma covalente, el agente terapéutico o el agente diagnóstico asociados pueden unirse a un grupo químico que se puede funcionalizar. Los ejemplos de grupos funcionalizables incluyen, aunque no de forma limitativa, grupos hidroxilo, amino, carboxi, y amido.

- 45 Los ejemplos de agentes terapéuticos que pueden unirse covalentemente a un constituyente de una composición de la presente invención incluyen polipéptidos y/o proteínas, tales como, aunque no de forma limitativa, GLP-1, insulina, calcitonina, interferón, uricasa, activador del plasminógeno tisular, timoglobina, diversas vacunas, heparina, análogos de heparina, antitrombina III, filgrastina, acetato de pramilitida, exenatida, epifibatida, y antiveninas, factores de coagulación de la sangre incluyendo, aunque no de forma limitativa, Factores VII y VIII, diversas moléculas pequeñas, tales como, por ejemplo, D o L tiroxina o serotonina, ácidos nucleicos, secuencias de ADN o ARN, inmunoglobulinas, tales como, aunque no de forma limitativa, IgG e IgM, y una variedad de anticuerpos monoclonales, tales como, aunque no de forma limitativa, rituximab, trastuzumab, y glicolípidos que actúan como agentes terapéuticos, y además, otras proteínas más grandes, tales como, por ejemplo, hormona del crecimiento humana ("HGH"), eritropoyetina, y hormona paratiroidea.

- 55 Los ejemplos de agentes diagnósticos que pueden unirse covalentemente a un constituyente de una composición de la presente invención incluyen agentes de contraste diagnósticos tales como, aunque no de forma limitativa, oro y

gadolinio. Otros agentes diagnósticos incluyen materiales radioactivos tales como isótopos radioactivos de átomos comunes, incluyendo, aunque no de forma limitativa, ^{13}C , ^{68}Ge , ^{18}F , y ^{125}I . Estos agentes de contraste y radioactivos pueden unirse covalentemente a un constituyente de la composición directamente a través del enlace covalente a un componente lipídico o agente de direccionamiento. De forma alternativa, y cuando sea químicamente adecuado, el agente diagnóstico puede unirse a un ligando tal como DADO (2'-desoxiadenosina), que está unido por sí mismo a un componente lipídico o agente de direccionamiento.

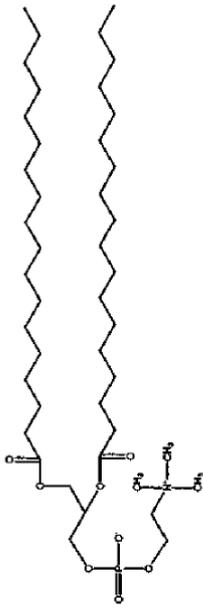
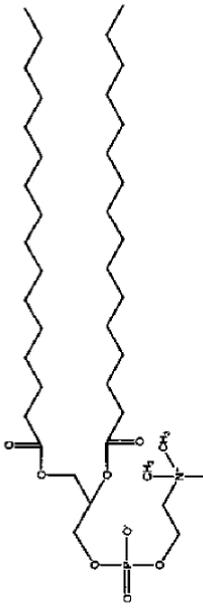
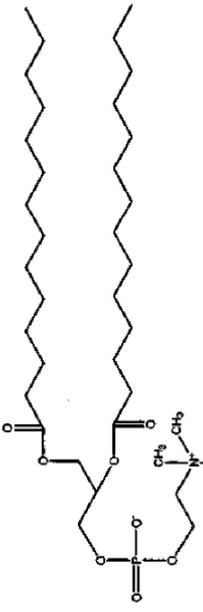
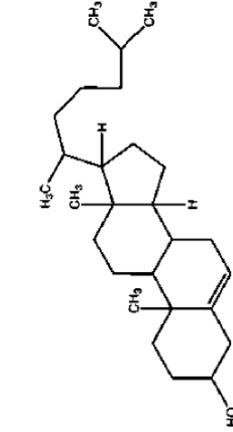
De forma alternativa, y cuando sea químicamente adecuado, un constituyente de una composición de la invención, puede asociarse con los agentes diagnósticos o terapéuticos anteriormente mencionados mediante interacciones no covalentes. Las interacciones no covalentes permiten la compatibilidad de un constituyente de la composición de la presente invención con una amplia variedad de agentes diagnósticos y terapéuticos.

Lípidos

Un constituyente de una composición de la presente invención comprende uno o más componentes lipídicos y un agente de direccionamiento opcional. Una realización que comprende una única unidad o múltiples unidades de un único componente lipídico se denomina en el presente documento "partícula lipídica". Una realización que comprende dos o más componentes lipídicos diferentes y un agente de direccionamiento opcional se clasifica como liposoma o fragmento de liposoma, dependiendo de la naturaleza de la estructura resultante.

Los componentes lipídicos de la presente invención se seleccionan entre el grupo que consiste en 1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfocolina, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina, 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfocolina, colesterol, oleato de colesterol, fosfato de dihexadecilo, 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfato, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfato, 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfato, 1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina-N-(succinilo), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-[fosfo-rac-(1-glicerol)] (sal de sodio), 2,3-diacetoxipropil 2-(5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il) pentanamido)etil fosfato de trietilamonio, MPB-PE y derivados de los mismos. En la Tabla 1 se presentan las estructuras representativas.

Tabla 1

Nombre común	Nombre químico	Estructura
1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfolina	fosfato de 2,3-bis(estearoiloxi)propil 2-(trimetilamonio) etilo	
1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfolina	fosfato de 2,3-bis(palmitoiloxi)propil 2-(trimetilamonio) etilo	
1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfolina	fosfato de 2,3-bis (tetradecanoiloxi) propil 2-(trimetilamonio) etilo	
Colesterol	10,13-dimetil-17-(6-metilheptan-2-il)-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradecahidro-1 H-ciclopenta[<i>a</i>]fenantren-3-ol	

Por medio de ejemplos no limitantes, los constituyentes de una composición de la presente invención pueden estar formados de componentes lipídicos mezclados de acuerdo con los siguiente: aproximadamente 61 moles por ciento de 1,2 diestearoil-sn-glicero-3-fosfolina, aproximadamente 22 moles por ciento de dihexadecil fosfato, y aproximadamente 16 moles por ciento de colesterol. En las realizaciones en las que un constituyente incorpora un agente de direccionamiento, la mezcla anteriormente señalada puede incluir además de aproximadamente 1 a

5 aproximadamente 2 moles por ciento de al menos un agente de direccionamiento, con las cantidades de otros componentes lipídicos reducidas para mantener la relación de componentes que se muestran anteriormente.

En otra realización, una composición de la presente invención puede estar formada de componentes lipídicos mezclados de acuerdo con los siguiente: aproximadamente 68 moles por ciento de 1,2 dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfolina, aproximadamente 18 moles por ciento de dihexadecil fosfato, aproximadamente 9 moles por ciento de colesterol, y aproximadamente 3 por ciento de MPB-PE. En las realizaciones en las que un constituyente incorpora un agente de direccionamiento, la mezcla anteriormente señalada puede incluir además de aproximadamente 1 a

15 aproximadamente 2 moles por ciento de al menos un agente de direccionamiento, con las cantidades de otros componentes lipídicos reducidas para mantener la relación de componentes que se muestran anteriormente.

Preparación

En general, los constituyentes de una composición de la presente invención se forman cuando al menos un componente lipídico y un agente de direccionamiento opcional se homogeneizan en un medio acuoso mediante microfluidización u otros procesos que implican cavitación.

En una realización de la invención, el(los) componente(s) lipídicos y el(los) agente(s) de direccionamiento opcional(es) se pueden homogeneizar en tampón fosfato 18 mM a un pH de aproximadamente 6,0 a un pH de aproximadamente 8,0. La concentración de componentes lipídicos en el tampón fosfato puede variar de aproximadamente 10 a aproximadamente 200 mg/ml y todos y cada uno de los números enteros y no enteros comprendidos en el intervalo. En una realización, la concentración del componente lipídico es de aproximadamente 30 a aproximadamente 150 mg/ml. En una realización preferida, la concentración del componente lipídico es de aproximadamente 15 a aproximadamente 50 mg/ml. En una realización más preferida, la concentración del componente lipídico es de aproximadamente 28-30 mg/ml.

La homogeneización del medio acuoso, el(los) componente(s) lipídico(s) y un agente de direccionamiento opcional puede llevarse a cabo mediante tratamiento en un dispositivo adecuado para la homogeneización. Los ejemplos de dispositivos adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa, un Polytron® System PT 6100, un microfluidizador M-110-EH, un sonicador ultrasónico, un aparato de filtración de membrana de alta presión, y una extrusora homogeneizadora.

En los casos donde se usa un microfluidizador, el microfluidizador se hace funcionar preferentemente a una temperatura que es mayor que la temperatura de transición más alta de un componente lipídico y lo más preferente a una temperatura mayor de aproximadamente 75°C. De esta manera, la elevada temperatura permite a cualesquiera cadenas de acilo y alquilo presentes en el(los) componente(s) lipídico(s) moverse fluidamente así como conformarse a y asociarse con los restos de hidrocarburo vecinos. Estas asociaciones no covalentes dan como resultado directamente la formación de un constituyente de una composición de la presente invención.

Para el proceso de microfluidización, se requieren hasta aproximadamente cinco pases independientes a 9000 psig (62,05 MPa) a fin de conseguir un dimensionamiento dinámico de los constituyentes con algunos constituyentes que poseen radios de menos de 20 nanómetros. En la Figura 9 se muestran los datos del análisis de constituyentes generados por un analizador del tamaño de partículas submicrométricas Coulter N-4 Plus y representan 10 análisis del tamaño repetidos en la misma muestra que permaneció estacionaria en el analizador del tamaño de partículas submicrométricas Coulter N-4 Plus. Estos datos demuestran la naturaleza dinámica del dimensionamiento de los constituyentes y la naturaleza fluida de las interacciones entre los constituyentes de la composición de la presente invención en medio acuoso.

Tras la microfluidización, los constituyentes resultantes pueden filtrarse de forma estéril a través de una membrana cuadrangular Supor™ de 0,8 micrómetros a 0,2 micrómetros.

Durante el proceso de formación de partículas submicrométricas, el enlace de hidrógeno, el enlace iónico, las interacciones de van der Waal, las interacciones dipolares, las interacciones ion-dipolo y las asociaciones hidrófobas dictan la manera en la que los constituyentes de una composición de la presente invención se ensamblan. Sin desear quedar ligado a teoría concreta alguna, se cree que la interacción de todas estas fuerzas, en extensiones variables, en las condiciones señaladas anteriormente, conduce a constituyentes dimensionados dinámicamente de la presente invención.

Incorporación de un agente de direccionamiento

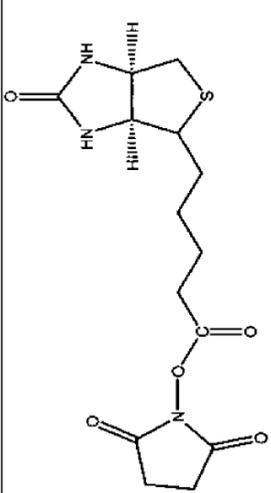
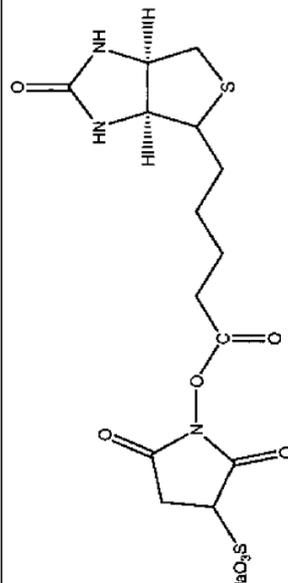
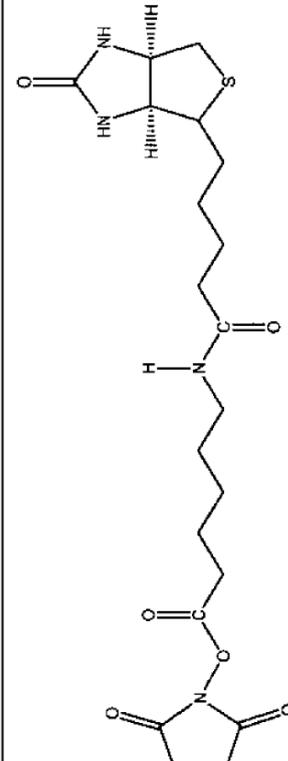
En determinadas realizaciones, un constituyente de la presente invención puede comprender opcionalmente un

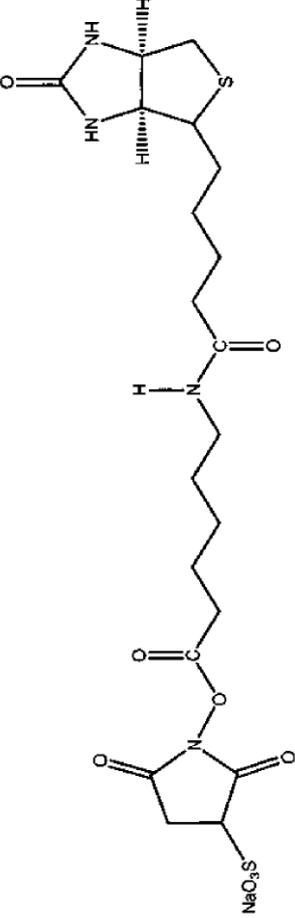
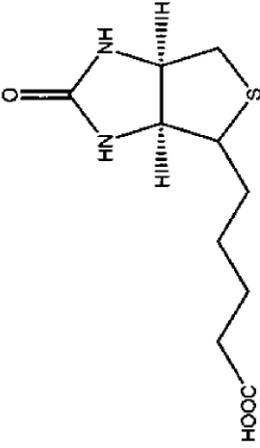
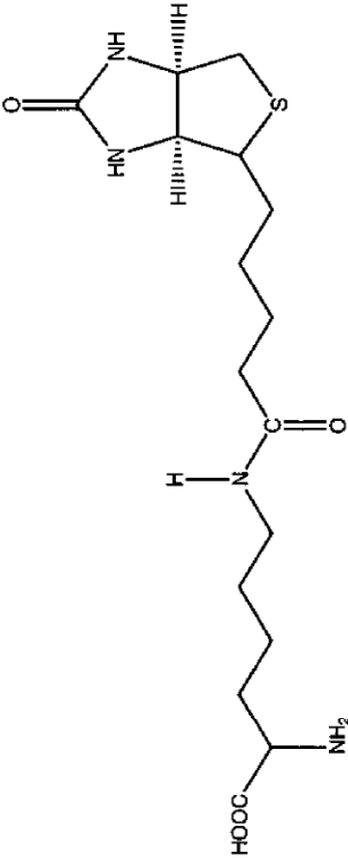
agente de direccionamiento. Los agentes de direccionamiento alteran la biodistribución de un constituyente y potencian además la eficacia de un agente terapéutico asociado. Por ejemplo, un constituyente de una composición de la presente invención puede incorporar uno o más agentes de direccionamiento que actúan para dirigir el constituyente a un receptor celular o extracelular específico. Como alternativa, por medio de un ejemplo no limitante, el agente de direccionamiento puede enmascarar el constituyente del reconocimiento reticuloendotelial (macrófago).

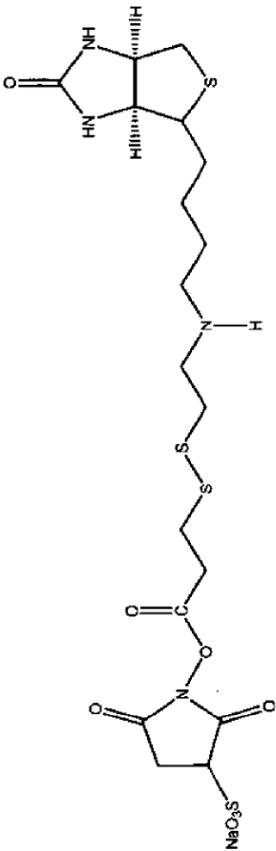
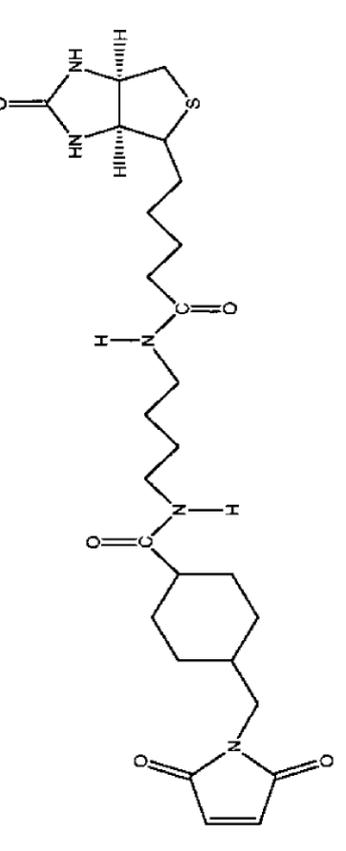
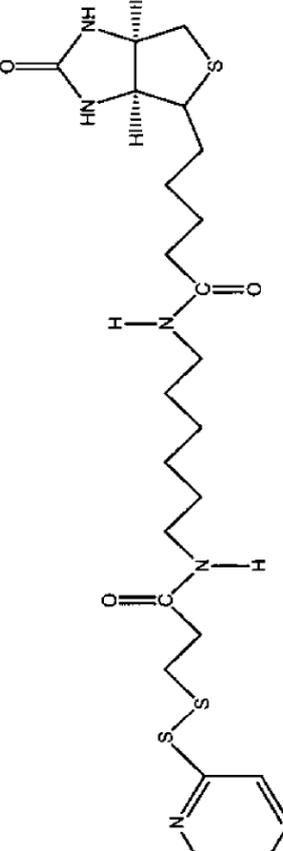
En una realización, un agente de direccionamiento facilita la administración de insulina al hígado para controlar el almacenamiento de glicógeno postprandial y abarca una clase de moléculas denominada "molécula objetivo de hepatocitos" (HTM). Los ejemplos de HTM incluyen agentes de direccionamiento derivados de hepatocitos tales como 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina-N-(biotinilo) y agentes de direccionamiento derivados de metales tales como poli[Cr-bis(ácido N-2,6-diisopropilfenilcarbamoilmetil iminodiacético)]. Los agentes de direccionamiento derivados de metales y los agentes de direccionamiento derivados de biotina se describen a continuación y se describen completamente en las patentes de Estados Unidos 7.169.410 y 4.603.044; la solicitud PCT/US06/19119; y las solicitudes de Patente de Estados Unidos 11/384.728 y 11/384.659. En la Tabla 2 se divulgan ejemplos adicionales de agentes de direccionamiento derivados de biotina.

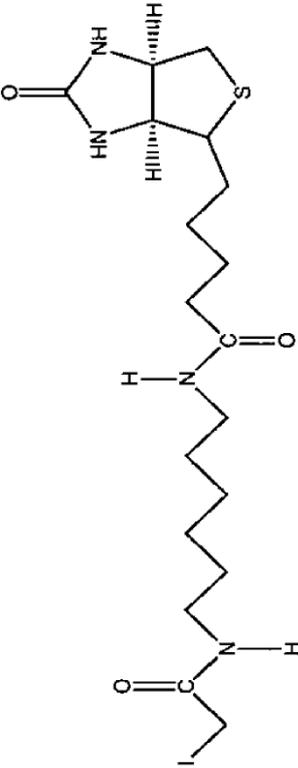
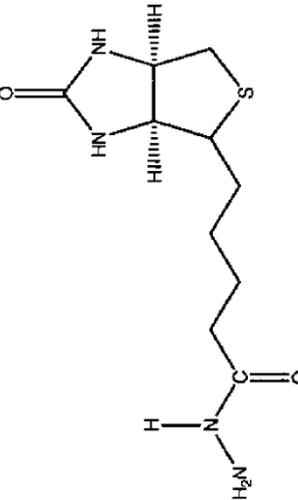
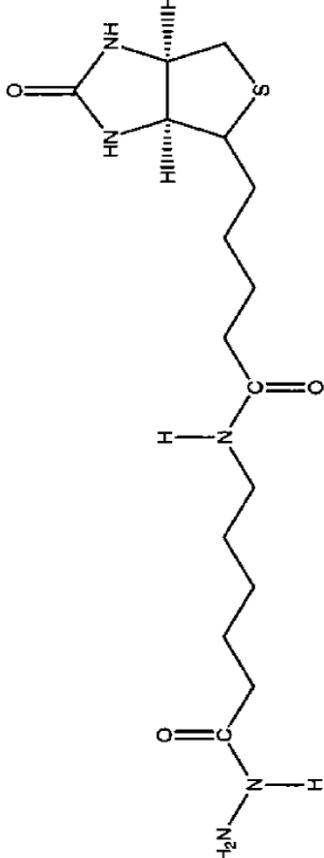
Cuando el agente de direccionamiento comprende de biotina, iminobiotina, carboxibiotina, biocitina, o iminobiocitina, las moléculas de biotina, iminobiotina, carboxibiotina, biocitina, o iminobiocitina pueden unirse mediante un enlace amida al nitrógeno de una molécula de fosfolípido tal como 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina. Los compuestos pueden igualmente unirse a una molécula tal como colesterol a través de un enlace éster. En el caso de biocitina e iminobiocitina, los compuestos pueden unirse a la benzoil tioacetil triglicina mediante un enlace amida entre el nitrógeno terminal de la iminobiocitina y el carbonilo terminal de la benzoil tioacetil triglicina. Son posibles las conectividades de enlaces alternativos para aquellos descritos anteriormente y se consideran que está, comprendidas en el alcance de la presente invención.

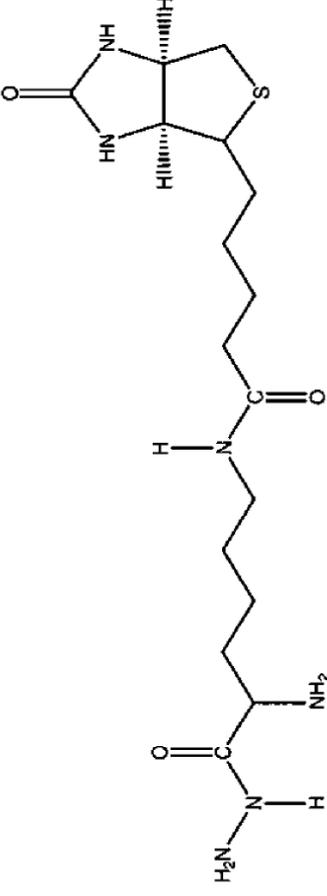
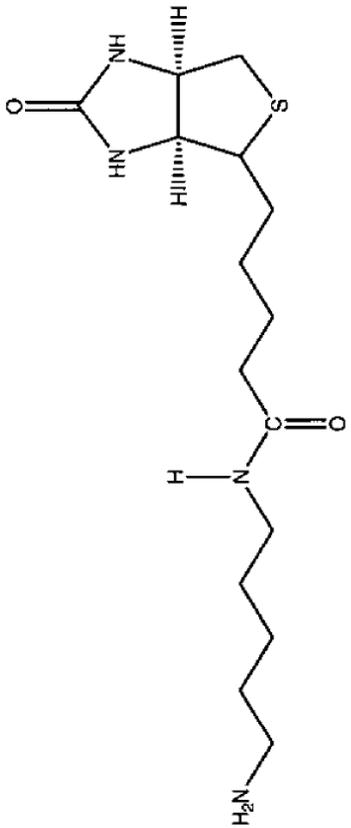
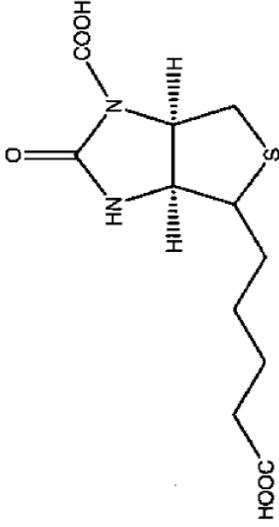
Tabla 2

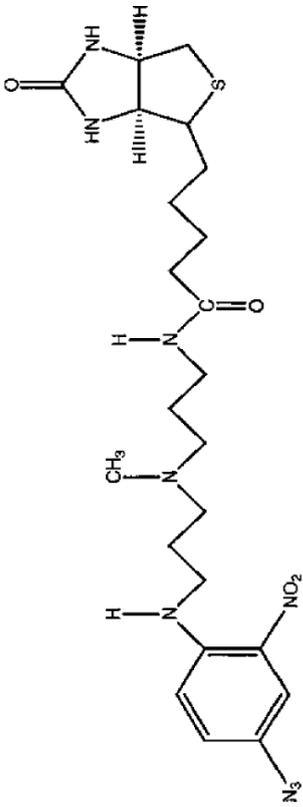
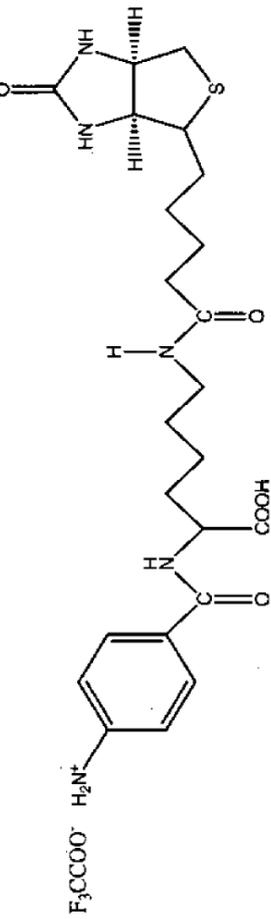
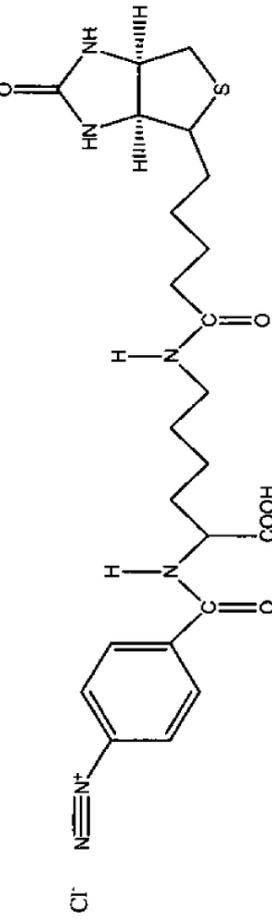
<p>1</p> <p>2,5-dioxopirrolidin-1-il 5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il) pentanoato de N-hidroxisuccinimida (NHS) biotina</p>	
<p>2</p> <p>2,5-dioxo-3-(trioxidantilitio)pirrolidin-1-il 5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il) pentanoato sulfato-NHS-biotina de sodio</p>	
<p>3</p> <p>2,5-dioxopirrolidin-1-il 6-(5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il) pentanamido) hexanoato de N-hidroxisuccinimida biotina de cadena larga</p>	

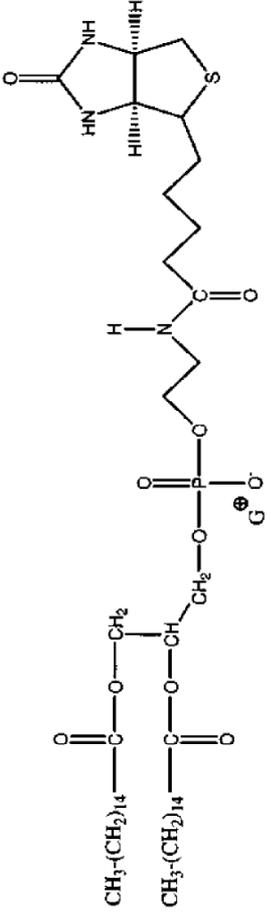
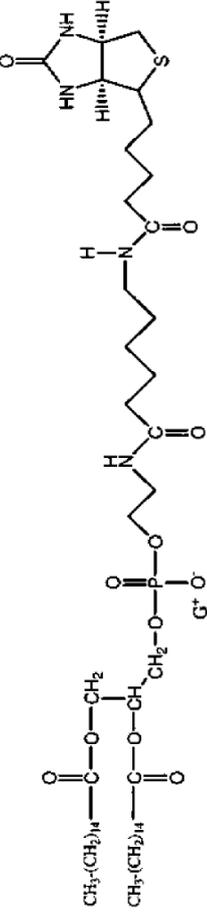
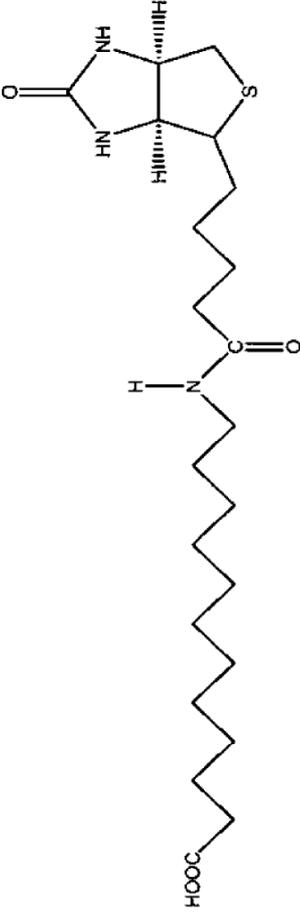
4	<p>2,5-dioxo-3-(trioxidamilito) pirrolidin-1-il 6-(5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il)pentanamido) hexanoato de sulfato-N-hidroxisuccinimida biotina de sodio de cadena larga</p>	
5	<p>ácido D-biotina 5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il) pentanoico</p>	
6	<p>ácido biocitina 2-amino-6-(5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno [3,4-d]imidazol-4-il) pentanamido) hexanoico</p>	

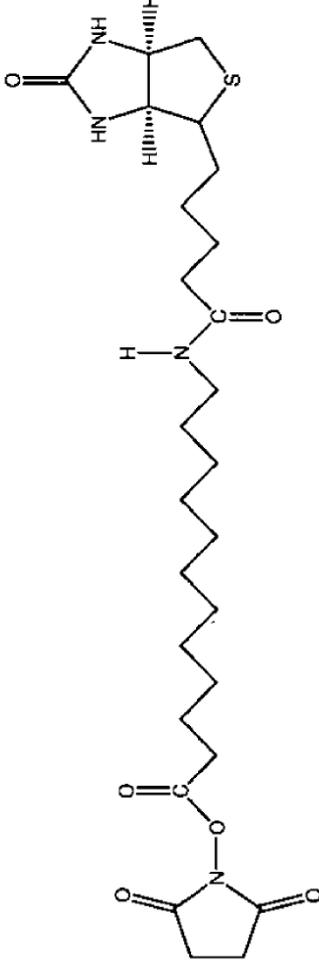
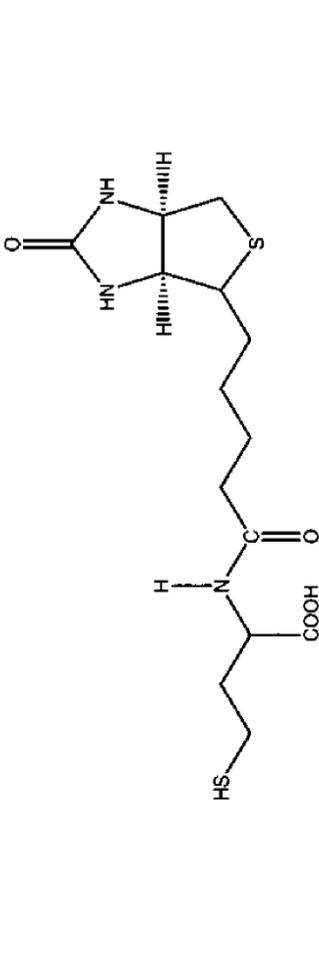
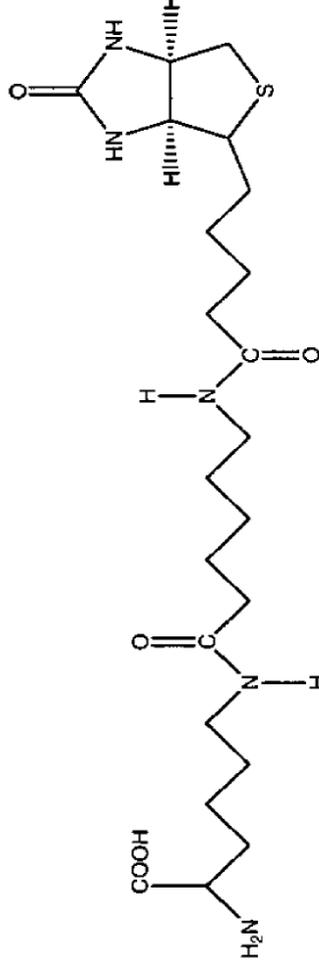
7	<p>2,5-dioxo-3-(trioxidantilito) pirrolidin-1-il 3-((2-(4- ((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d] imidazol-4- il)butilamino) etil)disulfanil)propanoato de sulfato de sodio hidroxisuccinimida-S-S-biotina de sodio</p>	
8	<p>biotin-BMCC 4-((2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il) metil)-N-(4-(5- ((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il) pentanamido)butil) ciclohexanocarboxamida</p>	
9	<p>biotin-HPDP 5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1 H-tieno [3,4-d] imidazol- 4-il)-N-(6-(3-(piridin-2-ildisulfanil) propanamido)hexil)pentanamida</p>	

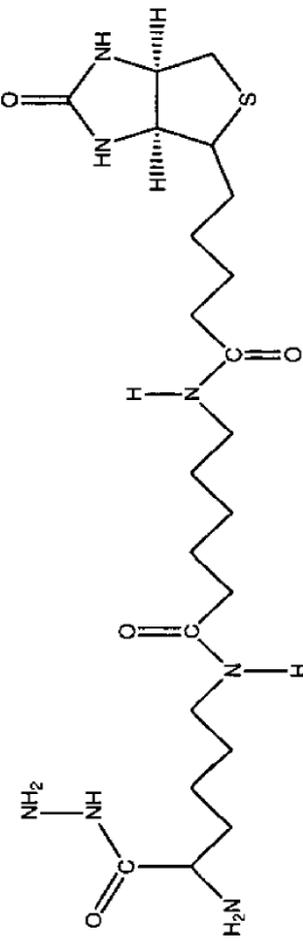
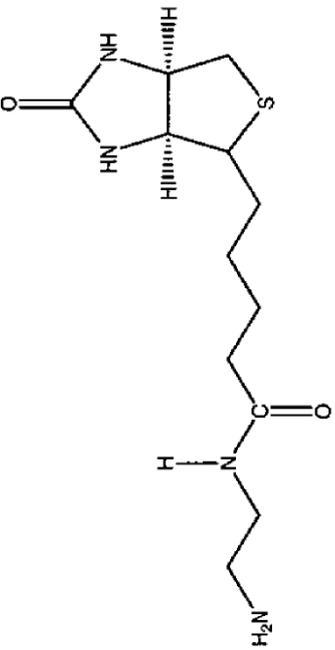
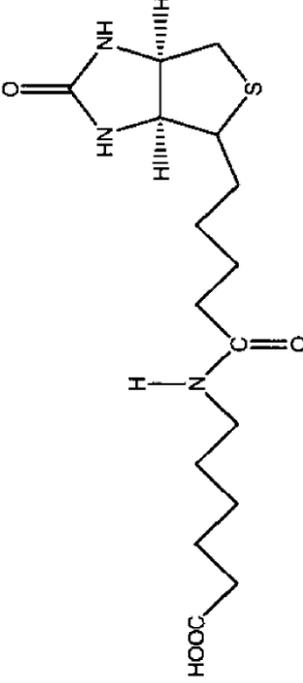
<p>10</p> <p>yodoacetil-LC-biotina N-(6-(2-yodoacetamido)hexil)-5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il)pentanamida</p>	
<p>11</p> <p>biotin-hidrazida 5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il)pentanohidrazida</p>	
<p>12</p> <p>biotin-LC-hidrazida N-(6-hidrazinil-6-oxohexil)-5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il)pentanamida</p>	

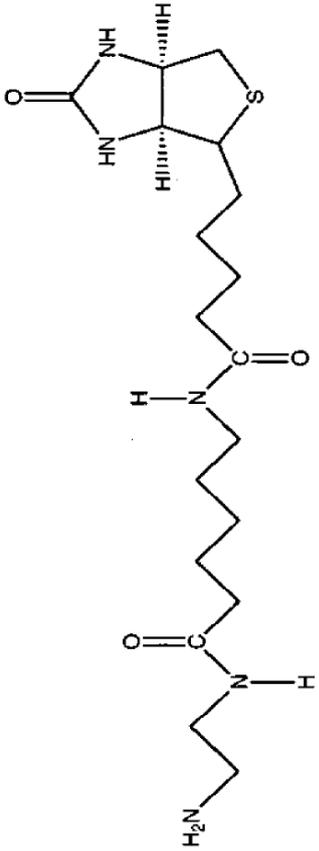
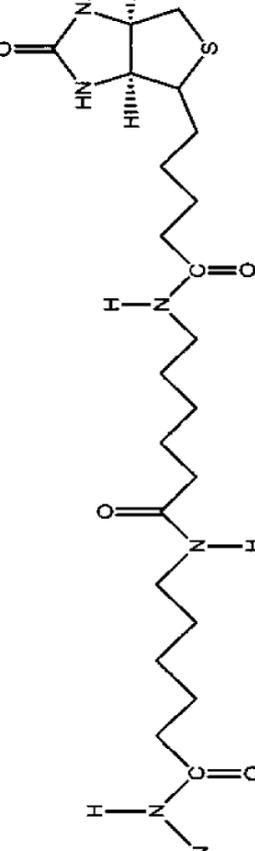
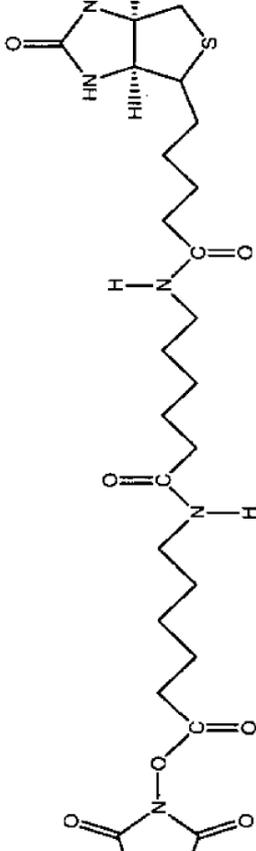
13	<p>biotina hidrazida N-(5-amino-6-hidrazinil-6-oxohexil)-5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il)pentanamida</p>	 <p>The structure shows a biotin core (a fused bicyclic system with a five-membered imidazole ring and a six-membered tetrahydrothiophene ring) attached to a pentanamide chain. The terminal amide group is replaced by a hydrazide group (-NH-NH2).</p>
14	<p>biotina cadaverina N-(5-aminopentil)-5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il) pentanamida</p>	 <p>The structure shows a biotin core attached to a pentanamide chain. The terminal amide group is replaced by a primary amine group (-NH2).</p>
15	<p>ácido carboxibiotina (3aS,6aR)-4-(4-carboxibutil)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-1-carboxílico</p>	 <p>The structure shows a biotin core with two carboxylic acid groups (-COOH) attached to the nitrogen atoms of the imidazole ring.</p>

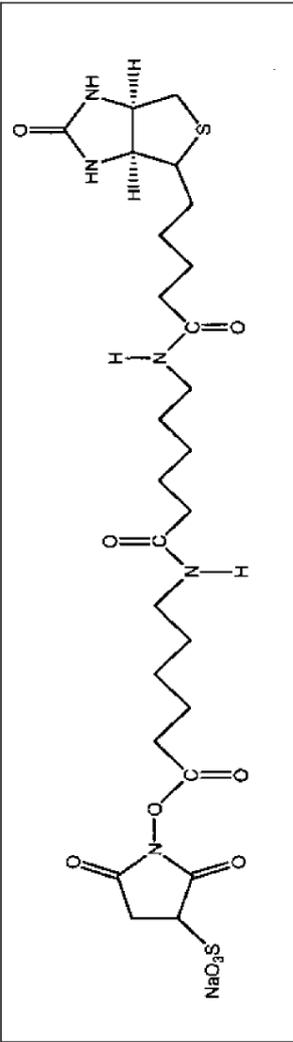
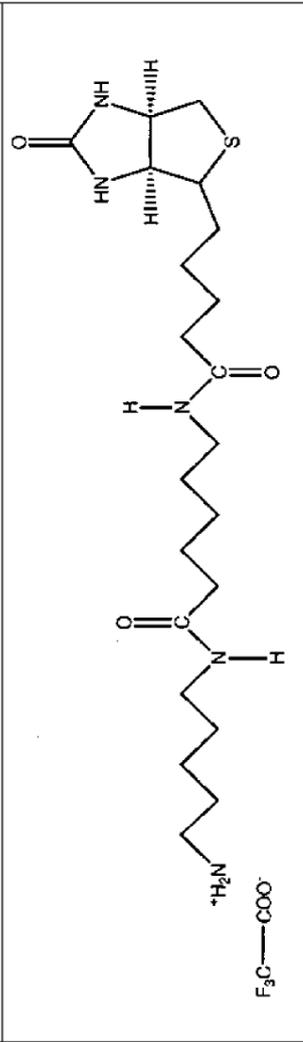
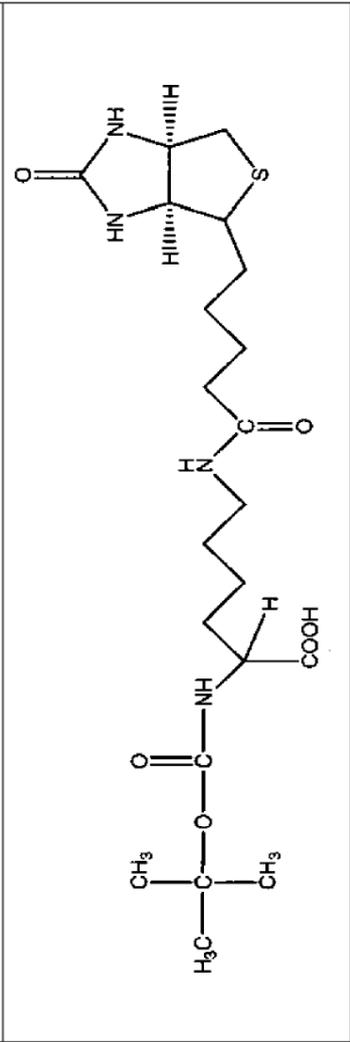
<p>16</p> <p>Fotobiotina N-(3-(3-(4-azido-2-nitrofenilamino)propil)(metil)amino)propil)-5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il)pentanamida</p>	
<p>17</p> <p>2,2,2-trifluoroacetato p-aminobenzoil biocitina trifluoroacetato del ácido 2-(4-aminobenzamido)-6-(5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il)pentanamido)hexanoico</p>	
<p>18</p> <p>p-diazobenzoil biocitina cloruro de 4-(1-carboxi-5-(5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il)pentanamido) pentilcarbamoi) bencenodiazonio</p>	

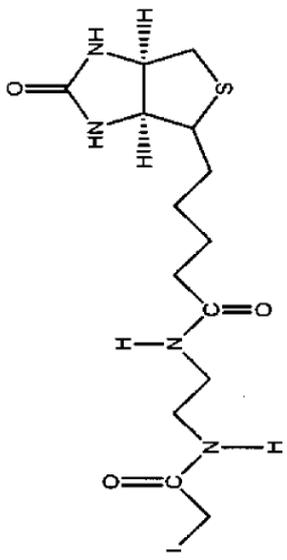
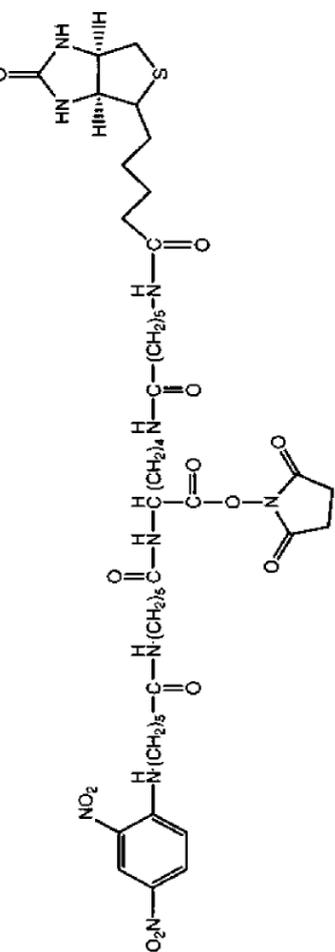
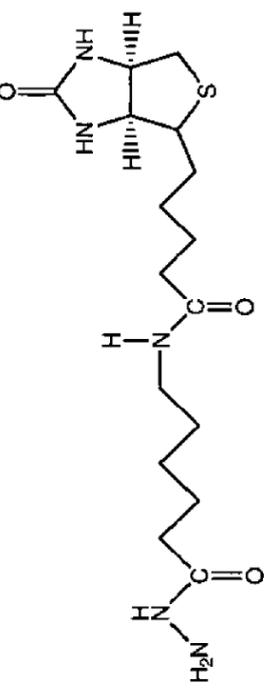
<p>19</p> <p>biotina DHPE $G^+ = Li^+, Na^+, K^+, (Et_3NH)^+$ fosfato de 2,3-diacetoxipropil 2-(5-(3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il) pentanamido)etilo</p>	
<p>20</p> <p>biotina-X-DHPE $G^+ = Li^+, Na^+, K^+, (Et_3NH)^+$ fosfato de 2,3-diacetoxipropil 2-(6-(5-(3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il) pentanamido)hexanamido)etilo</p>	
<p>21</p> <p>ácido 12-(biotinil)amino)dodecanoico ácido 12-(5-(3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il) pentanamido) dodecanoico</p>	

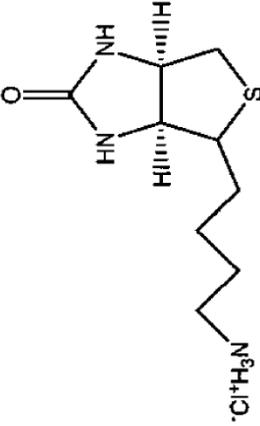
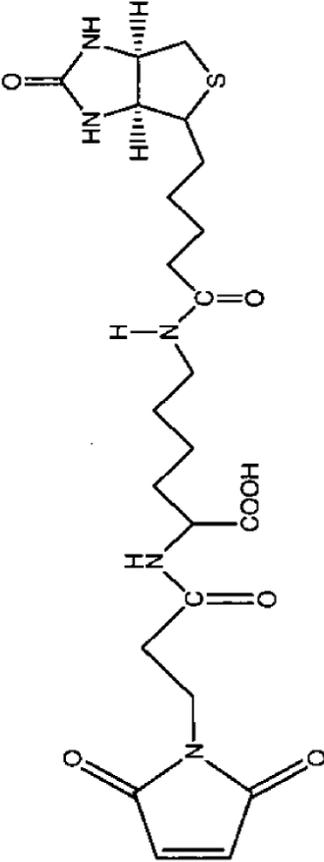
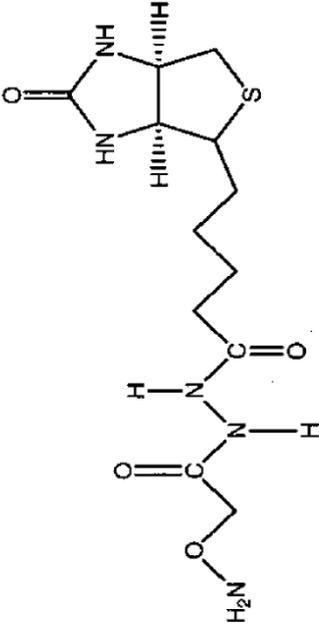
22	<p>succinimidil éster del ácido 12-((biotinil)amino)dodecanoico 12-(5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il)pentanamido)dodecanoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo</p>	
23	<p>S-biotinil homocisteína del ácido 4-mercapto-2-(5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il) pentanamido) butanoico</p>	
24	<p>biocitina-X ácido 2-amino-6-(6-(5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno [3,4-d]imidazol-4-il)pentanamido) hexanamido) hexanoico</p>	

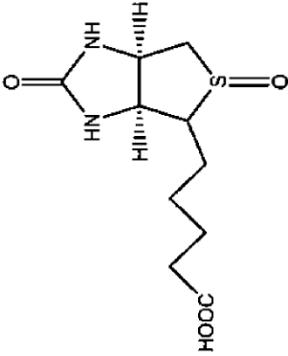
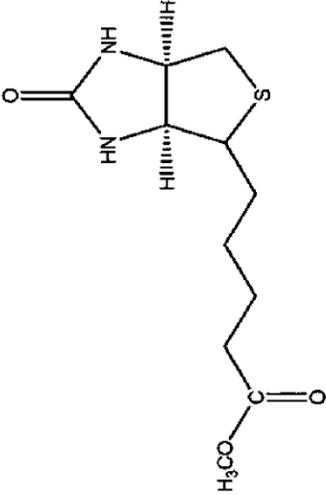
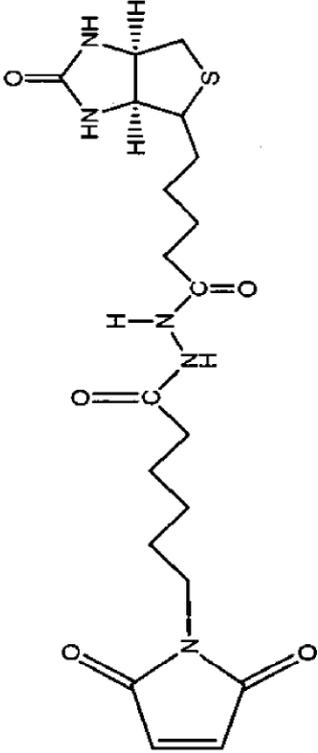
25	<p>biocitina x-hidrazida N-(5-amino-6-hidrazinil-6-oxohexil)-6-(5-((3aS, 6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il) pentanamido) hexanamida</p>	
26	<p>Biotinilendiamina N-(2-aminoetil)-5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il)pentanamida</p>	
27	<p>biotina-X ácido 6-(5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il)pentanamido) hexanoico</p>	

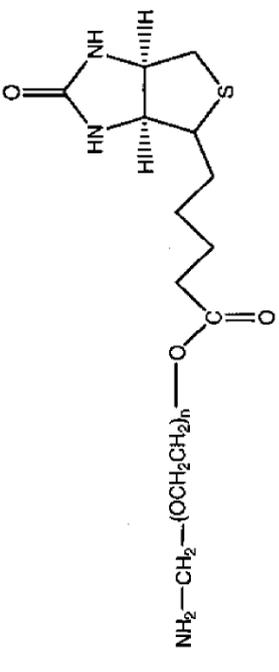
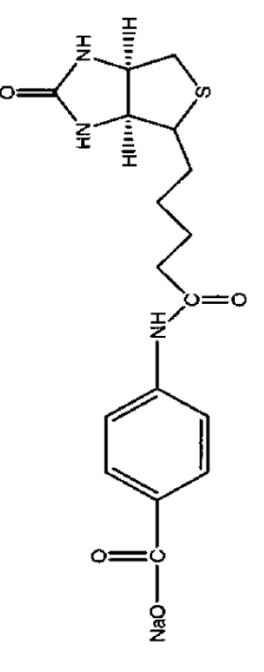
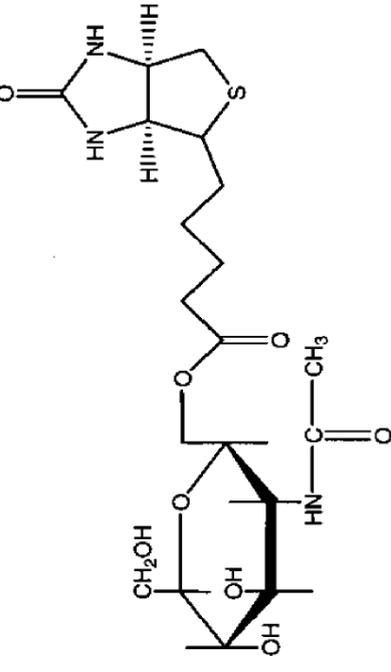
28	<p>biotina-X-etilendiamina N-(2-aminoetil)-6-(5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il) pentanamido) hexanamida</p>	
29	<p>biotina-XX hidrazida N-(6-hidrazinil-6-oxohexil)-6-(5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il)pentanamido)hexanamida</p>	
30	<p>biotina-XX-SE 6-(6-(5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il) pentanamido)hexanamido) hexanoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo</p>	

<p>31</p> <p>biotina-XX, SSE 2,5-dioxo-1-(6-(6-(5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il)pentanamido)hexanoiloxi)pirrolidina-3-sulfonato de sodio</p>	
<p>32</p> <p>biotina-X-cadaverina 2,2,2-trifluoroacetato de 5-(6-(5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il)pentanamido)hexanamido)pentan-1-amino</p>	
<p>33</p> <p>α-(t-BOC)biotina ácido 2-(terc-butoxicarbonilamino)-6-(5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il)pentanamido)hexanoico</p>	

<p>34 N-(biotinil)-N'-(yodoacetil)etilendiamina N-(2-(2-yodoacetamido)etil)-5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il)pentanamida</p>	
<p>35 DNP-X-biocitin-X-SE 2-(6-(6-(2,4-dinitrofenilamino) hexanamido)hexanamido)-6-(6-(5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il) pentanamido)hexanamido) hexanoato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo</p>	
<p>36 biotina-X-hidrazida N-(6-hidrazinil-6-oxohexil)-5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il)pentanamida</p>	

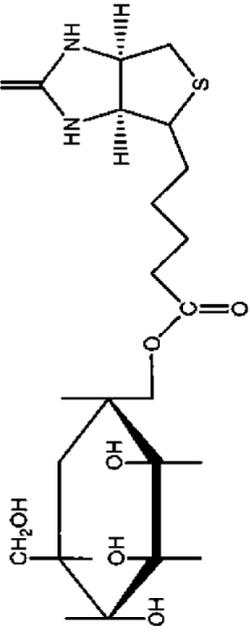
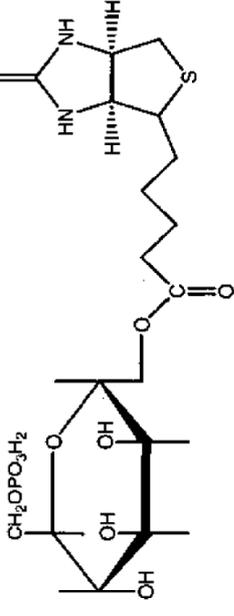
<p>37</p> <p>clorhidrato de norbiotinamina cloruro de 4-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il) butan-1-amínio</p>	
<p>38</p> <p>3-(N-maleimidopropionil) biocitina ácido 2-(3-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)propanamido)-6-(5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il) pentanamido)hexanoico</p>	
<p>39</p> <p>ARP; N-(2-(aminooxi)acetil)-5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il)pentanohidrazida</p>	

<p>40</p> <p>biotin-1-sulfóxido sulfóxido del ácido 5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il) pentanoico</p>	
<p>41</p> <p>éster metílico de biotina 5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il)pentanoato de metilo</p>	
<p>42</p> <p>biotin-maleimida 6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-N'-(5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il) pentanoil) hexanohidrazida</p>	

<p>43</p> <p>5-((3a<i>S</i>,6a<i>R</i>)-2-oxohexahidro-1<i>H</i>-tieno[3,4-<i>dj</i>imidazol-4-<i>il</i>) pentanoato de biotin-poli(etilenglicol) amina aminometil polietileno</p>	 <p>The structure shows a biotin core (a fused bicyclic system with a five-membered imidazole ring and a six-membered tetrahydrothiophene ring) attached to a pentanoic acid chain. The terminal carboxylic acid group is converted to an ester with a polyethylene glycol (PEG) chain, which is terminated with an aminomethyl group (-CH₂-NH₂).</p>
<p>44</p> <p>sal sódica del ácido (+) biotin 4-amidobenzoico 4-(5-((3a<i>S</i>,6a<i>R</i>)-2-oxohexahidro-1<i>H</i>-tieno [3,4-<i>dj</i>imidazol-4-<i>il</i>) pentanamido) benzoato de sodio</p>	 <p>The structure shows the biotin core attached to a pentanoic acid chain. The terminal carboxylic acid group is in its sodium salt form (-COO⁻Na⁺). The other end of the pentanoic chain is linked via an amide bond (-NH-) to a benzene ring, which is further substituted with another carboxylic acid group (-COOH).</p>
<p>45</p> <p>2-N-acetilamino-2-desoxi-β-D-glucopiranosido de biotina 5-((3a<i>S</i>,6a<i>R</i>)-2-oxohexahidro-1<i>H</i>-tieno[3,4-<i>dj</i>imidazol-4-<i>il</i>) pentanoato de ((2<i>R</i>,5<i>S</i>)-3-acetamido-4,5-dihidroxi-6-(hidroximetil)-2,3,4,5,6-pentametiltetrahidro-2<i>H</i>-piran-2-<i>il</i>)metilo</p>	 <p>The structure shows the biotin core attached to a pentanoic acid chain. The terminal carboxylic acid group is in its ester form, linked to a 2-N-acetyl-2-deoxy-beta-D-glucopyranosyl group. The glucose ring is substituted with a hydroxymethyl group (-CH₂OH) and a methyl group (-CH₃).</p>

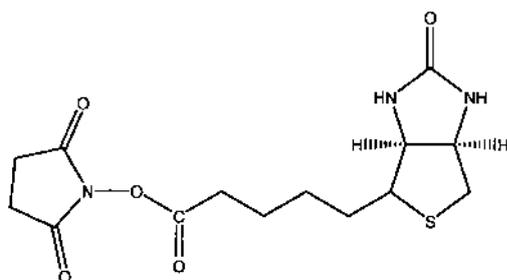
<p>46</p> <p>biotin-α-D-N-acetilneuraminida ácido (2S,5R)-5-acetamido-4-hidroxi-3,3,4,5,6-pentametil-2-((5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il) pentanoiloxi)metil)-6-(1,2,3-trihidroxi)propil) tetrahidro-2H-piran-2-carboxílico</p>	
<p>47</p> <p>Biotin-α-L-fucosida 5-((3aS, 6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il) pentanoato de ((2R,5S)-3,4,5-trihidroxi-2,3,4,5,6,6-hexametiltetrahidro-2H-piran-2-il)metilo</p>	
<p>48</p> <p>Biotina lacto-N-biosida Véase el final de la tabla para la nomenclatura</p>	

<p>49</p>	<p>biotin-Lewis-trisacárido A Véase el final de la tabla para la nomenclatura</p>	
<p>50</p>	<p>biotin-Lewis-tetrasacárido Y Véase el final de la tabla para la nomenclatura</p>	

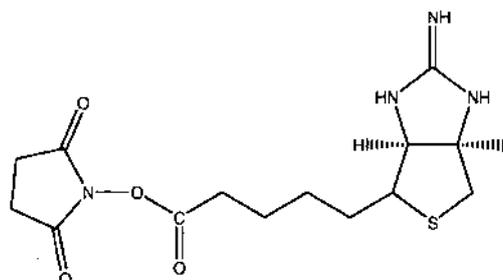
<p>51</p>	<p>biotin-α-D-mannopiranosido 5-((3aS, 6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4- il) pentanoato de ((1R,4R)-2,3,4-trihidroxi-5-(hidroximetil)- 1,2,3,4,5-pentametilciclohexil)metilo</p>	
<p>52</p>	<p>biotina 6-O-fosfo-α-D-mannopiranosido 5-((3aS, 6aR)-2-oxohexahidro-1 H-tieno[3,4-d]imidazol-4- il) pentanoato de ((2R,5S)-3,4,5-trihidroxi-2,3,4,5,6- pentametil-6-(fosfonooximetil)tetrahidro-2H-piran-2-il) metilo</p>	

Nombres de los compuestos 48-50:

- 5 48. 5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il)pentanoato de (2R, 5S)-3-acetamido-5-hidroxi-6-(hidroximetil)-2,3,4,6-tetrametil-4-(((2S,5R)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)-2,3,4,5,6-pentametil-tetrahidro-2H-piran-2-il)metoxi)metil) tetrahidro-2H-piran-2-il)metilo
- 10 49. pentanoato de (2R,3R,5S)-5-(((2S,3S,5S)-3-acetamido-5-hidroxi-6-(hidroximetil)-2,4,6-trimetil-4-(((2S,5R)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)-2,3,4,5,6-pentametil-tetrahidro-2H-piran-2-il)metoxi) metil)tetrahidro-2H-piran-2-il)metoxi)metil)-3,4-dihidroxi-2,4,5,6,6-pentametil-tetrahidro-2H-piran-2-il)-5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-ilo)
- 15 50. pentanoato de (2S,5S)-3-acetamido-4-(((2R,5S)-5-(((2R,5S)-4,5-dihidroxi-6-(hidroximetil)-2,3,4,5,6-pentametil-3-(((2S,5S)-3,4,5-trihidroxi-2,3,4,5,6,6-hexametil-tetrahidro-2H-piran-2-il)metoxi)metil)tetrahidro-2H-piran-2-il)metoxi) metil)-3,4-dihidroxi-2,3,4,5,6,6-hexametil-tetrahidro-2H-piran-2-il)metoxi)metil)-5-hidroxi-6-(hidroximetil)-2,3,4,5,6-pentametil-tetrahidro-2H-piran-2-il)-5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-ilo)
- 20 Las estructuras de los compuestos de iminobiotina no se muestran en la Tabla 2. Sin embargo, las estructuras de iminobiotina son análogas a la estructura de biotina cuando el grupo biotina está sustituido por un grupo iminobiotina. Se muestra un ejemplo a continuación.



N-hidroxisuccinimida biotina



N-hidroxisuccinimida iminobiotina

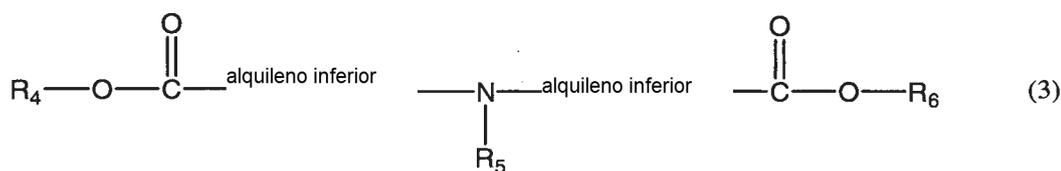
- 25 En una realización de la invención, los agentes de direccionamiento derivados de metales pueden ser poliméricos o monoméricos. Los agentes de direccionamiento poliméricos derivados de metales se describen completamente en el documento U.S. 7.169.410. Los agentes de direccionamiento monoméricos derivados de metales se describen en el documento U.S. 4.603.044. Ya sean poliméricos o monoméricos, los compuestos comprenden generalmente un metal (adquirido normalmente como una sal inorgánica) que se puede seleccionar de los metales de transición y los metales de transición internos vecinos a los metales de transición. Los metales de transición y los metales de transición internos a partir de los cuales se selecciona el metal incluyen: Sc (escandio), Y (itrio), La (lantano), Ac (actinio), la serie de los actínidos; Ti (titanio), Zr (circonio), Hf (hafnio), V (vanadio), Nb (niobio), Ta (tántalo), Cr (cromo), Mo (molibdeno), W (tungsteno), Mn (manganeso), Tc (tecnecio), Re (renio), Fe (hierro), Co (cobalto), Ni (níquel), Ru (rutenio), Rh (rodio), Pd (paladio), Os (osmio), Ir (iridio), y Pt (platino). Los vecinos de los metales de transición a partir de los cuales se selecciona el metal son: Cu (cobre), Ag (plata), Au (oro), Zn (cinc), Cd (cadmio), Hg (mercurio), Al (aluminio), Ga (galio), In (indio), Tl (talio), Ge (germanio), Sn (estaño), Pb (plomo), Sb (antimonio) y Bi (bismuto), y Po (polonio). Preferentemente, el metal es cromo.

- 40 Los ejemplos no limitantes de sales útiles incluyen cloruro de cromo (III) hexahidratado; fluoruro de cromo (III) tetrahidratado; bromuro de cromo (III) hexahidratado; complejo de citrato de circonio (IV) amonio; cloruro de circonio (IV); fluoruro de circonio (IV) hidratado; yoduro de circonio (IV); bromuro de molibdeno (III); cloruro de molibdeno (III); sulfuro de molibdeno (IV); hierro (III) hidratado; fosfato de hierro (III) tetrahidratado, sulfato de hierro (III) pentahidratado, y similares.

- 45 Además de un metal, el agente derivado de metal comprende uno o más agentes complejantes. Un agente complejante es un compuesto capaz de formar un compuesto de coordinación insoluble en agua con el metal preferido. Existen algunas familias de agentes complejantes adecuados.

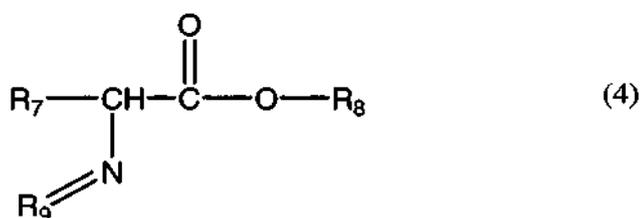
- 50 Se puede seleccionar un agente complejante entre la familia de ácidos imidoacéticos de fórmula (1) en la que R₁ es alquilo inferior, arilo, alquilarilo inferior, o un sustituyente heterocíclico.

alquilo inferior, arilo, alquilarilo inferior, alquilalcoxi inferior, y heterocíclico.



5 Los compuestos adecuados de fórmula 3) incluyen: ácido N'-(2-acetilnaftilo) iminodiacético (NAIDA); ácido N'-(2-naftilmetil) iminodiacético (NMIDA); iminodicarboximetil-2-naftilcetona ftaleina complexona; 3 (3: 7a: 12a: ácido trihidroxi-24-norcholesterol anil-23-iminodiacético; ácido benzimidazol metil iminodiacético; y ácido N-(5, pregneno-3- α -ol-20-one carbamoilmetil) iminodiacético.

10 El agente complejante puede seleccionarse también entre la familia de aminoácidos de fórmula (4),

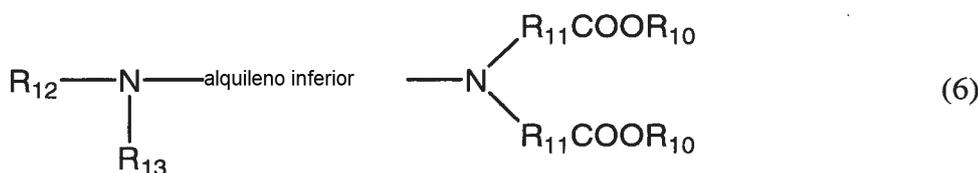


15 donde R₇ es una cadena secundaria de aminoácido; en la que R₈ puede ser un alquilo inferior, arilo y alquilarilo inferior; y en la que R₉ es piridoxilideno.

Los aminoácidos de fórmula (4) adecuados son aminoácidos alifáticos, incluyendo, aunque no de forma limitativa: glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina; hidroxiaminoácidos, incluyendo serina, y treonina; aminoácidos dicarboxílicos y sus amidas, incluyendo ácido aspártico, asparagina, ácido glutámico, glutamina; aminoácidos que tienen funciones básicas, incluyendo lisina, hidroxilisina, histidina, arginina; aminoácidos aromáticos, incluyendo fenilalanina, tirosina, triptófano, tiroxina; y aminoácidos que contienen azufre, incluyendo cistina y metionina.

25 El agente complejante puede seleccionarse también entre derivados de aminoácidos que incluyen, aunque no de forma limitativa ácidos (3-aminopropiónico y -butírico), O-diazoacetilserina (azaserina), homoserina, ornitina, citrulina, penicilamina y miembros de la clase de compuestos de piridoxilideno. Los compuestos de piridoxilideno incluyen, aunque no de forma limitativa: piridoxilideno glutamato; piridoxilideno isoleucina; piridoxilideno fenilalanina; piridoxilideno triptófano; piridoxilideno-5-metil triptófano; piridoxilideno-5-hidroxitriptamina; y piridoxilideno-5-butiltriptamina.

30 El agente complejante puede seleccionarse también entre la familia de diaminas de fórmula (6):



35 en la que R₁₀ es hidrógeno, alquilo inferior, o arilo; R₁₁ es alquileo inferior o alquilarilo inferior; R₁₂ y R₁₃ se seleccionan de forma independiente en cada incidencia y pueden ser hidrógeno, alquilo inferior, alquilo, arilo, alquilarilo inferior, acilo heterocíclico, tolueno, sulfonilo o tosilato.

Los ejemplos de diaminas de fórmula (6) adecuadas incluyen, aunque no de forma limitativa, ácido etilendiamina-N,N diacético; acetato de etilendiamina-N,N-bis (-2-hidroxi-5-bromofenilo); ácido N'-acetiletildiamina-N,N diacético; ácido N'-benzoil etilendiamina-N,N diacético; ácido N'-(p-toluensulfonil) etilendiamina-N,N diacético; ácido N'-(p-t-butilbenzoil) etilendiamina-N,N diacético; ácido N'-(bencenosulfonil) etilendiamina-N,N diacético; ácido N'-(p-clorobencenosulfonil) etilendiamina-N,N diacético; ácido N'-(p-etilbencenosulfonil) etilendiamina-N,N diacético; ácido N'-acil y N'-sulfonil etilendiamina-N,N diacético; ácido N'-(p-n-propilbencenosulfonil) etilendiamina-N,N diacético; ácido N'-(naftaleno-2-sulfonil) etilendiamina-N,N diacético; y ácido N'-(2, 5-dimetilbencenosulfonil) etilendiamina-N,N diacético.

Otros ejemplos no limitantes de compuestos o agentes complejantes incluyen penicilamina; ácido p-

mercaptoisobutírico; ácido dihidrotiósico; 6-mercaptopurina; cetoxal-bis(tiosemicarbazona); aminocomplejos hepatobiliares, 1-hidrazinofalazina (hidralazina); sulfonil urea; Complejos hepatobiliares de aminoácidos de bases de Schiff; piridoxilideno glutamato; piridoxilideno isoleucina; piridoxilideno fenilalanina; piridoxilideno triptófano; piridoxilideno 5-metil triptófano; piridoxilideno-5-hidroxitriptamina; piridoxilideno-5-butiltriptamina; tetraciclina; 7-carboxi-p-hidroxiquinolina; fenolftaleína; eosina I azulada; eosina I amarillenta; verografin; ácido 3-hidroxi-4-formilpirideno glutámico; ácidos iminodiacético azosustituido; complejos de colorantes hepatobiliares, tales como rosa bengala; rojo congo; bromosulfoftaleína; azul de bromofenol; azul de toluidina; e indocianina verde; agentes de contraste hepatobiliares, tales como yodipamida; y ácido yoglicámico; sales biliares, tales como bilirrubina; colgiciliodohistamina; y tiroxina; tiocomplejos hepatobiliares, tales como penicilamina; ácido p-mercaptoisobutírico; ácido dihidrotiósico; 6-mercaptopurina; y cetoxal-bis (tiosemicarbazona); aminocomplejos hepatobiliares, tales como 1-hidrazinofalazina (hidralazina); y sulfonilurea; complejos hepatobiliares de aminoácidos de bases de Schiff, incluyendo piridoxilideno-5-hidroxitriptamina; y piridoxilideno-5-butiltriptamina; complejos de proteínas hepatobiliares, tales como protamina; ferritina; y asialo-orosomucoide; y asialocomplejos, tales como albúmina lactosaminada; inmunoglobulinas, G, IgG; y hemoglobina.

Adición de agentes terapéuticos

Como se ha indicado anteriormente, en determinadas realizaciones, uno o más agentes terapéuticos pueden estar asociados con un constituyente de una composición de la presente invención. Los ejemplos de agentes terapéuticos incluyen, aunque no de forma limitativa, insulina, interferón, rituximab, trastuzumab, uricasa, activador del plasminógeno tisular, timoglobina, diversas vacunas, heparina, análogos de heparina, antitrombina III, filgrastina, acetato de pramilitida, exanatida, epifibatida, antiveninas, IgG, IgM, factores de coagulación sanguínea VII y VIII, HGH, GLP-1, eritropoyetina, hormona paratiroidea, serotonina, D o L tiroxina, calcitonina, anticuerpos monoclonales, así como otros péptidos terapéuticos.

En determinadas realizaciones, un agente terapéutico tal como insulina está asociado con un constituyente de una composición de la presente invención. En una realización, se consigue la asociación mediante la adición de una solución de insulina de baja molaridad en una suspensión acuosa de constituyentes. En esta realización, el número de moléculas lipídicas implicadas en el ensamblaje de los constituyentes sobrepasa de lejos el número de moléculas de insulina entrelazadas y/o combinadas bien sobre o dentro de las matrices de los constituyentes. Esta relación alta de constituyentes a insulina minimiza las interacciones moleculares entre la insulina y los constituyentes, garantizando que no se perturban los procesos de autoensamblaje y autoorganización de los constituyentes de la composición de la presente invención. Esta relación alta facilita la formación de una asociación estable de constituyente/insulina.

Sin desear quedar ligados a teoría concreta alguna, se cree que la cantidad de agente(s) terapéutico(s) asociada con un constituyente de la composición de la presente invención parece ser una función del tiempo de carga y la concentración lipídica. A medida que aumenta la concentración del componente lipídico en medio acuoso, los agentes terapéuticos adicionales se asocian con un constituyente de una composición de la presente invención. El tiempo requerido para cargar el agente terapéutico puede ser en cualquier caso de algunas horas a aproximadamente una semana.

La baja concentración de agente terapéutico con respecto a la concentración de los constituyentes de la composición de la presente invención es única entre los sistemas de administración de partículas lipídicas. Normalmente, los liposomas o los sistemas de administración de tipo liposomas han empleado una cantidad mucho más grande de agente terapéutico. La eficacia de esta realización de la presente combinación muestra que es posible utilizar menos agente terapéutico mientras se sigue obteniendo un resultado farmacológicamente deseable en el paciente. Esta realización de la invención proporciona por tanto una opción terapéutica ventajosa.

En otras realizaciones, la adición de una concentración mayor de agente terapéutico puede ser deseable y ventajoso. Los miembros constituyentes de una composición de la presente invención son capaces de asociarse con, y tolerar, soluciones con molaridades superiores de cualquier agente terapéutico dado.

Un ejemplo diagramático de una realización de un constituyente de una composición de la presente invención se representa en la Figura 1. La Figura 1 ilustra una construcción de constituyente/HTM/insulina. Las moléculas de insulina se unen a la superficie del constituyente mediante interacciones electrostáticas no covalentes.

Serotonina, como la insulina, puede también administrarse al hígado utilizando un complejo de constituyente/HTM de acuerdo con la invención. Serotonina actúa junto con insulina al nivel del hígado para activar el almacenamiento de la glucosa hepática durante una carga de glucosa portal (oral). A fin de conseguir el efecto deseado, la serotonina debe administrarse al hígado. La serotonina no dirigida, introducida mediante inyección o administración oral en dosis farmacológicamente aceptables no puede inducir eficazmente la actividad deseada. Por lo tanto, una realización de la invención que comprende una construcción de constituyente/HTM/serotonina proporciona un mecanismo de administración muy deseable para esta importante hormona glucorreguladora. En una realización de la invención diseñada para la administración de serotonina, los componentes lipídicos seleccionados para formar los constituyentes de la composición incluyen aproximadamente 62 moles por ciento, 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-

fosfocolina, aproximadamente 22 moles por ciento de dihexadecil fosfato, aproximadamente 16 moles por ciento de colesterol y aproximadamente 1 mol por ciento de un agente de direccionamiento.

5 Calcitonina es una hormona que regula el metabolismo óseo. Debido a la alta prevalencia de enfermedades tales como osteoporosis, es muy deseable una formulación oral de esta hormona. Actualmente, la calcitonina es solo administrable mediante inyección. En una realización de la invención diseñada para la administración de calcitonina, los componentes lipídicos seleccionados para formar los constituyentes de la composición incluyendo calcitonina incluyen aproximadamente 62 moles por ciento, 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina, aproximadamente 22 moles por ciento de dihexadecil fosfato, y aproximadamente 16 moles por ciento de colesterol.

10 GLP-1 es un péptido que actúa en el hígado y el páncreas. En el hígado, GLP-1 actúa para estimular la acumulación de glicógeno durante una comida. Sin embargo, los métodos de administración de la técnica anterior donde GLP-1 se administra por vía oral evidencian una mala disponibilidad y una reducida eficacia tras la dosificación oral. En una realización de la presente invención, GLP-1 se asocia con un constituyente de una composición de la invención para formar una construcción de constituyente/GLP-1. La construcción de constituyente/GLP-1 puede incluir además un agente de direccionamiento. Preferentemente, los componentes lipídicos seleccionados para formar los constituyentes de la composición que incluyen GLP-1 incluyen aproximadamente 62 moles por ciento de 1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfocolina, aproximadamente 22 moles por ciento de dihexadecil fosfato, y aproximadamente 16 moles por ciento de colesterol.

20 Tiroxina, como la insulina, no está también generalmente biodisponible. En una realización de la invención, aunque tiroxina puede asociarse con un constituyente de una composición de la invención formando una construcción de constituyente/tiroxina. Preferentemente, los componentes lipídicos seleccionados para formar los constituyentes de la composición incluyendo tiroxina incluyen aproximadamente 62 moles por ciento de 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina, aproximadamente 22 moles por ciento de dihexadecil fosfato, aproximadamente 16 moles por ciento de colesterol, y aproximadamente 1 mol por ciento de Biotina DHPE.

25 Aunque se ha descrito la invención en términos de construcciones de agentes terapéutico/constituyentes específicos, cualquiera de los agentes terapéuticos descritos en el presente documento puede asociarse con un constituyente de la invención para formar una construcción de agente terapéutico/constituyente.

30 Agentes terapéuticos unidos covalentemente

35 En determinadas realizaciones de la invención, el agente terapéutico puede unirse covalentemente a un componente lipídico de la invención. Normalmente, sin embargo, el enlace covalente del agente terapéutico con el componente lipídico no es directo, pero está mediado por un enlazador de la forma $-C(O)(CH_2)_nSR$, en el que se forma un enlace amida, éster, o tiamida entre el agente terapéutico y el enlazador. Preferentemente, n es un entero entre 1 y 10. Incluso más preferentemente, n es 1, 2 o 3. Cuando el enlazador está unido al agente terapéutico, R es normalmente un grupo protector tal como $-C(O)CH_3$. Se pueden encontrar otros grupos protectores de tiol adecuados en Green's Protective Groups in Organic Synthesis, Wuts, et al., 4ª edición, 2007.

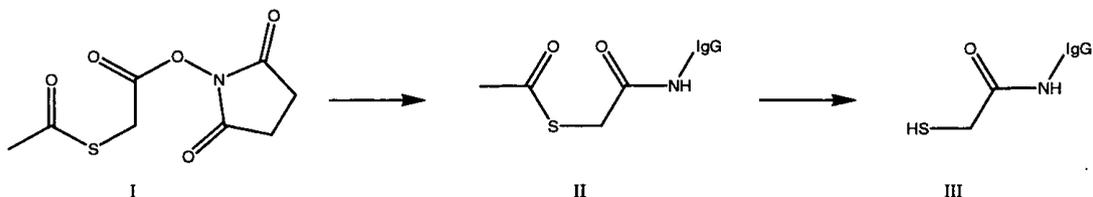
45 Después que el enlazador se une al agente terapéutico, el grupo protector, R, se elimina del enlazador para desvelar un grupo tiol libre. Preferentemente, el grupo protector se elimina en condiciones que no perturban el agente terapéutico unido ahora. Este tiol puede experimentar a continuación una reacción de Michael con un componente lipídico tal como MPB-PE para formar un tioéter. Preferentemente, el componente lipídico MPB-PE se incorpora ya en un constituyente de un compuesto de la invención, sin embargo, el enlazador puede unirse al MPB-PE antes de su incorporación a un constituyente de la invención. El orden de las reacciones dependerá de la capacidad del agente terapéutico de tolerar determinadas condiciones de reacción. En el caso de proteínas complejas que pueden desnaturalizarse a altas temperaturas, es preferible llevar a cabo la reacción de Michael después que se ha incorporado MPB-PE en un constituyente del compuesto de la invención.

50 En un ejemplo de una interacción covalente, IgG se unió covalentemente a un componente lipídico de un constituyente de la invención para formar una construcción de constituyente/IgG. IgG es un anticuerpo que no está normalmente biodisponible por vía oral. En esta realización de la invención, los componentes lipídicos seleccionados para formar los constituyentes de la construcción de constituyente/IgG incluyen aproximadamente 68 moles por ciento de 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina, aproximadamente 18 moles por ciento de dihexadecil fosfato, aproximadamente 9 moles por ciento de colesterol, y aproximadamente 3 moles por ciento de MPB-PE.

60 A fin de formar los constituyentes de la invención, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina, dihexadecil fosfato, y colesterol se microfluidizaron como se muestra inicialmente en el presente documento para formar constituyentes con un límite de tamaño superior de entre 50 y 60 nanómetros. Esta suspensión de constituyentes se transfirió a continuación a un matraz de fondo redondeado que se había revestido con una película delgada de MPB-PE. La suspensión se calentó a aproximadamente 62 °C, sin que la temperatura disminuyera por debajo de 60 °C o excediera de 65 °C. la suspensión calentada se agitó posteriormente durante 15 minutos hasta que todo el MPBPE se había incorporado en los constituyentes de la invención.

Por separado, IgG se hizo reaccionar en un exceso de 10 veces del precursor enlazador I ($R=CH_3C(O)$, $n=1$), a continuación, para formar II. A continuación se purificó el compuesto II utilizando una columna Sephadex G-25 de 2,5 x 25 cm equilibrada con tampón fosfato 18 mM más tampón EDTA 1,0 mM a pH 7,4.

- 5 A continuación, se eliminó el grupo protector de acetilo en el compuesto II agitando el compuesto 11 con clorhidrato de hidroxilamina 50 mM en tampón fosfato de sodio 18 mM que contenía EDTA 1,0 mM (pH 7,4) durante 2 horas a temperatura ambiente. El tiol libre resultante, III, se purificó en una columna Sephadex G-25 de 2,5 x 25 cm, como se muestra para el compuesto II.



10

15

Inmediatamente después de la purificación, se mezclaron 200 μ -moles del compuesto III con 10 ml de la solución de constituyente preparada inicialmente. La mezcla de reacción se agitó durante 15 minutos, momento en el cual, el compuesto III experimentó una reacción de Michael con la funcionalidad maleimida del MBP-PE incorporada en los constituyentes de la invención. La reacción de conjugación se detuvo, y se eliminó el III en exceso, mediante la adición de un exceso 50x molar de N-etilmaleimida.

20

Aunque el ejemplo anterior se describió con respecto a IgG, es igualmente aplicable a cualquier agente terapéutico con un nitrógeno básico o grupo hidroxilo libre, u otro grupo funcionalizable, capaz de unirse al enlazador o precursor de enlazador.

Estabilidad

25

Aunque los miembros constituyentes de una composición de la presente invención se formulan en medio acuoso, los miembros constituyentes de la composición no presentan estabilidad a largo plazo en agua. Específicamente, el agua ayuda a la hidrólisis de cualesquiera cadenas de acilo presentes en los componentes lipídicos de los constituyentes de la composición. El entorno acuoso permite la oxidación rápida de cualquier cadena de acilo insaturada presente en cualquiera de los componentes lipídicos. En una realización preferida de la presente invención, los constituyentes de la composición de la presente invención pueden protegerse para el almacenamiento a largo plazo mediante la interacción con un proteoglicano como un colágeno modificado, conocido generalmente como gelatina granulada seca. La gelatina granulada seca, cuando se pone en contacto con una suspensión acuosa de constituyentes, reacciona con agua, estabiliza los constituyentes y forma una composición de la presente invención.

30

35

La reacción de la gelatina granulada seca con una suspensión acuosa de constituyentes de una composición de la presente invención da como resultado un gel coloidal semisólido que protege a los constituyentes de la interacción directa con agua. Cualquier agua no asociada con gelatina se evapora lentamente mediante almacenamiento refrigerado a aproximadamente 2° a aproximadamente 8° C. El agua puede, sin embargo, eliminarse mediante técnicas que incluyen, aunque no de forma limitativa, aunque no de forma limitativa, criodesecación y secado mediante pulverización.

40

45

Esto da como resultado un aglomerado de complejo de constituyente/gelatina seco que es la composición de la invención. En la composición, los elementos constituyentes se deshidratan parcialmente de una manera reversible y se secuestran por la red proteínica de la gelatina seca. Este secuestro es permitido por el agua estructurada, el lípido estructurado y la gelatina estructurada interactuando todos a través del enlace de hidrógeno, el enlace iónico, las interacciones de van der Waal, y el enlace hidrófobo entre los componentes lipídicos, el agua, y las estructuras de la proteína, es decir, la insulina. esto evidencia que la gelatina no está actuando como un agente emulsionante o de suspensión. Como resultado, el aglomerado "seco" es estable durante el almacenamiento a largo plazo debido a que se ha mitigado la actividad del agua. Estos aglomerados pueden procesarse adicionalmente hasta un granulado o un polvo de flujo libre para el relleno o de la cápsula final o la compresión para formar comprimidos, manteniendo a la vez su estabilidad.

50

55

Tras la administración oral a un paciente, el aglomerado "seco" se vuelve a hidratar y una vez de nuevo asume un estado de gel coloidal semisólido. Tras la exposición adicional al entorno gástrico, el gel se vuelve líquido ya que la gelatina se solubiliza. Una vez que la gelatina se solubiliza completamente, los miembros constituyentes de la composición de la invención se rehidratan, dando como resultado la formación de una nueva suspensión de constituyentes en el entorno gástrico. Los constituyentes reconstituidos pueden a continuación absorberse en el flujo de sangre portal.

60

es importante comprender que el papel de la gelatina que el papel de la gelatina en este aspecto de la invención es

como un estabilizador activo de la composición y no como una carga inerte como se encuentra comúnmente en las formulaciones orales de otras muchas composiciones farmacéuticas. Dicho esto, se contempla también el uso adicional de gelatina como una carga inerte además del uso anteriormente mencionado.

5 Aunque la gelatina se usa en una realización preferida de la invención, se pueden usar otros compuestos similares a gelatina. Los ejemplos de agentes que actuarán como estabilizadores activos incluyen, aunque no de forma limitativa, acacia (goma arábiga), agar (agar-agar; gelatina vegetal; gelosa; gelatina china o japonesa), ácido alginico, alginato de sodio (ácido alginico; sal sódica; algina; Manucol; Norgina; Kelgin), carbómero (carboxipolimetileno), carragenato, carboximetilcelulosa de sodio (carbosa D; carboximetocel S; CMC; goma de
10 celulosa), celulosa en polvo (Degussa), hidroxietil celulosa (celulosa; 2-hidroxietil éter; Cellosize; Natrosol), hidroxipropilcelulosa (celulosa; 2-hidroxipropil éter; Klucel), hidroxipropil metilcelulosa (celulosa; 2-hidroxipropil metil éter), metilcelulosa (celulosa; metil éter Metocel), povidona (2-pirrolidinona; 1-etenil-; homopolímero; polivinilpirrolidona), tragacanto (goma tragacanto; goma Hog; Goat's Thorn), y goma xantana (Keltrol). Igual que la gelatina, y cuando es adecuado, estos compuestos pueden utilizarse como cargas inertes.

15 Formulaciones

Puede prepararse una formulación de una composición de la invención y un agente terapéutico (con o sin el agente de direccionamiento) - a partir de ahora en el presente documento "composición" para la administración oral,
20 envasarse, o adquirirse en la forma de una unidad de dosis sólida diferenciada incluyendo, aunque no de forma limitativa, un comprimido, una cápsula dura o blanda, un sello, una pastilla para chupar, o una pastilla, conteniendo cada una cantidad predeterminada del principio activo. Otras formulaciones adecuadas para la administración oral incluyen, aunque no de forma limitativa, una formulación en polvo o granular, suspensiones acuosas, o emulsiones.

25 Un comprimido que comprende la composición de la presente invención, por ejemplo, preparado comprimiendo o moldeando la composición opcionalmente con uno o más ingredientes adicionales. Los comprimidos prensados pueden prepararse comprimiendo, en un dispositivo adecuado, la composición en una forma de flujo libre tal como un polvo o una preparación granular, mezclada opcionalmente con uno o más de un aglutinante, un lubricante, un excipiente, un agente tensioactivo, y un agente dispersante. Los comprimidos moldeados pueden prepararse
30 moldeando, en un dispositivo adecuado, la composición, un transportador farmacéuticamente aceptable, y al menos líquido suficiente para humedecer la mezcla.

Los excipientes farmacéuticamente aceptables utilizados en la fabricación de comprimidos incluyen, aunque no de forma limitativa, diluyentes inertes, agentes de granulación y disgregación, agentes de unión, y agentes lubricantes.
35 Los agentes dispersantes conocidos incluyen, aunque no de forma limitativa, almidón de patata y almidón glicolato de sodio. Los agentes tensioactivos conocidos incluyen, aunque no de forma limitativa, lauril sulfato de sodio. Los diluyentes conocidos incluyen, aunque no de forma limitativa, carbonato de calcio, carbonato sódico, lactosa, celulosa microcristalina, fosfato de calcio, hidrogenofosfato de calcio, y fosfato sódico. Los agentes de granulación y disgregantes conocidos incluyen, aunque no de forma limitativa, almidón de maíz y ácido alginico. Los agentes de
40 unión conocidos incluyen, aunque no de forma limitativa, gelatina, acacia, almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona, e hidroxipropilmetilcelulosa. Los agentes lubricantes conocidos incluyen, aunque no de forma limitativa, estearato de magnesio, ácido esteárico, sílice, y talco.

Los comprimidos pueden no revestirse o pueden estar revestidos utilizando métodos conocidos para conseguir la
45 desintegración retrasada en el tracto gastrointestinal de un sujeto, proporcionando por tanto la liberación y la absorción sostenidas de la composición. A modo de ejemplo, se puede usar un material tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo para revestir comprimidos. Además, a modo de ejemplo, los comprimidos pueden revestirse utilizando los métodos descritos en las patentes de Estados Unidos números 4.256.108; 4.160.452; y 4.265.874 para formar comprimidos de liberación osmóticamente controlada. Los comprimidos pueden comprender
50 además un agente edulcorante, un agente aromatizante, un agente colorante, un conservante, o alguna combinación de estos, a fin de proporcionar una preparación farmacéuticamente elegante y sabrosa.

Las cápsulas duras que comprenden la composición pueden prepararse utilizando una composición fisiológicamente
degradable, tal como gelatina. Dichas cápsulas duras comprenden el principio activo, y comprenden además
55 ingredientes adicionales que incluyen, por ejemplo, un diluyente sólido inerte tal como carbonato de calcio, fosfato de calcio, caolín o hidrogenofosfato acetato de celulosa.

Las cápsulas de gelatina dura que comprenden la composición pueden prepararse utilizando una composición
60 fisiológicamente degradable, tal como gelatina.

Pueden prepararse, envasarse, y adquirirse formulaciones líquidas de la composición que son adecuadas para la
administración oral, tanto en forma sólida como en forma de un producto seco previsto para reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes del uso, sujeto a las limitaciones de estabilidad divulgadas inicialmente.

65 pueden prepararse suspensiones líquidas utilizando métodos convencionales para conseguir la suspensión de los constituyentes en un vehículo acuoso. Los vehículos acuosos incluyen, por ejemplo, agua y solución salina isotónica.

Los vehículos oleosos se pueden usar solo en la extensión que dichos disolventes no son incompatibles con los constituyentes de la composición de la presente invención. En la extensión en que una suspensión oleosa no sea incompatible con los constituyentes de la composición de la presente invención, una suspensión oleosa puede comprender además un agente espesante.

5 Las suspensiones líquidas pueden comprender además uno o más ingredientes adicionales en la extensión en que dichos ingredientes no perturban las estructuras de los constituyentes de la invención. Los ejemplos de ingredientes adicionales incluyen, aunque no de forma limitativa, agentes suspensores, agentes dispersantes o humectantes, agentes emulsionantes, emolientes, conservantes, tampones, sales, aromatizantes, agentes colorantes, y agentes edulcorantes.

10 Los agentes suspensores conocidos incluyen, aunque no de forma limitativa, jarabe de sorbitol, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto, goma acacia, y derivados de celulosa tales como carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa.

15 Los agentes emulsionantes conocidos incluyen, aunque no de forma limitativa acacia. Los conservantes conocidos incluyen, aunque no de forma limitativa, metilo, etilo, o n-propil-para-hidroxibenzoatos, ácido ascórbico, y ácido sórbico. Los agentes edulcorantes conocidos incluyen, por ejemplo, glicerol, propilenglicol, sorbitol, sacarosa, y sacarina.

20 Las formulaciones en polvo y granulares de una preparación farmacéutica de la invención puede prepararse utilizando métodos conocidos. Dichas formulaciones pueden administrarse directamente a un sujeto, utilizarse, por ejemplo, para formar comprimidos, para rellenar cápsulas, o para preparar una suspensión o solución acuosa mediante adición de un vehículo acuoso a la anterior. Cada una de estas formulaciones puede comprender además uno o más agentes dispersantes o humectantes, un agente de suspensión, y un conservante. Pueden incluirse también excipientes adicionales, tales como cargas y edulcorantes, agentes aromatizantes o colorantes, en estas formulaciones.

30 Métodos de tratar enfermedades

Enfermedades, tales como diabetes, pueden tratarse mediante la administración oral de un compuesto de la invención en la que la insulina es el agente terapéutico asociado. De manera similar, la diabetes puede tratarse administrando por vía oral un compuesto de la invención es el agente terapéutico asociado y en el que se coadministra otra forma de insulina. Rutas de coadministración incluyen, aunque no de forma limitativa, la administración oral, inyección intramuscular, inhalación, inyección intravenosa, inyección intraarterial, así como cualquier otra forma de administración.

40 Aunque un médico será capaz de seleccionar la dosis adecuada para un paciente dado, el intervalo de dosis que se puede administrar en una formulación dada de un compuesto de la invención es de aproximadamente 1 a aproximadamente 40 unidades, pero puede ser de 5, 10, 15, 20, 25, 30, o 35 unidades. Una formulación dada puede, sin embargo, contener cualquier entero completo o parcial incluido en el intervalo y puede exceder de 40 unidades.

45 Kits

La invención incluye también un kit que comprende una composición de la invención y un material de formación que describe la administración de la composición a un mamífero. En otra realización, este kit comprende una composición de la invención, insulina para coadministración, así como material de formación que describe el proceso de coadministración.

50 Como se usa en el presente documento, un "material de formación" incluye una publicación, un registro, un diagrama, o cualquier otro medio de expresión que se puede usar para comunicar la utilidad de la composición de la invención en el kit para llevar a cabo el alivio de las diversas enfermedades o trastornos enumerados en el presente documento.

55 Opcional, o alternativamente, el material de formación puede describir uno o más métodos de aliviar las enfermedades o trastornos en una célula o un tejido de un mamífero. el material de formación del kit puede, por ejemplo, prefijarse a un recipiente que contiene la invención o enviarse junto con un recipiente que contiene la invención. Como alternativa, el material de instrucción puede enviarse por separado desde el recipiente con la intención de que el material de formación del compuesto se utilicen cooperativamente por el receptor.

60 Ejemplos experimentales

La invención se describe ahora en referencia a los siguientes ejemplos.

65

Experimento 1 - Administración de composiciones que no contienen un agente de direccionamiento

Una composición cuyos miembros constituyentes se crearon a partir de una mezcla de componentes lipídicos que comprendía aproximadamente 62 moles por ciento de 1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfolina, aproximadamente 22 moles por ciento de dihexadecil fosfato, aproximadamente 16 moles por ciento de colesterol, y no se preparó agente de direccionamiento de acuerdo con el procedimiento de microfluidización generalmente descrito en el presente documento. Una porción conocida del componente lipídico comprendía fosfolípido marcado con ^{14}C . Tras la filtración a través de un filtro de membrana de 0,2 micrómetros, el tamaño del constituyente promedio fue menor de 100 nm, como se midió con un analizador del tamaño de partículas submicrométricas Coulter.

Una muestra de 10 mg/kg de peso corporal de la composición (que contenía 85.000 cpm de radiomarca de ^{14}C) se inyectó a continuación en el duodeno de una rata en ayuno anestesiada de 230 que por otra parte era completamente normal. Se extrajo sangre de las venas porta y femoral a los 15 y 30 minutos después de la dosificación para el recuento (Figura 2). A los 30 minutos después de la dosificación, se sacrificó la rata y se retiraron muestras representativas de sangre, hígado, y bazo para el análisis (Figura 3).

Los constituyentes marcados, como se midió mediante ^{14}C , se encontraron en la sangre portal y femoral de la rata. Los niveles en sangre portal de los constituyentes marcados ^{14}C fueron mayores que los niveles en sangre femoral (Figura 2). A los 30 minutos después de la dosificación, aproximadamente el 15% de los constituyentes que se inyectaron en el intestino se encontraron en la sangre. Aproximadamente 4% de los recuentos se encontraron en el hígado y aproximadamente 1% se encontraron en el bazo. Considerando los tamaños relativos del hígado y el bazo, la captación esplénica fue mucho mayor que la captación hepática sobre una base en peso.

Experimento 2 - Direccionamiento de hepatocitos

Para demostrar la absorción de la composición en el intestino, una composición que comprende insulina y los constituyentes generados a partir de una mezcla de componentes lipídicos que comprende aproximadamente 61 moles por ciento de 1,2 diestearoil-sn-glicero-3-fosfolina, aproximadamente 22 moles por ciento de dihexadecil fosfato, aproximadamente 16 moles por ciento de colesterol, y aproximadamente 1 mol por ciento de poli[Cr-bis(ácido N-2,6-diisopropilfenilcarbamoilmetil iminodiacético)] (en el que una parte conocida del componente fosfolípido comprendía fosfolípido marcado con ^{14}C) se preparó como se ha indicado en la preparación general. Antes de dosificar, la composición marcada a las ratas, se privó a las ratas de alimento durante 24 horas y de agua durante 4 horas. A continuación se permitió a las ratas en ayuno beber agua de una botella de agua graduada que contenía la composición. La botella de agua potable se retiró de la jaula después de 15 minutos, se midió la cantidad de agua ingerida de la botella de bebida, y se calculó la cantidad de la composición ingerida. Se muestreó la sangre de las ratas a los 15, 30, y 45 minutos y se contó la radiomarca en cada muestra (Figura 4). A los 45 minutos, las ratas se sacrificaron y se contaron los hígados para la radiomarca (Figura 5).

Como se muestra en la Figura 4, se encontró aproximadamente un 8% de la dosis ingerida en la sangre de las ratas 15 minutos después de que se ha retirado el agua de la jaula. La cantidad de constituyentes en la sangre de las ratas permaneció constante entre 15 y 45 minutos. La captación hepática fue aproximadamente del 8% a los 45 minutos. La captación esplénica a los 45 minutos fue aproximadamente del 1% de la dosis ingerida (Figura 5). La absorción total fue aproximadamente del 17% (incluyendo la sangre, el hígado, y el bazo).

Experimento 3 - Direccionamiento de hepatocitos con una composición en ratones tratados con aloxano-estreptozotocina

Los ratones utilizados en el presente experimento se volvieron diabéticos administrando estreptozotocina y aloxano. Los animales diabéticos se dividieron a continuación en dos grupos. Se dosificó al grupo del control (11 ratones) con insulina regularmente. Se dosificó al grupo experimental (7 ratones) por vía oral con una composición que comprende insulina y los constituyentes generados a partir de una mezcla de componentes lipídicos que comprende aproximadamente 61 moles por ciento de 1,2 diestearoil-sn-glicero-3-fosfolina, aproximadamente 22 moles por ciento de dihexadecil fosfato, aproximadamente 16 moles por ciento de colesterol, y aproximadamente 1 mol por ciento de poli[Cr-bis(ácido N-2,6-diisopropilfenilcarbamoilmetil iminodiacético)] (en el que una parte conocida del componente fosfolípido comprendía fosfolípido marcado con ^{14}C). La dosificación se llevó a cabo utilizando el método de dosificación de la botella de agua descrito en el Experimento 2.

Tras volverse diabéticas, las ratas en ambos grupos se trataron idénticamente durante un periodo de 7 días y se alimentaron con alimento normal y agua normal. Tras este periodo de 7 días, Las ratas en el grupo del control se trataron durante un periodo experimental de 7 días adicionales con alimento e insulina regular en el agua potable disponible a 0,1 U/ml. Durante el mismo periodo experimental de 7 días, el grupo experimental se alimentó con alimento regularmente con la composición de la invención disponible en el agua potable a 0,1 U/ml. Al final de cada periodo de 7 días, se midió la glucosa en sangre en una muestra de la vena de sangre de la vena de la cola mediante un analizador de glucosa en sangre Beckman.

En la Figura 6 se muestra la eficacia farmacológica de la insulina administrada por vía oral en el grupo dosificado

con la composición anteriormente descrita. Los ratones que recibieron la composición tuvieron una reducción estadísticamente significativa en la glucosa en sangre en el día siete ($p < 0,01$) en comparación con los ratones que recibieron insulina regularmente, cuya glucosa en sangre no se alteró en absoluto.

5 Ejemplo 4 - Administración *in vivo* de serotonina

La acción hepática de una composición que comprende serotonina y los constituyentes generados a partir de una mezcla de componentes lipídicos que comprende aproximadamente 61 moles por ciento de 1,2 diestearoil-sn-glicero-3-fosfolina, aproximadamente 22 moles por ciento de dihexadecil fosfato, aproximadamente 16 moles por ciento de colesterol, y 1 mol por ciento de poli[Cr-bis(ácido N-2,6-diisopropilfenilcarbamoilmetil iminodiacético)] se demostró en un perro diabético de tipo 2 (vagotomía troncal). Se sometió al perro a ayuno, y a continuación se anestesió. Se colocaron catéteres de muestreo de sangre en las venas hepáticas y porta para permitir el muestreo de sangre simultáneo. Se infundió glucosa en el sistema portal a una velocidad de 0,5/kg/hora. A continuación, la composición anteriormente descrita se administró intraduodenalmente en una única dosis de 30µg/kg de peso corporal. Los resultados se representan gráficamente en la Figura 7 y demuestran que la serotonina (denominada también 5-hidroxitriptamina o 5-HT), administrada intraduodenalmente como una composición de la invención es eficaz a dosis bajas en convertir un perro diabético de tipo 2 desde la salida de la glucosa hepática hasta la captación durante una carga de glucosa portal.

20 Ejemplo 5 - Administración *in vivo* de calcitonina

Se administró a ratas del control normales sometidas a ayuno una dosis de calcitonina de salmón mediante inyección subcutánea de tal manera que se observó una reducción inicial del 10% en el calcio de la sangre. A continuación se midieron los niveles de calcio en sangre durante seis horas después de la inyección. Se administró a un grupo experimental de ratas la misma dosis eficaz de calcitonina mediante sonda oral, en la forma de una composición que comprende calcitonina y los constituyentes generados a partir de una mezcla de componentes lipídicos que comprende aproximadamente 61 moles por ciento de 1,2 diestearoil-sn-glicero-3-fosfolina, aproximadamente 22 moles por ciento de dihexadecil fosfato, y aproximadamente 16 moles por ciento de colesterol. Los niveles de calcio en sangre continuaron durante seis horas (Figura 8). Se observó una reducción del calcio en sangre de hasta el 20% en las ratas que no eran del control. La diferencia era estadísticamente significativa (Figura 8).

Ejemplo 6 - Ensayo clínico con insulina dirigida en los sujetos de diabetes mellitus de tipo 2

Se prepararon cápsulas que contenían una composición de la invención. La composición comprendía insulina como agente terapéutico, gelatina, y los constituyentes generados a partir de una mezcla de componentes lipídicos que comprende aproximadamente 61 moles por ciento de 1,2 diestearoil-sn-glicero-3-fosfolina, aproximadamente 22 moles por ciento de dihexadecil fosfato, aproximadamente 16 moles por ciento de colesterol, y aproximadamente 1 mol por ciento de sal sódica de Biotin-HDPE. Cada cápsula contenía 2U de insulina.

Seis pacientes de diabetes de Tipo 2 bien caracterizados participaron en el estudio controlado. Los pacientes se mantuvieron en su tratamiento oral personalizado contra la diabetes de Tipo 2. Se administró también a los participantes del estudio tanto cápsulas de placebo como las cápsulas anteriormente descritas 30 minutos antes de una comida con 60 gramos de hidratos de carbono en el desayuno, el almuerzo y la cena. Se extrajeron muestras de sangre a intervalos frecuentes durante un periodo de 13 horas y se calculó el área de incremento bajo la curva para los niveles de glucosa en sangre de cada sujeto.

A 0,1 U/kg de peso corporal/comida, la misma dosis que se utilizó frecuentemente con inyección subcutánea de insulina en una comida dada, se observó una reducción estadísticamente significativa en la ABC para cada una de las tres comidas. La Figura 10 representa gráficamente los resultados del ensayo en formato gráfico.

Ejemplo 7 - Concentración de insulina

La insulina U-500 contiene 500 unidades de insulina/ml = 0,5 unidades/1 µl

- 55 - añadir 3,36 ml de U-500 de insulina a 70 ml de suspensión de constituyente en tampón fosfato 18 mM r a pH 7,01.
- $(3.360 \mu\text{l}) \times (0,5 \text{ unidades de insulina}/\mu\text{l}) = 1.680 \text{ unidades de insulina total en } 73,36 \text{ ml}$
- 60 - $(1.680 \text{ unidades de insulina}) / (73,36 \text{ ml}) = 22,9 \text{ unidades de insulina/ml -o- } 34,35 \text{ unidades de insulina}/1,5 \text{ ml}$
- Cargar insulina durante 21 horas;
- 65 - Cargar posteriormente, cromatografiar 1,5 ml de muestra en una columna de 1,5 cm x 25 cm con gel de Sefarosa CL-6B equilibrado con tampón fosfato 18 mM a pH 7,01

- 0% de insulina libre recuperada de la columna; La recuperación del 0% de la insulina total cargada implica que el 100% de la insulina total cargada se asocia con un constituyente de la composición.

5 **34,35 unidades de insulina x 100 % = 34,35 unidades de insulina unidas o asociadas con los constituyentes de la invención.**

10 La Figura 11 representa gráficamente la cromatografía anteriormente descrita. Se incluye una traza que muestra el tiempo de elución de la insulina libre a fines comparativos. Como se puede observar a partir del cromatograma, la insulina se asocia con los constituyentes de la invención y no hay insulina libre en solución. Un conservante incluido con la insulina no se asocia con los constituyentes de la composición de la invención y es visible en el cromatograma.

Ejemplo 8 - Administración oral de GLP-1

15 Se sometió a ayuno a las ratas durante la noche. Posteriormente, 800 mg tanto de aloxano como de estreptozocina se disolvieron en 40 ml de PBS (pH 7, 0,01 M). Las ratas sometidas a ayuno se trataron a continuación inmediatamente con una dosis IP de 0,5 ml para inducir la deficiencia a la insulina. A continuación, se estabilizaron los animales durante la noche con agua y alimento. Tras la estabilización, las ratas se sometieron a ayuno durante la noche para agotar el glicógeno hepático.

20 Posteriormente, 1,5 g de glucosa/kg de peso corporal y GLP-1 en la forma de una construcción de GLP-1/constituyente se administraron simultáneamente mediante sonda oral. Los constituyentes se prepararon a partir de una mezcla de componentes lipídicos que comprende aproximadamente 61 moles por ciento de 1,2 diestearoil-sn-glicero-3-fosfolina, aproximadamente 22 moles por ciento de dihexadecil fosfato, y aproximadamente 16 moles por
25 ciento de colesterol ("GLP-1 asociado"). En experimentos separados, se varió la cantidad de GLP-1 asociado. Se midió el glicógeno hepático químicamente a las 2 horas después de la dosificación.

30 Como control, GLP-1 no asociado se sondeó en lugar de GLP-1 asociado. En un control separado, GLP-1, en una dosis similar a la sondeada oralmente, se inyectó por vía intraperitoneal. Como se muestra en la Tabla 3, a continuación, se observó una eficacia oral sustancialmente potenciada para el GLP-1 asociado frente al GLP-1 no asociado.

Tabla 3

Tratamiento	Dosis de GLP-1 mg/rata	Glicógeno hepático mg/g de hígado
GLP-1 oral del control	0,01	40 ± 22
GLP-1 intraperitoneal	0,01	59 ± 44
GLP-1 oral asociado	0,005	73 ± 56*
GLP-1 oral asociado	0,01	90 ± 75*

*p = 0,05 en comparación con el GLP-1 oral del control

35 Ejemplo 9 - IgG oral

Los anticuerpos IgG humanos se unieron covalentemente a un constituyente de la invención, como se describe anteriormente en el presente documento ("IgG covalente"). Posteriormente, se prepararon ocho ratas de laboratorio de 250 gramos con catéteres intraduodenales para la administración de IgG covalente. Tras un ayuno durante la
40 noche, se infundieron 5 ug de IgG covalente en el catéter duodenal. El catéter se lavó posteriormente con 0,5 ml de tampón. Se tomaron muestras de sangre a los 15, 30, 60 y 120 minutos para evaluar la concentración en plasma de anticuerpos IgG humanos mediante la reacción ELISA.

45 En un experimento del control, se infundieron 5 ug de IgG libre en el catéter duodenal. El catéter se lavó posteriormente con 0,5 ml de tampón. Se tomaron muestras de sangre a los 15, 30, 60 y 120 minutos para evaluar la concentración en plasma de anticuerpos IgG humanos mediante la reacción ELISA. En la Figura 12 se muestran los resultados de ambos estudios.

50 Como se puede observar en la Figura 12, la IgG covalente proporcionó una concentración en plasma aumentada de la IgG humana (ABC) en comparación con la IgG libre. Del mismo modo, la IgG covalente aumentó T_{máx} - el tiempo hasta la concentración máxima, y C_{máx} - la concentración máxima en plasma observadas tras la dosificación. La eficacia mejorada de la IgG covalente, en comparación con la IgG libre, demuestra de esta manera la capacidad de un compuesto de la invención de aumentar la absorción oral de las proteínas muy grandes en la circulación sistémica.

55

Ejemplo 10 - Tiroxina oral

Se conoce la tiroxina por disminuir los niveles de colesterol y triglicéridos en sangre. Sin embargo, a las dosis requeridas para tratar el colesterol y los triglicéridos altos, la tiroxina produce hipertiroidismo como efecto secundario no deseado. El objetivo de este estudio era demostrar que la tiroxina dirigida administrada por vía oral asociada con un compuesto de la invención actuaría en el hígado con el resultado de disminuir los lípidos en sangre sin inducir el hipertiroidismo no deseado.

Se administraron a ratones de laboratorio normales, en dietas calóricas altas, dosis orales bajas (0,2 a 1,0 µg) de tiroxina en la forma de una composición que comprende tiroxina y los constituyentes generados a partir de una mezcla de componentes lipídicos que comprende aproximadamente 61 moles por ciento de 1,2 diestearoil-sn-glicero-3-fosfolina, aproximadamente 22 moles por ciento de dihexadecil fosfato, aproximadamente 16 moles por ciento de colesterol, y aproximadamente 1 mol por ciento de sal sódica de Biotin-HDPE, un agente de direccionamiento hepático.

Los ratones, en grupos de 4, se dosificaron diariamente mediante sonda oral durante una semana en un estudio de respuesta a la dosis. Se midieron el colesterol en sangre y los triglicéridos después de una semana de tratamiento. Los valores iniciales del colesterol y los triglicéridos fueron similares para todos los grupos. Las respuestas a la dosis, que se muestran en la Figura 13, demuestran la eficacia de la tiroxina con direccionamiento hepático administrada por vía oral asociada con una composición de la invención. Los niveles en sangre de hormona tiroidea no aumentan con la dosificación de la tiroxina oral dirigida, demostrando la seguridad del producto.

Otros estudios publicados (Erion, M., et al., PNAS 25 de septiembre de 2007 vol 104, n.º 39, págs. 15490-15495) con los análogos de tiroxina con direccionamiento hepático requirieron dosis al menos 10 veces mayores que las descritas en el presente documento para estimular reducciones similares en el colesterol y los triglicéridos en sangre.

Ejemplo 11 - Interferón oral

se preparó una composición que comprendía interferón-a como agente terapéutico y los constituyentes generados a partir de una mezcla de componentes lipídicos que comprende aproximadamente 61 moles por ciento de 1,2 diestearoil-sn-glicero-3-fosfolina, aproximadamente 22 moles por ciento de dihexadecil fosfato, aproximadamente 16 moles por ciento de colesterol, y aproximadamente 1 mol por ciento de sal sódica de Biotin-HDPE.

Se trataron seis pacientes con hepatitis C, genotipo 3, con una suspensión acuosa de la composición anteriormente descrita y Ribavirina, diariamente durante 8 semanas. La dosis de interferón-a en la suspensión acuosa de la composición era de 60.000 unidades/día.

Se midieron las cargas víricas de la hepatitis C al comienzo del estudio, a continuación en las semanas 1, 2, 4 y 8. Véase la Figura 14. Los datos demuestran la capacidad de la suspensión acuosa de una composición de la invención de disminuir la carga vírica con una dosis mínima de interferón. Los efectos secundarios se minimizaron igualmente.

REIVINDICACIONES

1. Una composición biodisponible por vía oral que comprende gelatina y constituyentes adicionales, comprendiendo dichos constituyentes un liposoma dimensionado dinámicamente, un fragmento de liposoma y una partícula lipídica, en el que dicho liposoma, fragmento de liposoma y partícula lipídica se generan a partir de una mezcla de componentes lipídicos que comprende dihexadecil fosfato, 1,2 diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina, y colesterol; comprendiendo dicha composición además al menos un agente terapéutico o de diagnóstico y al menos un agente de direccionamiento derivado de biotina es biotina-X-DHPE o biotina DHPE; en el que de 5% a 50% de dichos constituyentes adicionales presentan un diámetro promedio igual o menor de 20 nanómetros.

2. La composición de la reivindicación 1, en la que dichos componentes lipídicos se seleccionan además entre el grupo que consiste en MPBPE, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina, 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfocolina, oleato de colesterol, 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfato, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfato, 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfato, 1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina-N-(succinilo), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-[fosfo-rac-(1-glicerol)] (sal de sodio), y fosfato de trietilamonio 2,3-diacetoxipropil 2-(5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il) pentanamido)etilo.

3. La composición de la reivindicación 1, en la que dicho al menos un agente terapéutico se selecciona además entre el grupo que consiste en interferón, eritropoyetina, hormona paratiroidea, calcitonina, serotonina, rituximab, trastuzumab, uricasa, activador del plasminógeno tisular, timoglobina, una vacuna, heparina o un análogo de heparina, antitrombina III, filgrastina, acetato de pramilitida, exanatida, epifibatida, antiveninas, IgG, IgM, HGH, tiroxina, GLP-1, factores de coagulación sanguínea VII y VIII, un anticuerpo monoclonal, y glicolípidos que actúan como agentes terapéuticos.

4. La composición de la reivindicación 1, en la que dicho al menos un agente de direccionamiento derivado de biotina se selecciona además entre el grupo que consiste en N-hidroxisuccinimida (NHS) biotina; sulfo-NHS-biotina; N-hidroxisuccinimida biotina de cadena larga; sulfo-N-hidroxisuccinimida biotina de cadena larga; D-biotina; biocitina; sulfo-N-hidroxisuccinimida-S-S-biotina; biotin-BMCC; biotin-HPDP; yodoacetil-LC-biotina; biotin-hidrazida; biotin-LC-hidrazida; biocitina hidrazida; biotina cadaverina; carboxibiotina; fotobiotina; trifluoroacetato de p-aminobenzoil biocitina; p-diazobenzoil biocitina; ácido 12-((biotinil)amino)dodecanoico; éster de succinimidilo del ácido 12-((biotinil)amino)dodecanoico; S-biotinil homocisteína; biocitina-X; biocitina x-hidrazida; biotinetilendiamina; biotina-XL; biotina-X-etilendiamina; biotina-XX hidrazida; biotina-XX-SE; biotina-XX, SSE; biotina-X-cadaverina; α-(t-BOC)biotina; N-(biotinil)-N'-(yodoacetil) etilendiamina; DNP-X-biocitina-X-SE; biotina-X-hidrazida; clorhidrato de norbiotinamina; 3-(N-maleimidilpropionil)biotina; ARP; biotin-l-sulfóxido; éster metílico de biotina; biotin-maleimida; biotin-poli(etilenglicol)amina; sal de sodio del ácido (+) biotina 4-amidobenzoico; Biotina 2-N-acetilamino-2-desoxi-β-D-glucopiranosido; biotin-α-D-N-acetilneuraminida; biotin-α-L-fucosida; Biotina lacto-N-biosida; biotin-Lewis-trisacárido A; biotin-Lewis-tetrasacárido Y; biotin-α-D-mannopiranosido; biotina 6-O-fosfo-α-D-mannopiranosido; y 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina-N-(biotinilo), los derivados de iminobiotina de los compuestos anteriormente mencionados, y las mezclas de los mismos.

5. Un método de preparación de una composición biodisponible por vía oral que comprende gelatina y constituyentes adicionales, comprendiendo dichos constituyentes un liposoma dimensionado dinámicamente, un fragmento de liposoma y una partícula lipídica, en el que dicho liposoma, fragmento de liposoma y partícula lipídica se generan a partir de una mezcla de componentes lipídicos que comprende dihexadecil fosfato, 1,2 diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina, y colesterol, comprendiendo dicha composición además al menos un agente terapéutico o de diagnóstico y al menos un agente de direccionamiento derivado de biotina, en el que al menos dicho un agente terapéutico es insulina y dicho al menos un agente de direccionamiento derivado de biotina es biotina-X-DHPE o biotina DHPE, en el que de 5% a 50% de dichos constituyentes adicionales presentan un diámetro promedio igual o menor de 20 nanómetros, comprendiendo dicho método las etapas de:

- mezclar dichos componentes lipídicos y, opcionalmente, dicho al menos un agente de direccionamiento en medio acuoso para formar una primera mezcla;
- añadir dicho agente terapéutico o diagnóstico a dicha primera mezcla para formar una segunda mezcla;
- añadir dicha segunda mezcla a gelatina para formar una mezcla asociada a gelatina; y
- secar dicha mezcla asociada a gelatina.

6. El método de la reivindicación 5, donde

- dichos componentes lipídicos se seleccionan además entre el grupo que consiste en MPB-PE, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina, 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfocolina, oleato de colesterol, 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfato, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfato, 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfato, 1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina-N-(succinilo), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-[fosfo-rac-(1-glicerol)] (sal de sodio), y fosfato de trietilamonio 2,3-diacetoxipropil 2-(5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il) pentanamido)etilo;

b. dicho al menos un agente terapéutico se selecciona además entre el grupo que consiste en interferón, eritropoyetina, hormona paratiroidea, calcitonina, serotonina, rituximab, trastuzumab, uricasa, activador del plasminógeno tisular, timoglobina, una vacuna, heparina o un análogo de heparina, antitrombina III, filgrastina, acetato de pramilitida, exanatida, epifibatida, antiveninas, IgG, IgM, HGH, tiroxina, GLP-1, factores de coagulación sanguínea VII y VIII, un anticuerpo monoclonal, y glicolípidos que actúan como agentes terapéuticos.

7. Una composición biodisponible por vía oral que comprende gelatina y constituyentes adicionales, comprendiendo dichos constituyentes un liposoma dimensionado dinámicamente, un fragmento de liposoma y una partícula lipídica, en el que dicho liposoma, fragmento de liposoma y partícula lipídica se generan a partir de una mezcla de componentes lipídicos que comprende dihexadecil fosfato, 1,2 diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina, y colesterol, comprendiendo dicha composición además al menos un agente terapéutico y al menos un agente de direccionamiento derivado de biotina, en el que al menos dicho un agente terapéutico es insulina y dicho al menos un agente de direccionamiento derivado de biotina es biotina-X-DHPE o biotina DHPE, en el que de 5% a 50% de dichos constituyentes adicionales presentan un diámetro promedio igual o menor de 20 nanómetros, para su uso en un método de tratar una enfermedad en un ser humano.

8. Una composición biodisponible por vía oral que comprende gelatina y constituyentes adicionales, comprendiendo dichos constituyentes un liposoma dimensionado dinámicamente, un fragmento de liposoma y una partícula lipídica, en el que dicho liposoma, fragmento de liposoma y partícula lipídica se generan a partir de una mezcla de componentes lipídicos que comprende dihexadecil fosfato, 1,2 diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina, y colesterol, comprendiendo dicha composición además al menos un agente terapéutico y al menos un agente de direccionamiento derivado de biotina, en el que al menos dicho un agente terapéutico es insulina y dicho al menos un agente de direccionamiento derivado de biotina es biotina-X-DHPE o biotina DHPE, en el que de 5% a 50% de dichos constituyentes adicionales presentan un diámetro promedio igual o menor de 20 nanómetros, para su uso en un método de tratamiento de la diabetes en un ser humano.

9. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 7 u 8, en la que dichos componentes lipídicos se seleccionan entre el grupo que consiste en MPB-PE, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina, 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfocolina, oleato de colesterol, 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfato, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfato, 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfato, 1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina, 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina-N-(succinilo), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-[fosfo-rac-(1-glicerol)] (sal de sodio), y fosfato de trietilamonio 2,3-diacetoxipropil 2-(5-((3aS,6aR)-2-oxohexahidro-1 H-tieno[3,4-d]imidazol-4-il) pentanamido)etilo.

10. Una composición que comprende gelatina y constituyentes adicionales preparados mediante un método que comprende las etapas de:

- a. mezclar al menos tres componentes lipídicos y, opcionalmente, al menos un agente de direccionamiento en medio acuoso para formar una primera mezcla en la que dichos componentes lipídicos comprenden dihexadecil fosfato, 1,2 diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina, y colesterol;
- b. someter dicha mezcla a homogeneización para formar una mezcla de liposomas, fragmentos de liposomas, y partículas;
- c. añadir un agente terapéutico o diagnóstico a dicha mezcla de liposomas, fragmentos de liposomas, y partículas para crear una segunda mezcla;
- d. añadir dicha segunda mezcla a gelatina para formar una mezcla asociada a gelatina; y
- e. secar dicha mezcla asociada a gelatina

en el que de 5% a 50% de dichos constituyentes adicionales presentan un diámetro promedio igual o menor de 20 nanómetros.

11. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, en la que dicha composición es para la coadministración con insulina.

12. Un kit que comprende

- a. una composición biodisponible por vía oral que comprende gelatina y constituyentes adicionales, comprendiendo dichos constituyentes un liposoma dimensionado dinámicamente, un fragmento de liposoma y una partícula lipídica, en el que dicho liposoma, fragmento de liposoma y partícula lipídica se generan a partir de una mezcla de componentes lipídicos que comprende dihexadecil fosfato, 1,2 diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina, y colesterol, comprendiendo dicha composición además al menos un agente terapéutico o de diagnóstico y al menos un agente de direccionamiento derivado de biotina, en el que al menos dicho un agente terapéutico es insulina y dicho al menos un agente de direccionamiento derivado de biotina es biotina-X-DHPE o biotina DHPE, en el que de 5% a 50% de dichos constituyentes adicionales presentan un diámetro promedio igual o menor de 20 nanómetros; y
- b. material de instrucción para la administración de dicha composición a un ser humano.

Figura 1

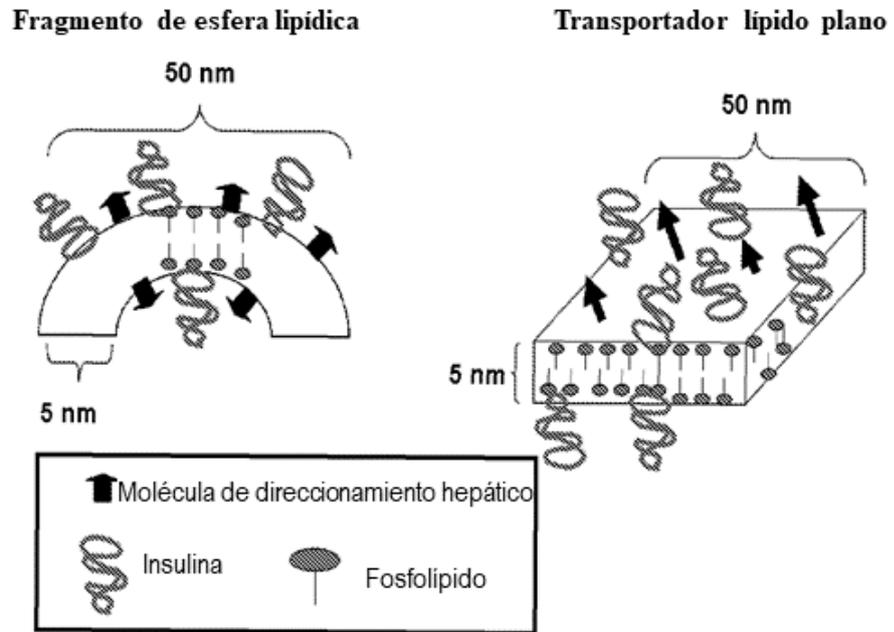


Figura 2

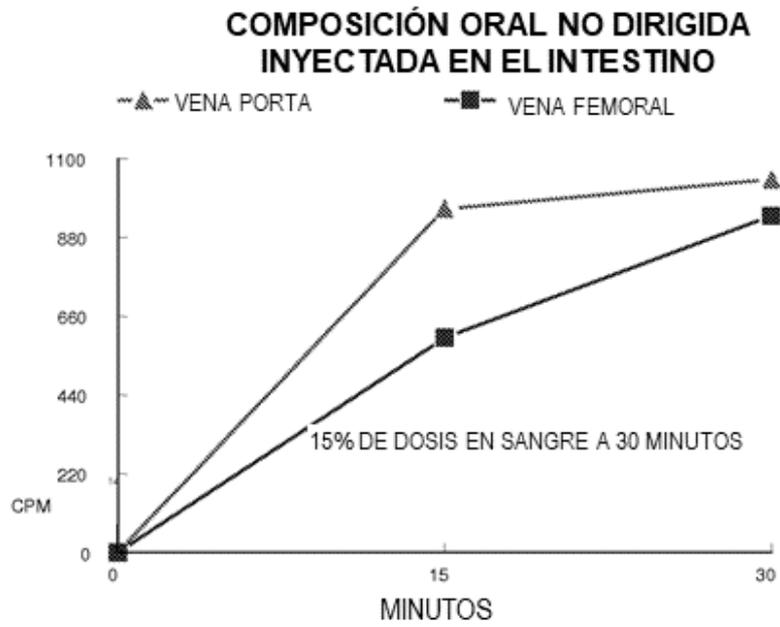


Figura 3

Absorción oral de la composición – ratas en ayuno intactas

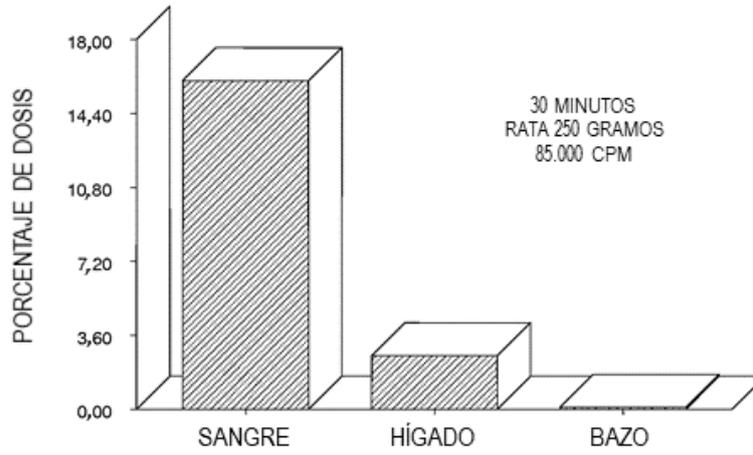


Figura 4

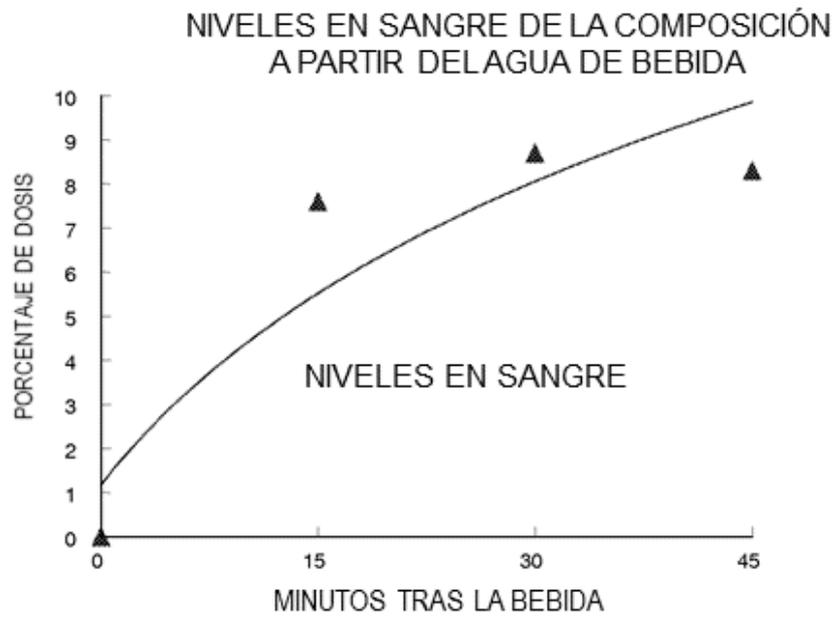


Figura 5

ABSORCIÓN ORAL DE LA COMPOSICIÓN A PARTIR
DEL AGUA DE BEBIDA DE RATAS NORMALES

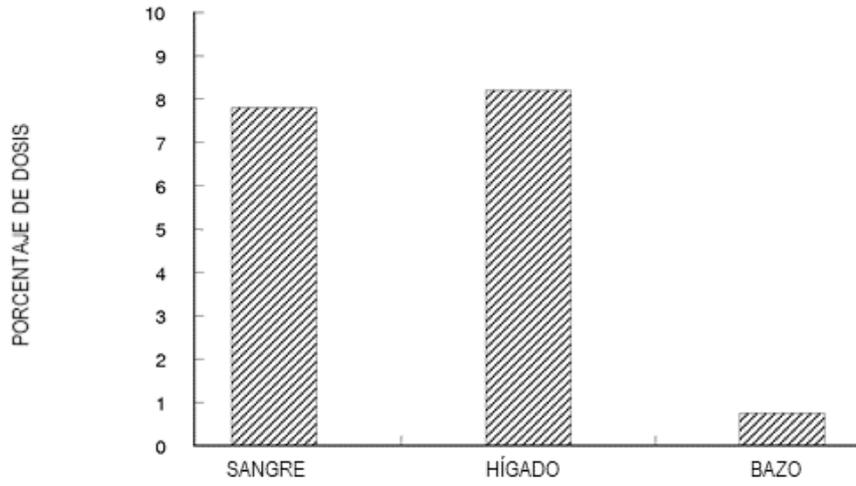


Figura 6

COMPOSICIÓN ORAL DE INSULINA EN RATONES CON ALOXANO-ESTREPTOZOTOCINA

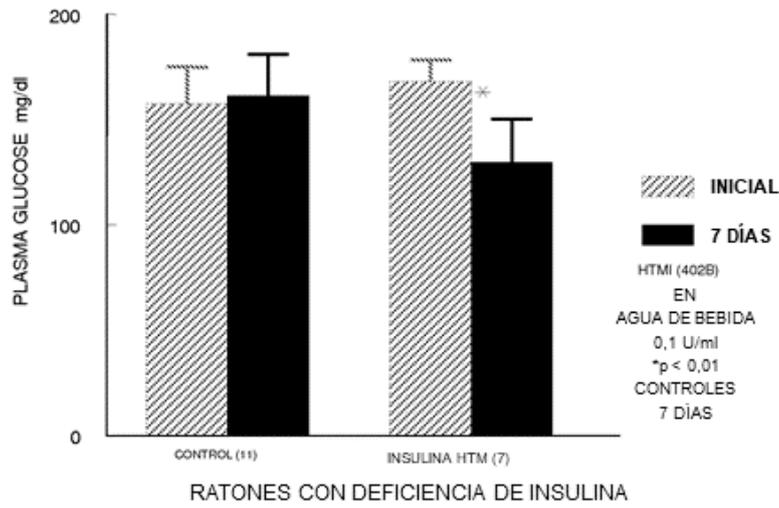


Figura 7

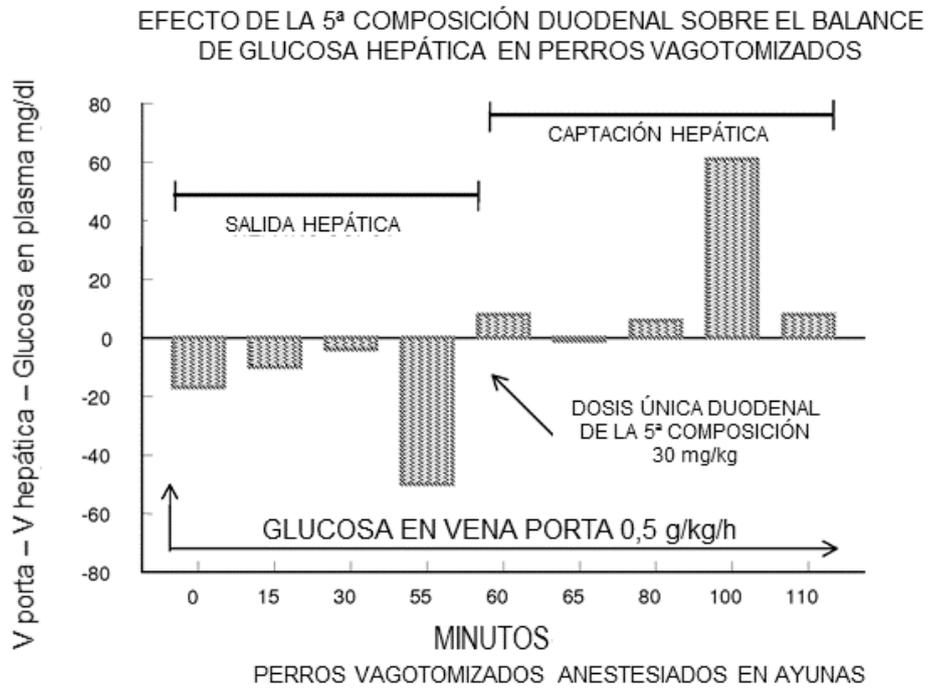


Figura 8

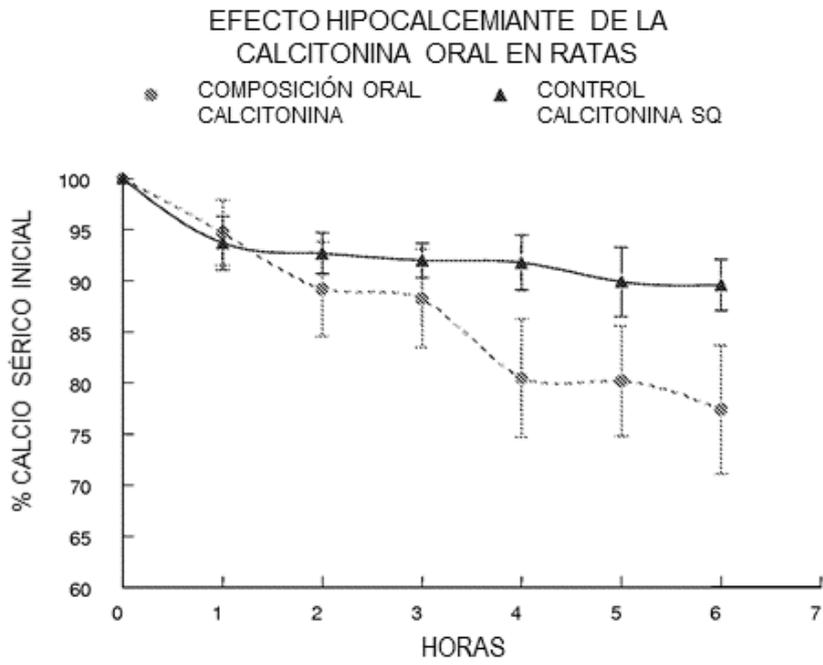


Figura 9

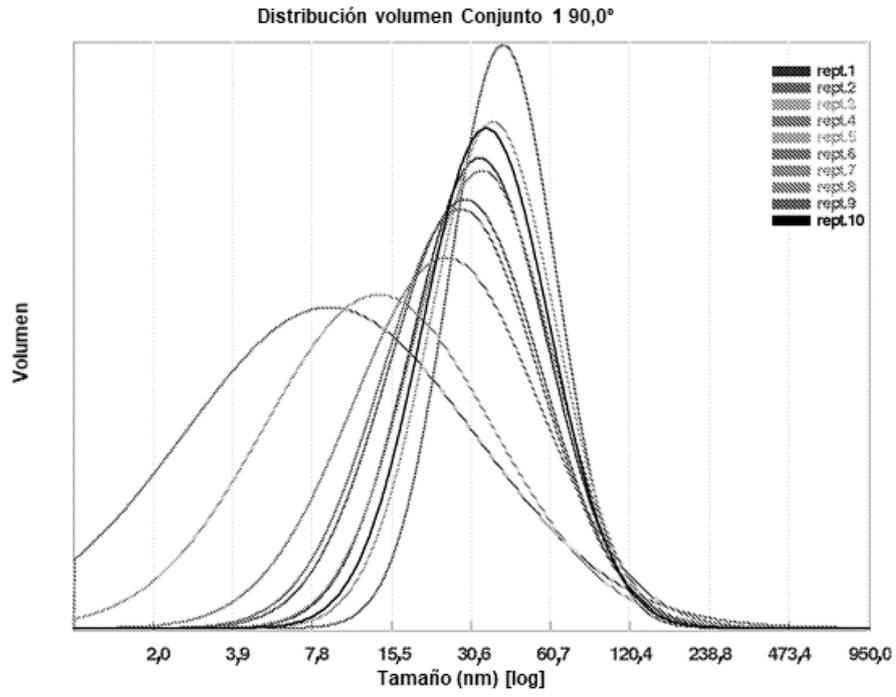


Figura 10

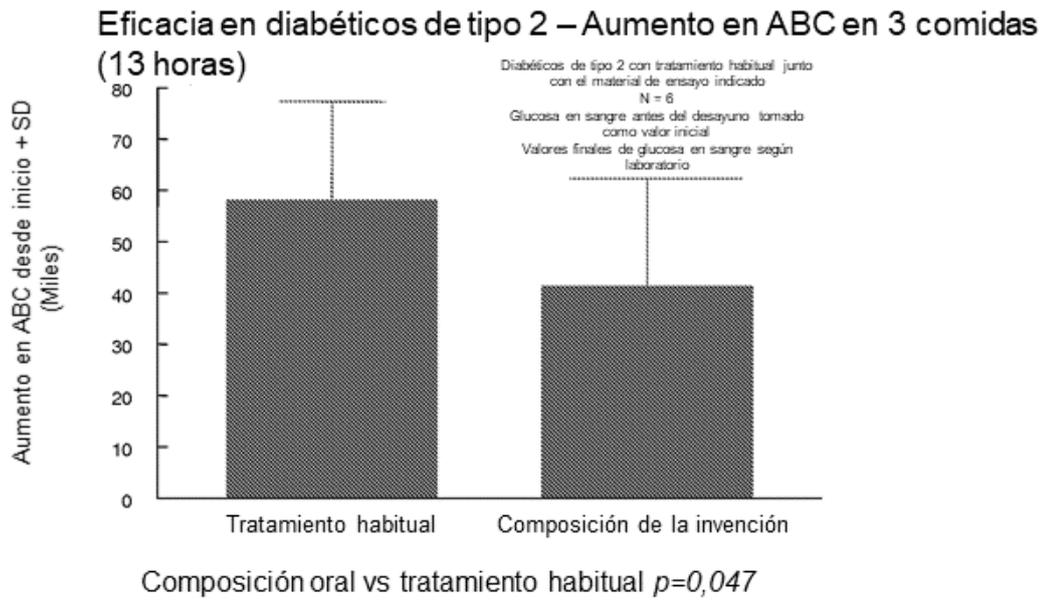


Figura 11

Solución que contiene la composición tras carga de insulina vs solución de insulina

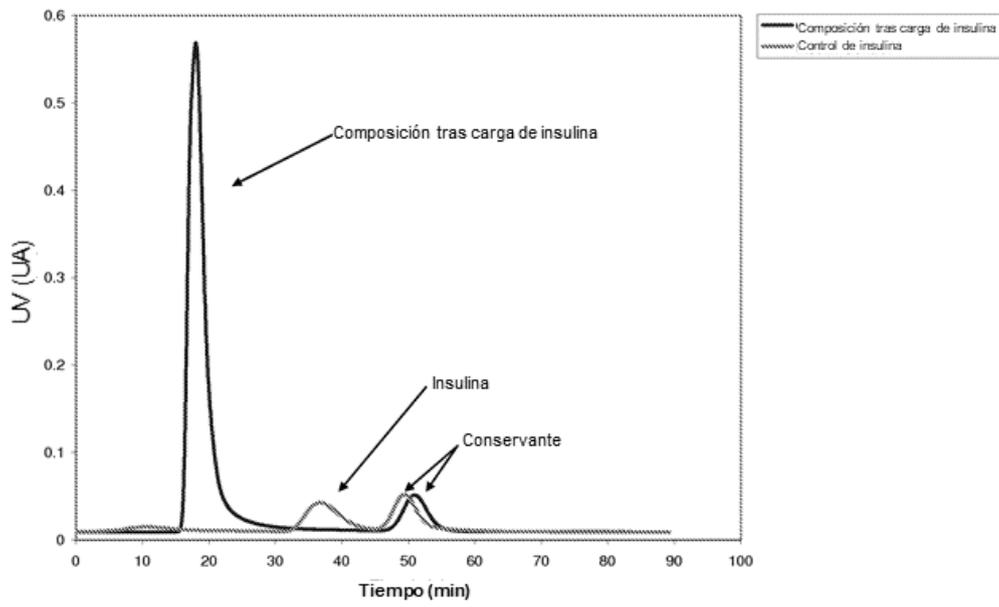


Figura 12

ADMINISTRACIÓN ORAL DE ANTICUERPOS IgG
Ratas (n=8) con administración intraduodenal de 5 µg

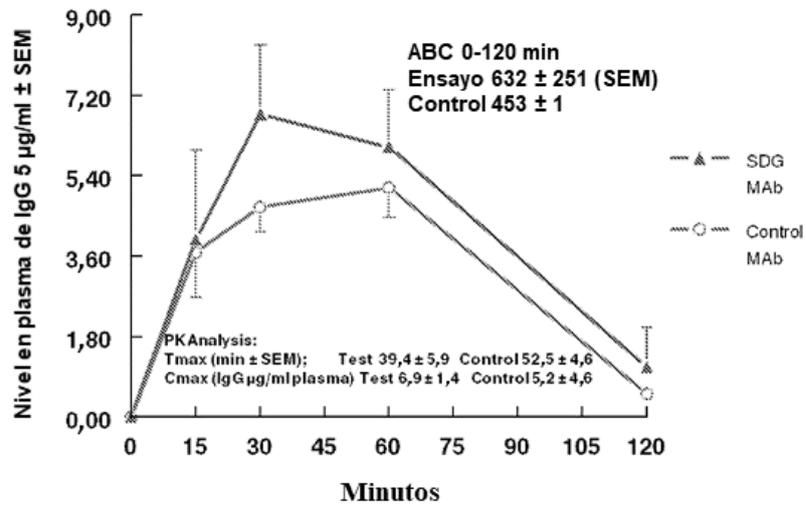


Figura 13

Efecto de tiroxina oral dirigida sobre el colesterol sérico de ratones
 Dosis respuesta n=8, 1 semana de tratamiento

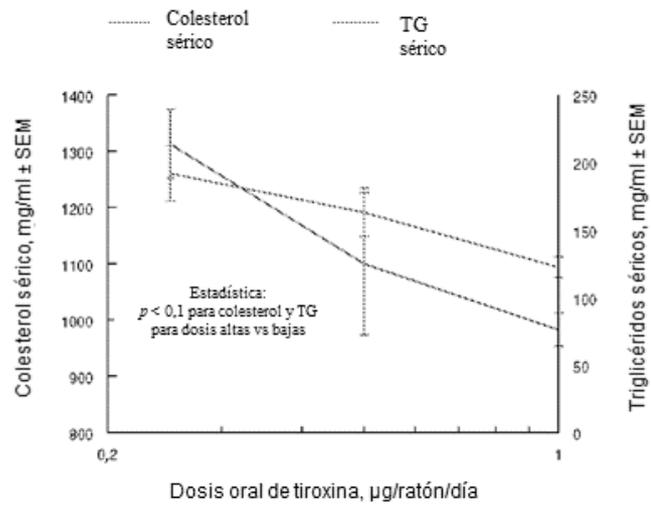


Figura 14

Tratamiento de la hepatitis C genotipo 3 con interferón alfa oral
60.000 U interferón alfa/día

