(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **3 026 657**

(51) Int. Cl.:

A61K 9/00 (2006.01)
A61K 9/127 (2015.01)
A61K 31/7028 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.09.2014 E 21185152 (2)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.02.2025 EP 3954360**

(54) Título: **Preparación farmacéutica de hidratos de carbono para uso terapéutico**

(30) Prioridad:

16.09.2013 US 201361878591 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.06.2025

(73) Titular/es:

GLYCOMINE, INC. (100.00%)
733 Industrial Road
San Carlos, CA 94070, US

(72) Inventor/es:

RAFALKO, AGNES y
CHERNENKO, TATYANA

(74) Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

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

Preparación farmacéutica de hidratos de carbono para uso terapéutico

Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional de EE. UU. n.º 61/878591, presentada el 16 de septiembre de 2013.

Campo de la invención

La presente invención se refiere a composiciones que contienen manosa-1-fosfato encapsulada en una partícula de lípidos para un suministro al interior de las células, y usos de tales composiciones en métodos para suministrar manosa-1-fosfato encapsulada al interior de las células y métodos para tratar enfermedades y trastornos como trastornos congénitos de glicosilación (CDG).

Antecedentes de la invención

La glicosilación, que es la unión enzimática de hidratos de carbono (glicanos) a proteínas y lípidos, es una modificación co-translacional y post-translacional (PTM) que es más común que cualquier otra PTM, ya que afecta a la mayoría de las proteínas sintetizadas en el retículo endoplásmico (ER) rugoso. La glicosilación desempeña una función crítica en una diversidad de procedimientos biológicos de proteínas de membrana y secretadas. En el ER, la glicosilación define la estructura y el plegado de las proteínas y actúa como un mecanismo de control de calidad que gobierna la exportación de proteínas apropiadamente plegadas al aparato de Golgi o dirige a diana las mal reguladas para su degradación. Los restos de glicano pueden actuar también como ligandos para receptores de la superficie de las células para mediar la unión de las células o estimular las trayectorias de transducción de señales. Los trastornos congénitos de la glicosilación, también conocidos como síndromes CDG, son un grupo de enfermedades genéticas raras en las que las proteínas y/o los lípidos de los tejidos portan una glicosilación defectuosa y/o carecen de glicosilación. Estas enfermedades están conectadas con numerosas deficiencias enzimáticas y, a menudo, provocan alteraciones graves, a veces fatales, de sistema nervioso, músculos, intestinos y otros diversos sistemas de órganos.

Los síntomas clínicos comunes en niños con CDG incluyen hipotonía, retraso del desarrollo, falta de crecimiento, disfunción hepática, coagulopatía, hipotiroidismo, esotropia, modelo de grasas anormal y pezones invertidos, hipoglicemia, convulsiones, hipoplasia cerebelosa y episodios de tipo apoplejía en un niño con retraso en el desarrollo. En una edad más avanzada, en la adolescencia y en la edad adulta, la presentación puede incluir ataxia, deterioro cognitivo y ausencia de pubertad en mujeres, testículos pequeños en hombres, retinitis pigmentosa, escoliosis, contracturas de las articulaciones y neuropatía periférica.

Los CDG se pueden clasificar en dos grupos: CDG de tipo I y CDG de tipo II. Los CDG de tipo I se caracterizan por defectos en las etapas iniciales de la glicosilación de proteínas unidas a N, es decir, la biosíntesis de oligosacáridos unidos a dolicol-pirofosfato (DLO), que se producen en el ER, o la transferencia de DLO a residuos de asparagina de polipéptidos nacientes. El CDG de tipo II implica defectos en el tratamiento adicional (sintético o hidrolítico) del glicano unido a proteínas. Actualmente, han sido identificadas veintidós variantes de tipo I y catorce de tipo II. Uno de los subtipos más comunes de CDG es CDG-Ia (aproximadamente un 70% de todos los casos de CDG), que se caracteriza por una pérdida o reducción de la actividad de fosfamanomutasa 2 (PMM) que conduce a una deficiencia o insuficiencia de la N-glicosilación intracelular (Jaeken et al. J. of Inherit. Met. Disease. 2008, 31: 669-672). La PMM es responsable de la conversión de manosa-6-fosfato en manosa-1-fosfato.

Aunque han sido exploradas diversas propuestas diferentes para desarrollar terapias para los CDG, los investigadores continúan buscando una cura adecuada o una terapia para atenuar la propia enfermedad. Los tratamientos existentes para las manifestaciones incluyen, por ejemplo, complementos nutritivos, alimentación por zona y una amplia gama de terapias que intentan tratar el reflujo gastroesofágico vómitos persistentes, retrasos del desarrollo, anormalidades oculares e hipotiroidismo. Los pacientes requieren también una hidratación intravenosa (IV) y terapia física para episodios de tipo apoplejía. Los adultos con síntomas ortopédicos requieren a menudo sillas de ruedas, dispositivos de transferencia y tratamiento quirúrgico para escoliosis (Sparks et al., Disorders of Glycosylation Overview. 2005 In: Pagon RA, Adam MP, Bird TD, et al., editors. GeneReviews™. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2013).

Actualmente, los CDG-Ib son los únicos CDG conocidos en los que está disponible un tratamiento relativamente eficaz, a saber, la administración oral de D-manosa. Sin embargo, esta terapia puede ser no tan eficaz en el tratamiento de pacientes de CDG-Ia y hay unas opciones de tratamiento actualmente limitadas para los otros subtipos de tipo I de CDG y enfermedades de tipo II de CDG. Una de las razones para esta falta de una terapia establecida para los trastornos de CDG-I puede ser debida a la multitud de fenotipos clínicos heterogéneos presentados que no muestran una correlación directa con la actividad enzimática de PMM.

Los pacientes que padecen una reducción en la actividad de PMM tienen una producción reducida de manosa-

1-fosfato (Man-1-P) asociada con síntomas de deterioros multiviscerales. Con el fin de superar la deficiencia de producción de PMM, es importante suministrar enzimas en dirección descendente con el sustrato requerido (es decir, Man-1-P). Sin embargo, el suministro y el mantenimiento de este suministro sistémico de Man-1-P es problemático, ya que las enzimas extracelulares en los fluidos corporales degradan el Man-1-P cuando son suministrados de forma exógena o mediante una administración oral o intravenosa. Otro problema con el suministro por vía exógena de Man-1-P es que su elevada polaridad evita que el Man-1-P penetre en el interior de las células (es decir, el citosol) y, por tanto, el tratamiento de la deficiencia en la producción de PMM.

Los derivados de Man-1-P-polar pueden ser sintetizados para preparar Man-1-P más permeable a las células (publicación de patente de EE. UU. n.º 2009/0054353). Sin embargo, esta propuesta es también problemática, ya que el derivado de Man-1-P permeable a las células se ha mostrado que es inestable para un uso clínico o bien citotóxico a través de los subproductos del derivado de Man-1-P (Eklund et al., Glycobiology 2005, 15: 1084-1093; Rutschow et al. Bioorg Med Chem 2002, 10: 4043-4049; y Hardre et al., Bioorg Med Chem Lett 2007, 17: 152-155).

Otras terapias potenciales se han enfocado en inhibir las enzimas que catabolizan manosa-6-fosfato (Man-6-P), un precursor de Man-1-P, a través de la inhibición de fosfomanosa isomerasas (PMI). La propuesta se enfoca en reforzar la reacción hacia la optimización de la homeostasis, que con el uso de inhibidores de PMI, se habría desviado hacia la producción de Man-6-P. Sin embargo, estas propuestas son ineficaces como opciones de tratamiento clínico, debido a su toxicidad asociada, efectos secundarios fuera de lugar y penetración de tejidos escasamente selectiva.

Consecuentemente, existen necesidades no cubiertas de composiciones y métodos mejorados para suministrar hidratos de carbono, como Man-1-P, al interior de las células con el fin de tratar trastornos como el trastorno congénito de glicosilación (CDG), a sujetos (que incluyen, por ejemplo, seres humanos) que necesitan este tratamiento.

Breve compendio

La presente descripción abarca las necesidades no cumplidas descritas con anterioridad proporcionando manosa-1-fosfato encapsulada mediante nanoportadores que abordan los problemas de citotoxicidad y estabilidad asociados o bien con células permeabilizantes o bien usando derivados de hidratos de carbono. Utilizando trayectorias endocitóticas, los nanoportadores pueden entrar en el interior de las células y suministrar manosa-1-fosfato en el citosol de una célula. Esta aplicación de nanoportadores que encapsulan manosa-1-fosfato facilita de forma simultánea la facilidad de la terapia, permitiendo que se alcancen dosificaciones superiores de manosa-1-fosfato en la ruta de glicosilación bioquímica, así como una facilidad potencial de administración. La invención reivindicada proporciona composiciones para usar en terapias de sustitución de hidratos de carbono para, pero no se limita a, tratar enfermedades CDG de tipo I y II.

La presente descripción aborda también necesidades no cubiertas relacionadas con agentes terapéuticos eficaces para enfermedades como enfermedades CDG, así como cuestiones relacionadas con el suministro de estos agentes terapéuticos. En algunos aspectos, la descripción proporciona composiciones para usar en un método para suministrar manosa-1-fosfato al citosol de las células. Aunque no se desean vinculaciones teóricas, se cree que este método de suministrar los hidratos de carbono (por ejemplo, como parte de un medicamento) evitaría el trabajo de enzimas citosólicas genéticamente defectuosas, a saber, fosfomanumutasa (PMM) y fosfomanosa isomerasa (PMI), que se encuentra que son predominantes en trastornos de CDG I.

En algunas realizaciones, las composiciones de la presente descripción pueden implicar el suministro de manosa-1-fosfato en el citosol de la célula usando nanoportadores. En particular, se pueden usar nanoestructuras laminares de lípido-esterol-agua biodegradables y biocompatibles para encapsular manosa-1-fosfato. El medicamento descrito representa la opción de tratamiento más potente y viable para trastornos como el trastorno de CDG Ia.

En ciertas realizaciones, la presente descripción proporciona composiciones que contienen una partícula de lípidos y manosa-1-fosfato, encapsuladas en la partícula de lípidos y usos de tales composiciones para suministrar manosa-1-fosfato al interior de células y tratar enfermedades y trastornos, como trastornos congénitos de glicosilación (CDG).

En algunas realizaciones, las composiciones descritas en la presente memoria descriptiva son medicamentos. Estas composiciones (por ejemplo, medicamentos) pueden incluir una suspensión acuosa de liposomas que incorporan manosa-1-fosfato. Los liposomas se pueden preparar a partir de lípidos formadores de vesículas como, pero sin limitarse a, fosfatidilcolina (PC). El liposoma se puede preparar también junto con un esterol, a saber, colesterol. El liposoma completo se enriquece con polietilenglicol (PEG) o es PEGilado, con el fin de aumentar la circulación y retención con los fluidos corporales tras la administración, así como para proteger el liposoma de una degradación y excreción prematuras del medicamento desde el cuerpo de un sujeto que necesita este tratamiento.

Consecuentemente, ciertos aspectos de la presente descripción se refieren a una composición que comprende una partícula de lípidos que comprende uno o más lípidos conjugados con polietilenglicol (PEG), en donde el PEG está presente en una concentración entre aproximadamente 0,5 por ciento molar y aproximadamente 20 por ciento molar y manosa-1-fosfato.

Otros aspectos de la presente descripción se refieren a una composición que contiene un liposoma.

Otros aspectos de la presente descripción se refieren a una composición farmacéutica que contiene una composición de cualquiera de las realizaciones anteriores y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Otros aspectos no reivindicados de la presente descripción se refieren a un estuche de ensayo que contiene una composición de cualquiera de las realizaciones precedentes para ser usado en cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria descriptiva.

Otros aspectos no reivindicados de la presente descripción se refieren a un método para suministrar un hidrato de carbono a un sujeto que lo necesita, administrando al sujeto una composición de cualquiera de las realizaciones precedentes. En algunas realizaciones no reivindicadas, la composición se administra por vía oral, tópica, dérmica, nasal, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, intracerebroespinal, intracraneal, intraespinal, subcutánea, intraarticular, intrasinovial o intratecal.

Otros aspectos de la presente descripción se refieren a las composiciones de la invención para usar en un método para administrar manosa-1-fosfato al interior de las células de un sujeto que lo necesita, administrando al sujeto una composición de cualquiera de las realizaciones precedentes. En algunas realizaciones, la composición se administra por vía oral, tópica, dérmica, nasal, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, intracerebroespinal, intracraneal, intraespinal, subcutánea, intraarticular, intrasinovial o intratecal.

Otros aspectos de la presente descripción se refieren a las composiciones de la invención para usar en un método para tratar un trastorno congénito de glicosilación (CDG) en un sujeto que lo necesita, administrando al sujeto una composición de cualquiera de las realizaciones precedentes. En algunas realizaciones, el trastorno congénito de glicosilación (CDG) se selecciona entre trastorno CDG de tipo I, un trastorno de tipo CDG Ia, un trastorno CDG de tipo II, un trastorno CDG-IIc y un trastorno CDG de tipo IIf. En algunas realizaciones, el trastorno congénito de glicosilación (CDG) es un trastorno CDG-Ia. En algunas realizaciones, la composición se administra por vía oral, tópica, dérmica, nasal, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, intracerebroespinal, intracraneal, intraespinal, subcutánea, intraarticular, intrasinovial o intratecal.

Descripción de los dibujos

La FIG. 1A expone un ejemplo de estructura de manosa-1-fosfato (M1P). La FIG. 1B expone un ejemplo de estructura de polietilenglicol (PEG). La FIG. 1C expone un ejemplo de estructura de fosfatidiletanolamina (PE) unida a PEG. La FIG. 1D expone un ejemplo de estructura de fosfatidilcolina (PC).

La FIG. 2 expone un ejemplo de la estructura de una composición de liposomas que contiene un hidrato de carbono encapsulado en el núcleo del liposoma.

Descripción detallada

Se proporcionan en la presente memoria descriptiva composiciones que contienen una partícula de lípidos y manosa-1-fosfato que son capaces de suministrar manosa-1-fosfato al interior de las células que incluyen, sin limitarse a, el citoplasma, retículo endoplásmico y aparato de Golgi. Los nanoportadores adecuados incluyen, pero no se limitan a, liposomas, micelas, nanopartículas de lípidos sólidos y niosomas.

Como se describe en la presente memoria descriptiva, la composición de nanoportadores adecuados no está limitada a ninguna clase ni peso molecular de los lípidos, polietilenglicol o sus derivados. En algunas realizaciones, la presente descripción se refiere más específicamente, pero no se limita a, preparaciones liposomales de manosa-1-fosfato.

Como se describen en la presente memoria descriptiva en algunas realizaciones, la manosa-1-fosfato de la presente descripción puede estar integrada en liposomas diseñados para una dirección a diana específica en el interior de las células, ER o aparato de Golgi. Se puede utilizar una estrategia quimioenzimática para la síntesis de oligosacáridos unidos a pirofosfato de dolicol (Wang Z. et al., Science, 2013, 341, 379-383 y Weerapana E. et al., J. Am. Chem. Soc., 2005, 127, 13766-13767). En algunas realizaciones, las preparaciones liposomales se pueden optimizar para cada compartimento de células dirigidas a diana como se describe por Torchilin V. et al., Curr. Protein Pept. Sci., 2003, 4, 133-140; Pollock S. et al., FASEB, 2010, 24, 1866-1878; Fujiwara T. et al., Int. J. Pharm., 2010, 386, 122-130; y documento WO 2009/118658 A2.

En otras realizaciones, la modificación estructural para un liposoma puede incluir, pero no se limita a, cadenas

de hemisuccinato de colestearilo (CH) y polietilenglicol (PEG). Como se describe en la presente memoria descriptiva, tales modificaciones pueden proteger a manosa-1-fosfato de la nanopartícula adaptada de la degradación y mejorarán la circulación y/o el tiempo de retención del agente farmacéutico en el cuerpo.

Consecuentemente, la presente descripción proporciona composiciones de lípidos que contienen una partícula de lípidos que comprende uno o más lípidos conjugados con polietilenglicol (PEG), en donde el PEG está presente en una concentración entre aproximadamente 0,5 por ciento molar y aproximadamente 20 por ciento molar; y manosa-1-fosfato encapsulados en la partícula de lípidos, donde las composiciones de lípidos son capaces de suministrar manosa-1-fosfato al interior de una célula. En algunas realizaciones, tales composiciones de lípidos que portan manosa-1-fosfato son útiles para tratar, prevenir o reducir el riesgo de un trastorno congénito de glicosilación (CDG) en un sujeto que lo necesita. En algunas realizaciones, la partícula de lípidos puede ser un liposoma, una micela, una nanopartícula de lípidos sólidos o un niosoma. En algunas realizaciones, la partícula de lípidos contiene una molécula que es capaz de minimizar la degradación de la partícula de lípidos y/o mejorar la retención de la partícula de lípidos cuando se administra a un sujeto y/o hace que la partícula de lípidos sea inmunotolerante cuando se administra a un sujeto. Como se expone en la presente memoria descriptiva, tales moléculas pueden salvaguardar o proteger de la degradación, de algún otro modo, la partícula de lípidos y la manosa-1-fosfato encapsulada de la presente descripción, y pueden mejorar también la permeabilidad celular, la circulación y/o el tiempo de retención de la partícula de lípidos, cuando la partícula de lípidos se administra a un sujeto que lo necesita. Adicionalmente, estas moléculas pueden permitir que la partícula de lípidos evite la detección del sistema inmune de un sujeto que lo necesita, al que se administra la partícula de lípidos y, como tales, son consideradas moléculas retadoras. Consecuentemente, en algunas realizaciones, la molécula es una molécula retadora que es capaz de inducir inmunotolerancia cuando se administra a un sujeto que lo necesita. La molécula adecuada es polietilenglicol (PEG).

Por tanto, en ciertos aspectos, la presente descripción proporciona una composición que contiene una partícula de lípidos que comprende uno o más lípidos conjugados con polietilenglicol (PEG), en donde el PEG está presente en una concentración entre aproximadamente 0,5 por ciento molar y aproximadamente 20 por ciento molar; y manosa-1-fosfato encapsulados en la partícula de lípidos, donde la partícula de lípidos contiene una molécula que es capaz de minimizar la degradación de la partícula de lípidos y/o mejorar la retención de la partícula de lípidos cuando se administra a un sujeto y/o hace que la partícula de lípidos sea inmunotolerante cuando se administra a un sujeto. La molécula es polietilenglicol (PEG).

En ciertos aspectos, la presente descripción proporciona una composición que contiene una partícula de lípidos que comprende uno o más lípidos conjugados con polietilenglicol (PEG), en donde el PEG está presente en una concentración entre aproximadamente 0,5 por ciento molar y aproximadamente 20 por ciento molar; y manosa-1-fosfato encapsulados en la partícula de lípidos, donde la partícula de lípidos comprende colina, etanolamina, glicerol, inositol o cualquier combinación de los mismos. La partícula de lípidos contiene una molécula que es capaz de minimizar la degradación de la partícula de lípidos y/o mejorar la retención de la partícula de lípidos cuando se administra a un sujeto y/o hace que la partícula de lípidos sea inmunotolerante cuando se administra a un sujeto. La molécula es polietilenglicol (PEG).

En ciertos aspectos, la presente descripción proporciona una composición que contiene un liposoma, que comprende uno o más lípidos conjugados con polietilenglicol (PEG), en donde el PEG está presente en una concentración entre aproximadamente 0,5 por ciento molar y aproximadamente 20 por ciento molar; y manosa-1-fosfato encapsulada en el liposoma, donde el liposoma comprende colesterol y fosfatidiletanolamina (PE) unida a polietilenglicol (PEG).

Adicionalmente, se proporcionan composiciones farmacéuticas que contienen una composición de lípidos que contienen manosa-1-fosfato de la presente invención en combinación con vehículos farmacéuticamente aceptables.

La presente descripción proporciona además una composición de lípidos, que contienen manosa-1-fosfato de la presente descripción, para usar en un método para administrar manosa-1-fosfato al interior de las células de un sujeto que lo necesita. La presente descripción proporciona además una composición de lípidos que contienen manosa-1-fosfato de la presente descripción para usar en un método para tratar, prevenir o reducir el riesgo de un trastorno congénito de glicosilación (CDG) en un sujeto que lo necesita.

Partículas de lípidos

Ciertos aspectos de la presente invención se refieren a composiciones que contienen partículas de lípidos que contienen manosa-1-fosfato encapsulada en la partícula de lípidos.

Como se usa en la presente memoria descriptiva, la expresión “partícula de lípidos” se refiere a partículas formadas por lípidos en una disolución acuosa. Ejemplos adecuados de partículas de lípidos incluyen, pero no se limitan a, liposomas, micelas, nanopartículas de lípidos sólidos, niosomas, lisosferas, emulsomas y emulsiones.

Como se usa en la presente memoria descriptiva, un hidrato de carbono que está "encapsulado" en una partícula de lípidos se refiere a una partícula de lípidos que proporciona un agente activo o agente terapéutico, como un hidrato de carbono de la presente descripción, con encapsulación completa, encapsulación parcial o ambas. En algunas variantes, al menos una parte del hidrato de carbono puede estar "encapsulado" por una partícula de lípidos y ubicado en el núcleo de la partícula de lípidos y/o en la superficie interna (por ejemplo, la membrana de una partícula de lípidos). Alternativamente, en otras variantes, la totalidad del hidrato de carbono puede estar "encapsulado" por una partícula de lípidos y ubicado en el núcleo de una partícula de lípidos y/o en la superficie interna (por ejemplo, la membrana) de una partícula de lípidos.

Se puede usar cualquier partícula de lípidos conocida en la técnica que sea adecuada para suministrar un hidrato de carbono encapsulado de la presente descripción al interior de una célula. Ejemplos de partículas de lípidos adecuadas incluyen, sin limitarse a, liposomas, micelas, nanopartículas de lípidos sólidos y niosomas.

En algunas realizaciones, las partículas de lípidos de la presente descripción tienen un tamaño medio de partículas que varía en el intervalo de aproximadamente 0,02 micrómetros de diámetro hasta aproximadamente 0,5 micrómetros de diámetro. En ciertas realizaciones, las partículas de lípidos de la presente descripción tienen un tamaño medio de partículas de aproximadamente 0,02 micrómetros de diámetro, aproximadamente 0,03 micrómetros de diámetros, aproximadamente 0,04 micrómetros de diámetro, aproximadamente 0,05 micrómetros de diámetro, aproximadamente 0,06 micrómetros de diámetro, aproximadamente 0,07 micrómetros de diámetro, aproximadamente 0,08 micrómetros de diámetro, aproximadamente 0,09 micrómetros de diámetro, aproximadamente 0,10 micrómetros de diámetro, aproximadamente 0,15 micrómetros de diámetro, aproximadamente 0,20 micrómetros de diámetro, aproximadamente 0,25 micrómetros de diámetro, aproximadamente 0,30 micrómetros de diámetro, aproximadamente 0,35 micrómetros de diámetro, aproximadamente 0,40 micrómetros de diámetro, aproximadamente 0,45 micrómetros de diámetro o aproximadamente 0,50 micrómetros de diámetro.

En algunas realizaciones, las partículas de lípidos de la presente descripción son capaces de suministrar manosa-1-fosfato al interior de una célula, como al citoplasma, retículo endoplásmico o aparato de Golgi.

En algunas realizaciones, las partículas de lípidos de la presente descripción pueden estar optimizadas para dirigir a diana a orgánulos particulares en una célula que incluye, sin limitarse a, retículo endoplásmico (ER), aparato de Golgi y lisosoma. En algunas realizaciones, las partículas de lípidos de la presente descripción pueden estar optimizadas para ser dirigidas a diana a tejidos y/o órganos particulares en un sujeto. Los métodos para optimizar las partículas de lípidos para ser dirigidas diana a orgánulos, tejidos y órganos específicos son bien conocidos en la técnica (por ejemplo, Torchilin V. et al., Curr. Protein Pept. Sci., 2003, 4, 133-140; Torchilin V. et al., J. Drug Target., 2011, 19, 606-614; Huwyler J. et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 1997, 282: 1541-1546; Pollock S. et al., FASEB, 2010, 24, 1866-1878; Fujiwara T. et al., Int. J. Pharm., 2010, 386, 122-130; y documento WO 2009/118658).

En algunas realizaciones, las partículas de lípidos de la presente descripción contienen manosa-1-fosfato que, cuando se suministra al interior de las células de un sujeto (que incluye, por ejemplo, un ser humano) que lo necesita, puede inducir al menos un aumento de 0,05 veces hasta al menos 10 veces en la producción celular de oligosacáridos unidos a lípidos de orden superior, en comparación con la producción celular de oligosacáridos unidos a lípidos de orden superior en ausencia de partículas de lípidos de la presente descripción que contienen manosa-1-fosfato. En algunas realizaciones, las partículas de lípidos proporcionadas en la presente memoria descriptiva, cuando se administran a un sujeto (que incluye, por ejemplo, un ser humano) que lo necesita, pueden inducir un aumento de al menos 0,05 veces, al menos 0,1 veces, al menos 0,2 veces, al menos 0,3 veces, al menos 0,4 veces, al menos 0,5 veces, al menos 0,6 veces, al menos 0,7 veces, al menos 0,8 veces, al menos 0,9 veces, al menos 1 vez, al menos 1,5 veces, al menos 2 veces, al menos 2,5 veces, al menos 3 veces, al menos 3,5 veces, al menos 4 veces, al menos 4,5 veces, al 5 veces, al 5,5 veces, al menos 6 veces, al menos 6,5 veces, al menos 7 veces, al menos 7,5 veces, al menos 8 veces, al menos 8,5 veces, al menos 9 veces, al menos 9,5 veces o al menos 10 veces en la producción celular de oligosacáridos unidos a lípidos de orden superior en el sujeto, en comparación con la producción celular de oligosacáridos unidos a lípidos de orden superior en el sujeto en ausencia de la administración de estas partículas de lípidos al sujeto.

Como se usa en la presente memoria descriptiva, un "oligosacárido unido a lípidos de orden superior" se refiere a un oligosacárido que tiene al menos cinco subunidades de monosacáridos y que está unido a un lípido. Por ejemplo, un oligosacárido unido de orden superior se puede referir a un oligosacárido que contiene al menos cuatro subunidades de manosa (Man 4), cinco subunidades de manosa (Man 5), seis subunidades de manosa (Man 6), siete subunidades de manosa (Man 7), ocho subunidades de manosa (Man 8) o nueve subunidades de manosa (Man 9) y un N-acetilglucosamina-disacárido (GlcNAc2), en que que el oligosacárido está unido a un dolicol. En algunas realizaciones, los oligosacáridos unidos a lípidos de orden superior pueden incluir una parte del oligosacárido que incluye Man4GlcNAc2, Man5GlcNAc2, Man6GlcNAc2, Man7GlcNAc2, Man8GlcNAc2, Man8GlcNAc2, o cualquier combinación de los mismos.

Liposomas

En algunas realizaciones, una partícula de lípidos de la presente descripción puede ser un liposoma. Como se usa en la presente memoria descriptiva, un "liposoma" se refiere a una vesícula compuesta por una bicapa de lípidos de fase laminar. Puede ser usado cualquier liposoma conocido en la técnica. En algunas realizaciones, el liposoma tiene una nanoestructura laminar. Como se usa en la presente memoria descriptiva, la expresión "nanoestructura laminar" se refiere a una nanoestructura, como una partícula de lípidos, que incluye bicapas anfifílicas paralelas separadas por un lumen.

Los liposomas de la presente descripción se pueden preparar mediante cualquier método adecuado conocido en la técnica y descrito en la presente memoria descriptiva. Ejemplos de métodos adecuados para preparar liposomas incluyen, sin limitarse a, desmantelar membranas biológicas, como mediante una dispersión mecánica que incluye ultrasonidos, hidratación de películas finas, emulsiones, celda de presión francesa, extrusión y reconstitución de vesículas secadas; dispersión en disolventes que incluyen inyección en etanol, inyección en éter, emulsión doble, fase inversa y vaporización; y métodos de eliminación en detergentes.

En ciertas realizaciones, el liposoma puede ser un liposoma retador que puede ser inmunotolerante. Como se usa en la presente memoria descriptiva, la expresión "liposoma retador" se refiere a liposomas que son capaces de evitar la detección por medio del sistema inmune de un sujeto. Como tal, un liposoma retador puede ser inmunotolerante. Por ejemplo, el sujeto puede ser un ser humano.

Micelas

En algunas realizaciones, una partícula de lípidos de la presente descripción puede ser una micela. Como se usa en la presente memoria descriptiva, una "micela" se refiere a un agregado de moléculas de tensioactivos (por ejemplo, jabones, detergentes, ácidos grasos, lípidos, fosfolípidos, etc.) que está dispersado en un coloide líquido. Una micela en suspensión acuosa puede formar un agregado con zonas de cabeza hidrófilas en contacto con el disolvente circundante, secuestrando las zonas de cola hidrófobas en el interior de la micela. Se puede usar cualquier micela adecuada conocida en la técnica. En algunas realizaciones, las micelas pueden ser esféricas. Las micelas de la presente descripción se pueden preparar mediante cualquier método adecuado conocido den la técnica. Ejemplos de métodos adecuados para preparar micelas incluyen, sin limitarse a, disolución directa y diálisis directa o microemulsión, que pueden abarcar una preparación mediante métodos de eliminación en disolventes detergentes o miscibles con agua.

Nanopartículas de lípidos sólidos

En algunas realizaciones, una partícula de lípidos de la presente descripción puede ser una nanopartícula de lípidos sólidos. Como se usa en la presente memoria descriptiva, una "nanopartícula de lípidos sólidos" (SLN) se refiere a emulsiones de lípidos en agua compuestas por lípidos que son generalmente sólidos a temperaturas de al menos 50º C y, normalmente, contienen una matriz de núcleo de lípidos sólidos que puede solubilizar moléculas lipófilas. En algunas variantes, las nanopartículas de lípidos sólidos tienen un diámetro en el intervalo de 10 a 1000 nanómetros. Las nanopartículas de lípidos sólidos pueden proteger compuestos activos incorporados, como manosa-1-fosfato, contra la degradación química y pueden demostrar también flexibilidad para modular la liberación de estos compuestos. El núcleo de lípidos de las nanopartículas de lípidos sólidos puede ser estabilizado mediante tensioactivos (por ejemplo, emulsionantes). El lípido puede incluir normalmente triglicéridos, diglicéridos, monoglicéridos, ácidos grasos, esteroides y/o ceras. Se puede usar cualquier nanopartícula de lípidos sólidos adecuada conocida en la técnica. Las nanopartículas de lípidos sólidos de la presente descripción se pueden preparar mediante cualquier método adecuado conocido en la técnica. Ejemplos de métodos adecuados para preparar nanopartículas de lípidos sólidos incluyen, sin limitarse a, microemulsión, homogeneización a presión elevada, precipitación y dispersión con ultrasonidos en películas.

Niosomas

En algunas realizaciones, una partícula de lípidos de la presente descripción puede ser un niosoma. Como se usa en la presente memoria descriptiva, un "niosoma" se refiere a una estructura vesicular formada por una bicapa de moléculas de tensioactivos no iónicos y que contiene un núcleo acuoso. Los niosomas son estructuralmente análogos a los liposomas por tener una estructura laminar, sin embargo, los materiales usados para preparar niosomas los hacen más estables contra la degradación hidrolítica. Ejemplos de materiales de preparación de niosomas adecuados incluyen, sin limitarse a, esteroles y uno o más tensioactivos no iónicos. Se puede usar cualquier niosoma adecuado conocido en la técnica. Los niosomas de la presente descripción se pueden preparar mediante cualquier método adecuado conocido en la técnica. Ejemplos de métodos adecuados para preparar micelas incluyen, sin limitarse a, inyección de éter, agitación, método de burbujas, evaporación en fase inversa, ultrasonidos, extrusión de membranas múltiples y microfluidización.

Componentes de las partículas de lípidos

Las partículas de lípidos de la presente descripción (por ejemplo, liposomas, micelas, nanopartículas de lípidos sólidos y niosomas) contienen uno o más lípidos. Como se usa en la presente memoria descriptiva, el término "lípido" se refiere a una sustancia de origen biológico o sintético que es soluble o parcialmente soluble en disolventes orgánicos o que forma particiones en un entorno hidrófobo cuando está presente en fase acuosa. En algunas variantes, los lípidos se pueden dividir en al menos tres clases: (1) "lípidos simples" que incluyen, sin limitarse a, grasas, aceites y ceras; (2) "lípidos de compuestos" que incluyen, sin limitarse a, fosfolípidos y glicolípidos y (3) "lípidos derivados" que incluyen, sin limitarse a, esteroides.

En algunas variantes, el lípido puede ser un lípido neutro o un lípido anfifílico. Como se usa en la presente memoria descriptiva, la expresión "lípido neutro" se refiere a un lípido que existe en una forma inalterada o de iones híbridos neutra a un pH seleccionado. A un pH fisiológico, estos lípidos pueden incluir, por ejemplo, diacilfosfatidilcolina, diacilfosfatidiletanolamina, ceramida, esfingomielina, cefalina, colesterol, cerebrósidos y diacilgliceroles. Como se usa en la presente memoria descriptiva, la expresión "lípido anfifílico" se refiere a un lípido que contiene grupos tanto grupos polares solubles en agua como grupos no polares insolubles en agua.

Ejemplos de lípidos adecuados incluyen, sin limitarse a, lípidos formadores de bicapas, lípidos no formadores de bicapas, lípidos anfifílicos, lípidos que se producen de forma natural, fosfolípidos, glicerolípidos, esfingolípidos, fosfatidilglicerol, ácido fosfatídico, lisolípidos, ácidos grasos, esfingomielina, glicoesfingolípidos, glucolípidos, glicolípidos, sulfátidos, lípidos con unión a éter y ácidos grasos con uniones a éster, lípidos polimerizables, lípidos sintéticos y lípidos semisintéticos. Los lípidos sintéticos o semisintéticos pueden ser producidos mediante desacetilación o reacilación de lípidos naturales. Las características adecuadas de los lípidos sintéticos y semisintéticos incluyen, sin limitarse a, ácidos grasos de miristoilo, palmitoilo y estearoilo. En algunas realizaciones, las partículas de lípidos de la presente descripción pueden contener una mezcla de dos o más tipos de lípidos. Esta mezcla puede estar presente en cualquier relación que sea adecuada para encapsular manosa-1-fosfato y suministrar tal manosa-1-fosfato al interior de la célula. En algunas realizaciones, las partículas de lípidos de la presente descripción pueden contener un lípido seleccionado entre un fosfolípido, un glicerolípido, un esfingolípido y cualquier combinación de los mismos. Como se describe en la presente memoria descriptiva, este lípido tiene un grupo de cabeza polar y una cola de ácido graso que pueden estar unidos, por ejemplo, mediante un enlace de éster o un enlace de éter.

En algunas realizaciones, las partículas de lípidos de la presente descripción (por ejemplo, liposomas, micelas, nanopartículas de lípidos sólidos y niosomas) pueden contener uno o más lípidos que tienen grupos de cabeza polares. Los lípidos pueden contener cualquier grupo de cabeza polar adecuado conocido en la técnica. Ejemplos de grupos de cabeza polares adecuados incluyen, sin limitarse a, colina, etanolamina, serina, glicerol, inositol y cualquier combinación de los mismos.

En algunas realizaciones, las partículas de lípidos de la presente descripción (por ejemplo, liposomas, micelas, nanopartículas de lípidos sólidos y niosomas) pueden ser sin limitarse a, nanoestructuras laminares que contienen un lípido anfifílico. Ejemplos de lípidos anfifílico adecuados incluyen, sin limitarse a, fosfolípidos, colesterol, glicolípidos, ácidos grasos, ácidos biliares, saponinas y tensioactivos.

En algunas realizaciones, las partículas de lípidos de la presente descripción (por ejemplo, liposomas, micelas, nanopartículas de lípidos sólidos y niosomas) pueden contener uno o más fosfolípidos. Las partículas de lípidos de la presente descripción pueden contener cualquier fosfolípido adecuado conocido en la técnica. Ejemplos de fosfolípidos adecuados incluyen, sin limitarse a, fosfatidilcolina (PC), fosfatidiletanolamina (PE), fosfatidilserina (PS), fosfatidilglicerol (PG), fosfatidilinositol (PI) y cualquier combinación de los mismos. En algunas realizaciones, las partículas de lípidos de la presente descripción pueden contener fosfatidilcolina (PC). En algunas realizaciones, las partículas de lípidos de la presente descripción pueden contener fosfatidiletanolamina (PE). En ciertas realizaciones, las partículas de lípidos de la presente descripción pueden contener fosfatidilcolina (PC) y fosfatidiletanolamina (PE).

En algunas realizaciones, una especie de fosfolípido de la presente descripción puede estar presente en una partícula de lípidos de la presente descripción (por ejemplo, liposomas, micelas, nanopartículas de lípidos sólidos y niosomas) a una concentración hasta 80 por ciento en moles. En ciertas realizaciones, un fosfolípido de la presente descripción puede estar presente en una partícula de lípidos de la presente descripción a una concentración hasta 5 por ciento en moles, hasta 10 por ciento en moles, hasta 20 por ciento en moles, hasta 30 por ciento en moles, hasta 40 por ciento en moles, hasta 50 por ciento en moles, hasta 60 por ciento en moles, hasta 70 por ciento en moles o hasta 80 por ciento en moles. En ciertas realizaciones, un fosfolípido de la presente descripción puede estar presente en una partícula de lípidos de la presente descripción a una concentración de aproximadamente 70 por ciento en moles.

Una partícula de lípidos de la presente descripción (por ejemplo, liposomas, micelas, nanopartículas de lípidos sólidos y niosomas) puede ser modificada, por ejemplo para que incluya una molécula, tal como una molécula retadora, que salvaguarda o protege de algún otro modo la manosa-1-fosfato encapsulada de la degradación,

y que mejora la permeabilidad celular, la circulación y/o el tiempo de retención de la composición de lípidos que contiene manosa-1-fosfato en una célula, tejido, órgano y/o cuerpo de un sujeto al que se administra la composición de lípidos que contiene manosa-1-fosfato. Aunque no se desean vinculaciones teóricas, una partícula de lípidos de la presente descripción aumenta enormemente la permeabilidad celular de los hidratos de carbono, que de otra forma son incapaces de atravesar la membrana plasmática. Consecuentemente, en algunas realizaciones, una partícula de lípidos de la presente descripción incluye una molécula que es capaz de minimizar la degradación de la partícula de lípidos y/o mejorar la retención de la partícula de lípidos cuando se administra a un sujeto y/o hace que la partícula de lípidos sea inmunotolerante cuando se administra a un sujeto. La molécula es polietilenglicol (PEG). Como se usa en esta memoria descriptiva, el término "lípido neutro PEGilado" se refiere a un lípido neutro, a un pH seleccionado, con el cual se ha conjugado un polietilenglicol.

Como se usa en la presente memoria descriptiva, los términos "óxido de etileno", "oxirano", "epoxietano", "óxido de dimetileno" y "oxaciclopropano" se pueden usar de forma intercambiable y hacen referencia a un éter cíclico que tiene la fórmula C_2H_4O.

Como se usan en la presente memoria descriptiva, los términos "polietilenglicol" "PEG", "poli(óxido de etileno)", "PEO", "polioxietileno" y "POE" se pueden usar de forma intercambiable y hacen referencia a un compuesto de poliéter que está compuesto por dos o más subunidades de óxido de etileno. "Polietilenglicol" puede estar compuesto por oligómeros de óxido de etileno (por ejemplo, que tiene de dos a nueve subunidades de monómeros de óxido de etileno) o polímeros de óxido de etileno (por ejemplo, que tienen diez o más de nueve subunidades de monómeros de óxido de etileno).

La partícula de lípidos de la presente descripción es modificada para que incluya uno o más lípidos conjugados con polietilenglicol (PEG) con el fin de permitir que la partícula de lípidos evite la detección por el sistema inmune de un sujeto al que se administra la partícula de lípidos. En algunas realizaciones, una partícula de lípidos de la presente descripción (por ejemplo, liposomas, micelas, nanopartículas de lípidos sólidos y niosomas) aumenta la permeabilidad celular de los hidratos de carbono hidrófobos, tales como manosa-1-fosfato que, de otra forma, son incapaces de pasar a través de la membrana celular por sí mismos.

Por consiguiente, las partículas de lípidos de la presente descripción contienen polietilenglicol (PEG). Aunque no se desean vinculaciones teóricas, estas modificaciones pueden salvaguardar las partículas de líquidos de la opsonización.

El polietilenglicol (PEG) está presente en una partícula de lípidos de la presente descripción (por ejemplo, liposomas, micelas, nanopartículas de lípidos sólidos y niosomas) a una concentración que varía en el intervalo de aproximadamente 0,5 por ciento en moles a 20 por ciento en moles. En algunas realizaciones, el PEG puede estar presente en una partícula de lípidos de la presente descripción (por ejemplo, liposomas, micelas, nanopartículas de lípidos sólidos y niosomas) a una concentración de aproximadamente 0,5 por ciento en moles, aproximadamente 1 por ciento en moles, aproximadamente 2 por ciento en moles, aproximadamente 3 por ciento en moles, aproximadamente 4 por ciento en moles, aproximadamente 5 por ciento en moles, aproximadamente 6 por ciento en moles, aproximadamente 7 por ciento en moles, aproximadamente 8 por ciento en moles, aproximadamente 9 por ciento en moles, aproximadamente 10 por ciento en moles, aproximadamente 11 por ciento en moles, aproximadamente 12 por ciento en moles, aproximadamente 13 por ciento en moles, aproximadamente 14 por ciento en moles, aproximadamente 15 por ciento en moles, aproximadamente 16 por ciento en moles, aproximadamente 17 por ciento en moles, aproximadamente 18 por ciento en moles, aproximadamente 19 por ciento en moles o aproximadamente 20 por ciento en moles.

En algunas realizaciones, el polietilenglicol (PEG) puede estar presente en una partícula de lípidos de la presente descripción (por ejemplo, liposomas, micelas, nanopartículas de lípidos sólidos y niosomas) a una concentración en peso molecular que varía en el intervalo de 200 Da a aproximadamente 10.000 Da. En algunas realizaciones, el polietilenglicol (PEG) puede estar presente en una partícula de lípidos de la presente descripción (por ejemplo, liposomas, micelas, nanopartículas de lípidos sólidos y niosomas) a una concentración de peso molecular de aproximadamente 200 Da, aproximadamente 300 Da, aproximadamente 400 Da, aproximadamente 500 Da, aproximadamente 600 Da, aproximadamente 700 Da, aproximadamente 800 Da, aproximadamente 900 Da, aproximadamente 1000 Da, aproximadamente 1500 Da, aproximadamente 2000 Da, aproximadamente 2500 Da, aproximadamente 3000 Da, aproximadamente 3500 Da, aproximadamente 4000 Da, aproximadamente 4500 Da, aproximadamente 5000 Da, aproximadamente 5500 Da, aproximadamente 6000 Da, aproximadamente 6500 Da, aproximadamente 7000 Da, aproximadamente 7500 Da, aproximadamente 8000 Da, aproximadamente 8500 Da, aproximadamente 9000 Da, aproximadamente 9500 Da o aproximadamente 10.000 Da.

En algunas realizaciones, la partícula de lípidos de la presente descripción (por ejemplo, liposomas, micelas, nanopartículas de lípidos sólidos y niosomas) contiene PEG conjugado con un fosfolípido de la presente descripción. El PEG puede estar conjugado con uno o más de fosfatidilcolina (PC), fosfatidiletanolamina (PE), fosfatidilserina (PS), fosfatidilglicerol (PG), fosfatidilinositol (PI) y cualquier combinación de los mismos. En ciertas realizaciones, las partículas de lípidos de la presente descripción pueden contener PEG conjugado con

fosfatidilcolina (PC). En ciertas realizaciones, las partículas de lípidos de la presente descripción pueden contener PEG conjugado con fosfatidiletanolamina (PE).

En algunas realizaciones, un fosfolípido conjugado con polietilenglicol (PEG) puede estar presente en una partícula de lípidos de la presente descripción (por ejemplo, liposomas, micelas, nanopartículas de lípidos sólidos y niosomas) a una concentración que varía en el intervalo de aproximadamente 0,5 por ciento en moles a aproximadamente 20 por ciento en moles. En algunas realizaciones, un fosfolípido conjugado con polietilenglicol (PEG) puede estar presente en una partícula de lípidos de la presente descripción (por ejemplo, liposomas, micelas, nanopartículas de lípidos sólidos y niosomas) a una concentración de aproximadamente 0,5 por ciento en moles, aproximadamente 1 por ciento en moles, aproximadamente 2 por ciento en moles, aproximadamente 3 por ciento en moles, aproximadamente 4 por ciento en moles, aproximadamente 5 por ciento en moles, aproximadamente 6 por ciento en moles, aproximadamente 7 por ciento en moles, aproximadamente 8 por ciento en moles, aproximadamente 9 por ciento en moles, aproximadamente 10 por ciento en moles, aproximadamente 11 por ciento en moles, aproximadamente 12 por ciento en moles, aproximadamente 13 por ciento en moles, aproximadamente 14 por ciento en moles, aproximadamente 15 por ciento en moles, aproximadamente 16 por ciento en moles, aproximadamente 17 por ciento en moles, aproximadamente 18 por ciento en moles, aproximadamente 19 por ciento en moles, aproximadamente 20 por ciento en moles. En ciertas realizaciones, un fosfolípido conjugado con polietilenglicol (PEG) puede estar presente en una partícula de lípidos de la presente descripción a una concentración de aproximadamente 2 por ciento en moles.

En algunas realizaciones, las partículas de lípidos de la presente descripción (por ejemplo, liposomas, micelas, nanopartículas de lípidos sólidos y niosomas) pueden contener uno o más esteroles. Ejemplos de fosfolípidos adecuados incluyen, sin limitarse a colesterol y hemisuccinato de colesterilo (CH), fosfato de dicetilo y Solulan C24.

En algunas realizaciones, un esterol de la presente descripción, como colesterol, puede estar presente en una partícula de lípidos de la presente descripción (por ejemplo, liposomas, micelas, nanopartículas de lípidos sólidos y niosomas) a una concentración hasta 40 por ciento en moles. En algunas realizaciones, un esterol de la presente descripción, como colesterol, puede estar presente en una partícula de lípidos de la presente descripción (por ejemplo, liposomas, micelas, nanopartículas de lípidos sólidos y niosomas) a una concentración hasta 5 por ciento en moles, hasta 10 por ciento en moles, hasta 15 por ciento en moles, hasta 20 por ciento en moles, hasta 30 por ciento en moles o hasta 40 por ciento en moles. En ciertas realizaciones, un esterol de la presente descripción, como colesterol, puede estar presente en una partícula de lípidos de la presente descripción a una concentración como máximo de 15 por ciento en moles. En algunas realizaciones, un esterol de la presente descripción, como colesterol, puede estar presente en una partícula de lípidos de la presente descripción (por ejemplo, liposomas, micelas, nanopartículas de lípidos sólidos y niosomas) a una relación en moles de 1:1 o 2:1.

En algunas realizaciones, las partículas de lípidos de la presente descripción (por ejemplo, liposomas, micelas, nanopartículas de lípidos sólidos y niosomas) puede contener uno o más ácidos grasos. En algunas realizaciones, los ácidos grasos de la presente descripción pueden tener una cadena carbonada que varía en el intervalo de longitud de aproximadamente 14 átomos de carbono hasta aproximadamente 18 átomos de carbono.

En algunas realizaciones, las partículas de lípidos de la presente descripción (por ejemplo, liposomas, micelas, nanopartículas de lípidos sólidos y niosomas puede contener uno o más lípidos neutros. En ciertas realizaciones, un lípido neutro de la presente descripción puede estar PEGilado (es decir, conjugado con PEG). En algunas realizaciones, un lípido neutro PEGilado de la presente descripción puede estar presente en una partícula de lípidos de la presente descripción a una concentración que varía en el intervalo de aproximadamente 0,2 por ciento en moles a aproximadamente 20 por ciento en moles. En algunas realizaciones, un lípido neutro de la presente descripción puede estar PEGilado (es decir, conjugado con PEG). En algunas realizaciones, un lípido PEGilado de la presente descripción puede estar presente en una partícula de lípidos de la presente descripción a una concentración de aproximadamente 0,5 por ciento en moles, aproximadamente 1 por ciento en moles, aproximadamente 2 por ciento en moles, aproximadamente 3 por ciento en moles, aproximadamente 4 por ciento en moles, aproximadamente 5 por ciento en moles, aproximadamente 6 por ciento en moles, aproximadamente 7 por ciento en moles, aproximadamente 8 por ciento en moles, aproximadamente 9 por ciento en moles, aproximadamente 10 por ciento en moles, aproximadamente 11 por ciento en moles, aproximadamente 12 por ciento en moles, aproximadamente 13 por ciento en moles, aproximadamente 14 por ciento en moles, aproximadamente 15 por ciento en moles, aproximadamente 16 por ciento en moles, aproximadamente 17 por ciento en moles, aproximadamente 18 por ciento en moles, aproximadamente 19 por ciento en moles o aproximadamente 20 por ciento en moles.

En algunas realizaciones, las partículas de lípidos de la presente descripción (por ejemplo, liposomas, micelas, nanopartículas de lípidos sólidos y niosomas) puede ser modificada para dirigirse a diana a orgánulos y/o tejidos específicos. Puede ser usado cualquier método adecuado conocido en la técnica para dirigir a diana una partícula de lípidos a un orgánulo y/o tejido. Ejemplos específicos incluyen, sin limitarse a, la modificación del material usado para la preparación de la propia partícula de lípidos (por ejemplo, usando mezclas y

relaciones en moles distintos de fosfolípidos como PC, PS, PI y PE), unión covalente a un conector (por ejemplo, cadenas de péptidos como cadenas de poliarginina y octadecil-rodamina B) a la superficie de la partícula de lípidos o una modificación de anticuerpos. Por ejemplo, la modificación con octadecil-rodamina B puede dirigir a diana una partícula de lípidos al lisosoma de células. En algunas realizaciones, las partículas de lípidos de la presente descripción (por ejemplo, liposomas, micelas, nanopartículas de lípidos sólidos y niosomas) pueden ser liposomas conjugados con anticuerpos o inmunoliposomas, que pueden ser usados para dirigir manosa-1-fosfato encapsulada a los tejidos y/o órganos enfermos.

Hidratos de carbono

Otros aspectos de la presente descripción se refieren a composiciones que contienen manosa-1-fosfato encapsulada en una partícula de lípidos de la presente descripción (por ejemplo, liposomas, micelas, nanopartículas de lípidos sólidos y niosomas).

En algunas realizaciones, la manosa-1-fosfato puede estar presente en una partícula de lípidos de la presente descripción a una concentración que varía en el intervalo de aproximadamente 0,10 mg por ml de partículas de lípidos hasta aproximadamente 10 mg por ml de partícula de lípido. En algunas realizaciones, la manosa-1-fosfato puede estar presente en la partícula de lípidos de la presente descripción a una concentración de aproximadamente 0,10 mg por ml de partícula de lípidos, aproximadamente 0,20 mg por ml de partícula de lípidos, aproximadamente 0,30 mg por ml de partícula de lípidos, aproximadamente 0,40 mg por ml de partícula de lípidos, aproximadamente 0,50 mg por ml de partícula de lípidos, aproximadamente 0,60 por ml de partícula de lípidos, aproximadamente 0,70 mg por ml de partícula de lípidos, aproximadamente 0,80 mg por ml de partícula de lípidos, aproximadamente 0,90 mg por ml de partícula de lípidos, aproximadamente 1 mg por ml de partícula de lípidos, aproximadamente 1,50 mg por ml de partícula de lípidos, aproximadamente 2 mg por ml de partícula de lípidos, aproximadamente 2,50 mg por ml de partícula de lípidos, aproximadamente 3 mg por ml de partícula de lípidos, aproximadamente 3,50 mg por ml de partícula de lípidos, aproximadamente 4 mg por ml de partícula de lípidos, aproximadamente 4,50 mg por ml de partícula de lípidos, aproximadamente 5 mg por ml de partícula de lípidos 5,50 mg por ml de partícula de lípidos, aproximadamente 6 mg por ml de partícula de lípidos, 6,50 mg por ml de partícula de lípidos, aproximadamente 7 mg por ml de partícula de lípidos, 7,50 mg por ml de partícula de lípidos, aproximadamente 8 mg por ml de partícula de lípidos, 8,50 mg por ml de partícula de lípidos, aproximadamente 9 mg por ml de partícula de lípidos, aproximadamente 9,50 mg por ml de partícula de lípidos o aproximadamente 10 mg por ml de partícula de lípidos. En ciertas realizaciones, la manosa-1-fosfato puede estar presente en una partícula de lípidos de la presente descripción a una concentración de aproximadamente 1 mg por ml de partícula de lípidos.

Manosa-1-fosfato es un hidrato de carbono endógeno. Como se usa en la presente memoria descriptiva, "hidrato de carbono endógeno" se refiere a un hidrato de carbono que se encuentra como un producto natural en un sujeto (incluido, por ejemplo, un ser humano). Sin embargo, debe entenderse que un hidrato de carbono endógeno puede ser (i) producido de forma natural por un sujeto (que incluye, por ejemplo, un ser humano) y extraído de las células vivas de este sujeto o (ii) sintéticamente preparado. En algunas realizaciones, el hidrato de carbono endógeno es producido *in vivo* por un sujeto (que incluye, por ejemplo, un ser humano). En otras realizaciones, el hidrato de carbono endógeno es producido de forma natural por una célula derivada de un sujeto (incluido, por ejemplo, un ser humano), como una línea celular cultivada. Por tanto, la fuente de estos hidratos de carbono endógenos puede incluir, sin limitarse a, una fuente sintética (por ejemplo, síntesis química) o una fuente natural (por ejemplo, extracción, aislamiento o purificación a partir de un sujeto o una célula que produce de forma natural el hidrato de carbono endógeno o una célula recombinante, como una célula bacteriana, que ha sido tratada por ingeniería genética para producir el hidrato de carbono endógeno. Ejemplos de hidratos de carbono endógenos pueden incluir, sin limitarse a, hidratos de carbono implicados en la glicosilación de proteínas y lípidos.

En otras realizaciones no reivindicadas, el hidrato de carbono es un oligosacárido unido a dolicol-pirofosfato, Glc3Man9GlcNAc2-PP-Dol, donde Glc = glucosa, Man = manosa, GlcNAc = N-acetilglucosamina, P = fosfato, y Dol = dolicol, con una longitud de cadena que incluye, pero no se limita a, 14-18 unidades de isopreno. Se puede usar cualquier método adecuado conocido en la técnica para preparar oligosacáridos unidos a dolicol-pirofosfato. En un ejemplo, se puede usar una estrategia quimioenzimática para sintetizar un oligosacárido unido a dolicol-pirofosfato (p. ej., Wang Z. et al., Science, 2013, 341, 379-383 y Weerapana E. et al., J. Am. Chem. Soc., 2005, 127, 13766-13767).

Otros aspectos no reivindicados de la presente descripción se refieren a composiciones que contienen glicolípidos encapsulados en una partícula de lípidos de la presente descripción. Se puede usar cualquier glicolípido adecuado conocido en la técnica. Los glicolípidos incluyen, sin limitarse a, lípidos e hidratos de carbono de cualquier clase y peso molecular.

En algunas realizaciones, la manosa-1-fosfato puede estar integrada en partículas de lípidos de la presente descripción como liposomas, que pueden estar diseñados para ser dirigidos a diana de forma específica al interior de la célula, el ER de una célula o el aparato de Golgi de una célula.

Composiciones farmacéuticas

Las composiciones de la presente descripción que contienen una partícula de lípidos de la presente descripción y manosa-1-fosfato, encapsulada en la partícula de lípidos, pueden ser incorporados en distintas formulaciones para un uso terapéutico (por ejemplo, mediante administración) o en la fabricación de un medicamento (por ejemplo, para suministrar manosa-1-fosfato a un sujeto que lo necesita y/o al interior de las células de un sujeto que lo necesita y/o para tratar o prevenir una enfermedad o trastorno como un trastorno congénito de glicosilación (CDG) en un sujeto que lo necesita) combinando la composición con vehículos apropiados (que incluyen, por ejemplo, vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables) y pueden ser formuladas, sin limitarse a, como preparaciones en forma líquida, de aerosol, semisólida o en polvo.

"Vehículos", como se usa en la presente memoria descriptiva, incluye vehículos, excipientes o estabilizadores farmacéuticamente aceptables que sean no tóxicos para la célula o sujeto que se expone a los mismos a las dosificaciones y concentraciones empleadas. A menudo, el vehículo fisiológicamente aceptable es una disolución acuosa con pH tamponado. Ejemplos de vehículos fisiológicamente aceptables, incluyen, sin limitarse a, tampones como fosfato, citrato, y otros ácidos orgánicos; antioxidantes que incluyen ácido ascórbico; polipéptidos de bajo peso molecular (menos de aproximadamente 10 residuos); proteínas, como albúmina de suero, gelatina o inmunoglobulinas, polímeros hidrófilos como polivinilpirrolidona; aminoácidos como glicina, glutamina, asparagina, arginina o lisina; monosacáridos, disacáridos y otros hidratos de carbono que incluyen glucosa, manosa o dextrinas; agentes quelantes como EDTA; alcoholes de azúcares como manitol o sorbitol; contraiones formadores de sales como sodio; y/o tensioactivos no iónicos como TWEEN®, polietilenglicol (PEG) y PLURONICS®.

Ejemplos de formulaciones adecuadas incluyen, sin limitarse a, disoluciones, inyecciones, inhalantes, microesferas, aerosoles, geles, ungüentos, cremas, lociones, polvos, polvos vesiculares secos, comprimidos y cápsulas. Las composiciones farmacéuticas pueden incluir, dependiendo de la formulación deseada, vehículos no tóxicos farmacéuticamente aceptables de diluyentes, que son vehículos comúnmente usados para formular composiciones farmacéuticas para administrar a animales o seres humanos. El diluyente se selecciona para que no afecte a la actividad biológica de la combinación. Ejemplos de estos diluyentes incluyen, sin limitarse a, agua destilada, agua tamponada, disolución salina fisiológica, PVS, disolución de Ringer, disolución de dextrosa y disolución de Hank. Una composición o formulación farmacéutica de la presente descripción puede incluir, además, sin limitarse a, otros vehículos o estabilizadores no tóxicos, no terapéuticos y no inmunógenos y excipientes. Las composiciones pueden incluir también sustancias adicionales para aproximarlas a las condiciones fisiológicas, como agentes para ajustar el pH y tamponantes, agentes para ajustar la toxicidad, agentes humectantes y detergentes. Una composición farmacéutica de la presente descripción puede incluir también cualquiera de una diversidad de agentes estabilizantes, como un antioxidante, por ejemplo.

Para administración oral, el ingrediente activo se puede administrar en formas de dosificación sólida como cápsulas, comprimidos y polvos o en formas de dosificación líquida como elixires, jarabes y suspensiones. El (o los) componente(s) activo(s) puede(n) estar encapsulado(s) en cápsulas de gelatina junto con ingredientes inactivos y portadores en polvo como glucosa, lactosa, sacarosa, manitol, almidón, celulosa o derivados de celulosa, estearato de magnesio, ácido esteárico, sacarina de sodio, talco o carbonato de magnesio. Ejemplos de ingredientes inactivos adicionales que pueden ser añadidos para proporcionar un color deseable, sabor, estabilidad, capacidad tamponante, dispersión u otras características deseables conocidas son óxido de hierro rojo, gel de sílice, laurilsulfato de sodio, dióxido de titanio y tinta blanca comestible. Pueden ser usados diluyentes similares para preparar comprimidos. Tanto los comprimidos como las cápsulas pueden ser fabricadas en forma de productos de liberación sostenida, para proporcionar una liberación continua de la medicación durante un período de horas. Los comprimidos pueden ser revestidos con azúcares o revestidos con una película para enmascarar cualquier sabor desagradable y proteger el comprimido de la atmósfera, o con un revestimiento entérico para una disgregación selectiva en el tracto gastrointestinal. Las formas de dosificación líquida para una administración oral pueden contener colorantes o sabores para aumentar la aceptación del paciente.

Las formulaciones adecuadas para una administración parenteral incluyen disoluciones de inyecciones esterilizadas isotónicas acuosas y no acuosas, que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostatos y solutos que hagan que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor previsto, y suspensiones esterilizadas acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes suspensores, solubilizadores, agentes espesantes, estabilizadores y conservantes.

Los componentes usados para formular las composiciones farmacéuticas son preferentemente de pureza elevada y están sustancialmente exentos de contaminantes potencialmente perjudiciales (por ejemplo, al menos de calidad de la entidad National Food (NF) generalmente al menos de calidad analítica y, más normalmente, al menos de calidad farmacéutica). Además, las composiciones destinadas para un uso *in vivo* habitualmente son esterilizadas. En la medida en que un compuesto dado debe ser sintetizado antes de ser usado, el producto resultante normalmente está sustancialmente exento de cualesquiera agentes potencialmente tóxicos, particularmente cualesquiera endotoxinas, que pueden estar presentes durante el

procedimiento de síntesis o purificación. Las composiciones para una administración parenteral son también esterilizadas, sustancialmente isotónicas y preparadas bajo condiciones GMP.

Dosificaciones farmacéuticas

Las composiciones farmacéuticas de la presente descripción que contienen una composición que contiene una partícula de lípidos de la presente descripción y manosa-1-fosfato encapsulada por la partícula de lípidos se pueden usar (por ejemplo, administrar a un sujeto que necesita tratamiento con manosa-1-fosfato, como un individuo humano) según métodos conocidos como administración oral, administración intravenosa o un bolo mediante infusión continua durante un periodo de tiempo, mediante las vías intramuscular, intraperitoneal, intracerebroespinal, intracraneal, intraespinal, subcutánea, intraarticular, intrasinovial, intratecal, oral, tópica o por inhalación.

Las dosificaciones y la concentración deseados de las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden variar dependiendo del uso particular previsto. La determinación de la dosificación apropiada o vía de administración está dentro de los conocimientos de un experto en la técnica. Los experimentos con animales proporcionan una guía fiable para la determinación de las dosis eficaces para una terapia humana. La aplicación de escalas entre especies de las dosis eficaces puede ser determinada siguiendo los principios descritos por Mordenti, J. and Chappell, W. "The Use of Interspecies Scaling in Toxicokinetics," In Toxicokinetics and New Drug Development, Yacobi et al., Eds, Pergamon Press, New York 1989, pág. 42-46.

Para una administración *in vivo* en cualquiera de las composiciones de la presente descripción que contenga una partícula de lípidos de la presente descripción y manosa-1-fosfato, encapsulada por la partícula de lípidos, las cantidades de las dosificaciones normales pueden variar desde 10 ng/kg hasta 100 mg/kg de peso corporal de un sujeto por día.

La administración de la composición de la presente descripción, que contiene una partícula de lípidos de la presente descripción y manosa-1-fosfato, encapsulada por la partícula de lípidos, puede ser continua o intermitente dependiendo, por ejemplo, del estado fisiológico del receptor, de si la finalidad de la administración es terapéutica o profiláctica y de otros factores conocidos por los facultativos expertos.

Está dentro del alcance de la presente descripción que las diferentes formulaciones sean eficaces para diferentes tratamientos y diferentes trastornos y que la administración prevista para tratar un órgano o tejido específicos puede necesitar un suministro de una manera diferente que para otro órgano o tejido. Además, las dosificaciones se pueden administrar por medio de una o más administraciones separadas o mediante una infusión continua. Para administraciones repetidas durante varios días o más, dependiendo del estado, el tratamiento es sostenido hasta que se produce la supresión deseada de los síntomas de la enfermedad. Sin embargo, pueden ser útiles otros regímenes de dosificación. El progreso de esta terapia es fácilmente verificado mediante técnicas y ensayos convencionales.

Por tanto, en algunas variantes, las composiciones proporcionadas en la presente memoria descriptiva se pueden administrar de forma crónica o intermitente a un sujeto (que incluye, por ejemplo, un ser humano) que lo necesita. Administración "crónica" se refiere a una administración del (o de los) medicamento(s) en un modo continuo, en oposición a uno intenso, con el fin de mantener el efecto (actividad) terapéutico inicial durante un período de tiempo prolongado. "Administración intermitente" se refiere al tratamiento que no se hace consecutivamente sin interrupción, sino que es de naturaleza cíclica.

Usos terapéuticos

La presente descripción proporciona composiciones que contienen una partícula de lípidos de la presente descripción y manosa-1-fosfato encapsulada por la partícula de lípidos, que son capaces de suministrar manosa-1-fosfato al interior de una célula. Estas composiciones son útiles para suministrar manosa-1-fosfato a un sujeto que necesita estos hidratos de carbono.

Como se usa en la presente memoria descriptiva, el término "sujeto" se refiere a un mamífero, como un ser humano, un animal doméstico como un sujeto felino o canino, un animal de granja (por ejemplo, un sujeto bovino, equino, caprino, ovino o porcino), un animal salvaje (ya sea en un entorno salvaje o de zoológico), un animal de investigación como un ratón, rata, conejo, cabra, oveja, cerdo, perro o gato y aves. En una realización, el sujeto es un ser humano.

En algunas variantes, el sujeto puede estar en riesgo. Por ejemplo, en una variante, el sujeto es un ser humano en riesgo. Como se usa en la presente memoria descriptiva, un sujeto "en riesgo" de desarrollar una enfermedad, trastorno o estado particular, como un trastorno congénito de glicosilación, puede ser o no ser una enfermedad o síntomas de enfermedad detectables y puede tener o no tener una enfermedad detectable o síntomas de enfermedad detectados con anterioridad a los métodos de tratamiento descritos en la presente memoria descriptiva. "En riesgo" indica que un individuo tiene factores de riesgo, que son parámetros medibles

que se correlacionan con el desarrollo de una enfermedad, trastorno o estado particular, como es conocido en la técnica. Un sujeto que tiene uno o más de estos factores de riesgo tiene una probabilidad de desarrollar una enfermedad, trastorno o estado particular, como un trastorno congénito de glicosilación, mayor que un sujeto sin uno o más de estos factores de riesgo.

En algunas realizaciones, las composiciones que contienen una partícula de lípidos de la presente descripción y manosa-1-fosfato encapsulada por la partícula de lípidos pueden ser usadas también para suministrar manosa-1-fosfato al interior de las células de un sujeto que lo necesita. En ciertas realizaciones, las composiciones que contienen una partícula de lípidos de la presente descripción y manosa-1-fosfato encapsulada por la partícula de lípidos pueden ser usadas para prevenir, reducir riesgos o tratar una enfermedad o trastorno, como un trastorno congénito de glicosilación (CDG) en un sujeto que lo necesita.

Consecuentemente, como se describe en la presente memoria descriptiva, las composiciones de la presente descripción que contienen una partícula de lípidos de la presente descripción y manosa-1-fosfato, encapsulada por la partícula de lípidos, pueden ser usadas para suministrar manosa-1-fosfato a un sujeto que lo necesita, para suministrar manosa-1-fosfato al interior de las células de un sujeto que lo necesita y para tratar, prevenir o reducir el riesgo de una enfermedad o trastorno, como un trastorno congénito de glicosilación (CDG) en un sujeto que lo necesita. En algunas realizaciones, el sujeto tiene esta enfermedad o trastorno. En algunas realizaciones, el sujeto es un ser humano que tiene esta enfermedad o trastorno.

Como se usa en la presente memoria descriptiva, la expresión "trastornos congénitos de glicosilación" (CDG) se refiere a trastornos genéticos que dan lugar a errores de metabolismo en los que la glicosilación de una diversidad de proteínas de tejidos y/o lípidos es deficiente o defectuoso. Los trastornos congénitos de glicosilación pueden ser conocidos también como síndromes CDG. Los síndromes CDG provocan a menudo un mal funcionamiento grave, ocasionalmente fatal, de diversos sistemas de órganos diferentes como el sistema nervioso, cerebro, músculos, e intestinos, en niños afectados. Las manifestaciones de los síndromes CDG pueden variar en la gama desde un retraso grave del desarrollo retraso grave del desarrollo e hipotonía que comienza en la infancia hasta hipoglicemia y enteropatía en pérdida de proteínas con desarrollo normal. El retraso del desarrollo puede ser una indicación inicial común para un diagnóstico de CDG. Uno de los subtipos más comunes de síndrome CDG es CDG-Ia (también conocido como PMM2-CDG) en el que el defecto genético conduce a la pérdida de fosfomanomutasa 2, que es la enzima responsable de la conversión de manosa-6-fosfato en manosa-1-fosfato.

Los síndromes CDG pueden ser clasificados como de tipo I (CDG-I) y de tipo II (CDG-II). Esta clasificación puede depender de la naturaleza y la ubicación del efecto bioquímico en la trayectoria metabólica relativa a la acción de oligosacariltransferasa. Los métodos para detectar el subtipo de CDG pueden incluir el análisis del estado de glicosilación de tranferrina mediante, por ejemplo, isoelectroenfoque o ESI-MS. Ejemplos de tipo I de CDG incluyen, sin limitarse a, (PMM2-CDG), Ib (MPI-CDG), Ic (ALG6-CDG), Id (ALG3-CDG), Ie (DPM1-CDG), If (MPDU1-CDG), Ig (ALG12-CDG), Ih (ALG8-CDG), Ii (ALG2-CDG), Ij (DPAGT1-CDG), Ik (ALG1-CDG), 1L (ALG9-CDG), Im (DOLK-CDG), In (RFT1-CDG), Io (DPM3-CDG), Ip (ALG11-CDG), Iq (SRD5A3-CDG), Ir (DDOST-CDG), DPM2-CDG, TUSC3-CDG, MAGT1-CDG, DHDDS-CDG y I/IIx. Ejemplos de CDG de tipo II, incluyen, sin limitarse a IIa (MGAT2-CDG), IIb (GCS1-CDG), IIc (SLC335C1-CDG), IId (B4GALT1-CDG), IIe (COG7-CDG), IIf (SLC35A1-CDG), IIg (COG1-CDG), IIh (COG8-CDG), IIi (COG5-CDG), IIj (COG4-CDG), IIL (COG6-CDG), ATP6V0A2-CDG, MAN1B1-CDG y ST3GAL3-CDG.

Los trastornos congénitos de glicosilación (CDG) que pueden ser tratados con las composiciones de la presente descripción que contienen una partícula de lípidos de la presente descripción y manosa-1-fosfato encapsulada por la partícula de lípidos, incluyen, sin limitarse a la (PMM2-CDG), Ib (MPI-CDG), Ic (ALG6-CDG), Id (ALG3-CDG), Ie (DPM1-CDG), If(MPDU1-CDG), Ig (ALG12-CDG), Ih (ALG8-CDG), Ii (ALG2-CDG), Ij (DPAGT1-CDG), Ik (ALG1-CDG), 1L (ALG9-CDG), Im (DOLK-CDG), In (RFT1-CDG), Io (DPM3-CDG), Ip (ALG11-CDG), Iq (SRD5A3-CDG), Ir (DDOST-CDG), DPM2-CDG, TUSC3-CDG, MAGT1-CDG, DHDDS-CDG, I/IIx, IIa (MGAT2-CDG), IIb (GCS1-CDG), IIc (SLC335C1-CDG), IId (B4GALT1-CDG), IIe (COG7-CDG), IIf (SLC35A1-CDG), IIg (COG1-CDG), IIh (COG8-CDG), IIi (COG5-CDG), IIj (COG4-CDG), IIL (COG6-CDG), ATP6V0A2-CDG, MAN1B1-CDG y ST3GAL3-CDG.

Consecuentemente, las composiciones de la presente descripción, que contienen una partícula de lípidos de la presente descripción y manosa-1-fosfato encapsulada por la partícula de lípidos, pueden ser usadas para tratar, prevenir o mejorar uno o más síntomas de un trastorno congénito de glicosilación (CDG) de la presente descripción. En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona composiciones para usar en métodos para tratar, prevenir o mejorar uno o más síntomas en sujetos que tienen un trastorno congénito de glicosilación (CDG) de la presente descripción, administrando al sujeto una composición de la presente descripción que contiene una partícula de lípidos de la presente descripción y manosa-1-fosfato encapsulada por la partícula de lípidos para, por ejemplo, suministrar manosa-1-fosfato a un sujeto para corregir, o mejorar de algún otro modo la glicosilación de proteínas y/o lípidos en el sujeto.

En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona composiciones de la presente invención para

usar en métodos para tratar, prevenir o mejorar uno o más síntomas de un trastorno congénito de glicosilación (CDG) en un sujeto que lo necesita, administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición que comprende una partícula de lípidos y manosa-1-fosfato encapsulada en la partícula de lípidos. En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona métodos para tratar, prevenir o mejorar uno o más síntomas de un trastorno congénito de glicosilación (CDG) en un sujeto que lo necesita, administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición que comprende una partícula de lípidos que comprende óxido de etileno y manosa-1-fosfato encapsulados en la partícula de lípidos. En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona composiciones de la presente invención para usar en métodos para tratar, prevenir o mejorar uno o más síntomas de un trastorno congénito de glicosilación (CDG) en un sujeto que lo necesita, administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición que comprende una partícula de lípidos; y manosa-1-fosfato encapsulada en la partícula de lípidos, en donde la partícula de lípidos comprende colina, etanolamina, glicerol, inositol o cualquier combinación de los mismos. En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona composiciones de la presente invención para usar en métodos para tratar, prevenir o mejorar uno o más síntomas de un trastorno congénito de glicosilación (CDG) en un sujeto que lo necesita, administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición que comprende un liposoma, y manosa-1-fosfato encapsulada en el liposoma, en donde el liposoma comprende colesterol y fosfatidiletanolamina (PE) unida a polietilenglicol (PEG). En algunas realizaciones, el trastorno congénito de glicosilación (CDG) puede ser un trastorno de CDG tipo I, un trastorno de CDG-Ia, un trastorno de CDG tipo II, un trastorno de CDG-IIc o un trastorno de CDG-IIf. En ciertas realizaciones, el trastorno congénito de glicosilación (CDG) es un trastorno de CDG-Ia. En algunas realizaciones, la composición se administra por vía oral, dérmica, nasal o intravenosa.

Como se usa en la presente memoria descriptiva, el término "tratamiento" o "tratar" es una propuesta para obtener resultados beneficiosos o deseados que incluyen resultados clínicos. Los resultados clínicos beneficiosos o deseados pueden incluir uno o más de los siguientes: a) inhibir la enfermedad o estado (es decir, disminuir uno o más síntomas que resultan de la enfermedad o estado y/o disminuir el alcance de la enfermedad o estado); b) ralentizar o detener el desarrollo de uno o más síntomas clínicos asociados con la enfermedad o estado (por ejemplo, estabilizar la enfermedad o estado, prevenir o retrasar el empeoramiento o progreso de la enfermedad o estado y/o prevenir o retrasar la extensión de la enfermedad o estado) y/o c) aliviar la enfermedad, es decir, provocar la regresión de los síntomas clínicos (por ejemplo, mejorar el estado de enfermedad, proporcionar una remisión parcial o total de la enfermedad o estado, aumentar el efecto de otra medicación, retrasar el progreso de la enfermedad, aumentar la calidad de vida y/o prolongar la supervivencia).

Como se usa en la presente memoria descriptiva, el término "prevención" o "prevenir" se refiere a cualquier tratamiento de una enfermedad o estado que provoca síntomas clínicos de la enfermedad o estado que no se va a desarrollar. Los compuestos, en algunas realizaciones, se pueden administrar a un sujeto (incluido un ser humano) que está en riesgo o tiene historial familiar de la enfermedad o estado.

Una "cantidad eficaz" se refiere al menos a una cantidad eficaz, a dosificaciones y durante períodos de tiempo necesarios, para conseguir el resultado terapéutico o profiláctico deseado. Una cantidad eficaz puede ser proporcionada en una o más administraciones.

Una "cantidad terapéuticamente eficaz" es al menos la concentración mínima necesaria para efectuar una mejora medible de una enfermedad, trastorno o estado particular, como un trastorno congénito de glicosilación. Una cantidad terapéuticamente eficaz en la presente memoria descriptiva puede variar según factores como el estado de la enfermedad, edad, sexo y peso del sujeto y la capacidad de las composiciones de lípidos de la presente descripción, para provocar una respuesta deseada en el sujeto. Una cantidad terapéuticamente eficaz es también una a la que cualesquiera efectos tóxicos o perjudiciales de las composiciones de lípidos de la presente descripción son superados por los efectos terapéuticamente beneficiosos.

En otros aspectos no reivindicados de la presente descripción, las composiciones de la presente descripción que contienen una partícula de lípidos de la presente descripción y un hidrato de carbono de la presente descripción encapsulado por la partícula de lípidos pueden ser usadas para suministrar un hidrato de carbono a un sujeto que lo necesita. Consecuentemente, en algunas realizaciones no reivindicadas, la presente descripción proporciona métodos para suministrar un hidrato de carbono a un sujeto que lo necesita, administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende una partícula de lípidos y un hidrato de carbono endógeno encapsulado en la partícula de lípidos. En algunas realizaciones no reivindicadas, la presente descripción proporciona métodos para suministrar un hidrato de carbono a un sujeto que lo necesita, administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende una partícula de lípidos que comprende óxido de etileno; y un hidrato de carbono encapsulados en la partícula de lípidos. En algunas realizaciones no reivindicadas, la presente descripción proporciona métodos para suministrar un hidrato de carbono a un sujeto que lo necesita, administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende una partícula de lípidos; y un hidrato de carbono encapsulado en la partícula de lípidos, en donde la partícula de lípidos comprende colina, etanolamina, glicerol, inositol o cualquier combinación de los mismos. En algunas realizaciones no reivindicadas, la presente descripción proporciona métodos para suministrar un hidrato de carbono a un sujeto que lo necesita,

administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende un liposoma y manosa-1-fosfato encapsulada en el liposoma, donde el liposoma, comprende colesterol y fosfatidiletanolamina (PE) unida a polietilenglicol (PEG). En algunas realizaciones en las que la composición farmacéutica es para usar en un método para administrar el hidrato de carbono manosa-1-fosfato al interior de las células de un sujeto que lo necesita, el sujeto tiene un trastorno congénito de glicosilación (CDG). En algunas realizaciones en las que la composición farmacéutica es para usar en un método para administrar el hidrato de carbono manosa-1-fosfato al interior de las células de un sujeto que lo necesita, el trastorno congénito de glicosilación (CDG) puede ser una CDG tipo I, un trastorno de CDG Ia, un trastorno de CDG tipo II, un trastorno de CDG -IIc o un trastorno de CDG tipo IIf. En ciertas realizaciones en las que la composición farmacéutica es para usar en un método para administrar el hidrato de carbono manosa-1-fosfato al interior de las células de un sujeto que lo necesita, el trastorno congénito de glicosilación (CDG) es un trastorno de CDG-Ia.

En otros aspectos de la presente descripción, las composiciones de la presente descripción que contienen una partícula de lípidos de la presente descripción y manosa-1-fosfato encapsulada por la partícula de lípidos pueden ser usadas para suministrar manosa-1-fosfato al interior de las células de un sujeto que lo necesita. Consecuentemente, en algunas realizaciones, la presente descripción proporciona composiciones de la presente descripción para usar en métodos para suministrar manosa-1-fosfato al interior de las células de un sujeto que lo necesita, administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende una partícula de lípidos y manosa-1-fosfato encapsulada en la partícula de lípidos, en donde la composición administrada atraviesa la membrana plasmática de las células, suministrando así manosa-1-fosfato al interior de las células. En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona composiciones de la presente descripción para usar en métodos para suministrar manosa-1-fosfato al interior de las células de un sujeto que lo necesita, administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende una partícula de lípidos que comprende óxido de etileno; y manosa-1-fosfato encapsulada en la partícula de lípidos, en donde la composición administrada atraviesa la membrana plasmática celular suministrando así manosa-1-fosfato al interior de la célula. En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona composiciones de la presente descripción para usar en métodos para suministrar manosa-1-fosfato al interior de las células de un sujeto que lo necesita, administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende una partícula de lípidos; y manosa-1-fosfato encapsulada en la partícula de lípidos, en donde la partícula de lípidos comprende colina, etanolamina, glicerol, inositol, o cualquier combinación de los mismos, y en donde la composición administrada atraviesa la membrana plasmática celular suministrando así manosa-1-fosfato al interior de las células. En algunas realizaciones, la presente descripción proporciona composiciones de la presente descripción para usar en métodos para suministrar manosa-1-fosfato al interior de las células de un sujeto que lo necesita, administrando al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende un liposoma y manosa-1-fosfato encapsulada en el liposoma, donde el liposoma comprende colesterol y fosfatidiletanolamina (PE) unida a polietilenglicol (PEG) y donde la composición administrada atraviesa la membrana plasmática de las células, suministrando así manosa-1-fosfato al interior de las células. En algunas realizaciones, el sujeto tiene un trastorno congénito de glicosilación (CDG). En algunas realizaciones, el trastorno congénito de glicosilación (CDG) puede ser un trastorno de CDG tipo I, un trastorno de CDG-Ia, un trastorno de CDG tipo II, un trastorno de CDG-IIc o un trastorno de CDG-IIf. En ciertas realizaciones, el trastorno congénito de glicosilación (CDG) es un trastorno de CDG-Ia. En algunas realizaciones, la administración de la composición induce un aumento desde al menos 0,05 veces hasta al menos 2 veces la producción celular de oligosacáridos unidos a lípidos de orden superior en el sujeto, en comparación con la producción celular de oligosacáridos unidos a lípidos de orden superior en el sujeto en ausencia de la composición. En ciertas realizaciones, los oligosacáridos unidos a lípidos de orden superior comprenden Man4GlcNAc2, Man5GlcNAc2, Man6GlcNAc2, Man7GlcNAc2, Man8GlcNAc2, Man9GlcNAc2, o cualquier combinación de los mismos. En algunas realizaciones, la composición se administra por vía oral, tópica, dérmica, nasal, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, intracerebroespinal, intracraneal, intraespinal, subcutánea, intraarticular, intrasinovial o intratecal.

Artículos de fabricación y estuches de ensayo

La presente descripción proporciona también, pero no reivindica, artículos de fabricación y/o estuches de ensayo que contienen una composición de la presente descripción, que contiene una partícula de lípidos de la presente descripción y un hidrato de la presente descripción encapsulado por la partícula de lípidos. Los artículos no reivindicados de fabricación y/o los estuches de ensayo de la presente descripción pueden incluir uno o más recipientes que comprenden una composición purificada de la presente descripción. Los recipientes adecuados pueden incluir, sin limitarse a, botellas, viales, jeringuillas y bolsas de disolución IV. Los recipientes se pueden formar a partir de una diversidad de materiales como vidrio o plástico. En algunas realizaciones no reivindicadas, los artículos de fabricación y/o los estuches de ensayo incluyen adicionalmente instrucciones de uso según cualquiera de los métodos de la presente descripción. En algunas realizaciones no reivindicadas, estas instrucciones comprenden una descripción de administración de la composición que contiene una partícula de lípidos de la presente descripción y un hidrato de carbono de la presente descripción encapsulado por la partícula de lípidos, para suministrar el hidrato de carbono a un sujeto que lo necesita, para suministrar el hidrato de carbono al interior de las células de un sujeto que lo necesita o para tratar un trastorno congénito de glicosilación (CDG) en un sujeto que lo necesita, según cualquiera de los métodos de la presente

descripción. En algunas realizaciones no reivindicadas, las instrucciones comprenden una descripción del modo de detectar un trastorno congénito de glicosilación (CDG), por ejemplo, en un sujeto, en una muestra de tejido en una célula. El artículo de fabricación y/o el estuche de ensayo pueden comprender adicionalmente una descripción para seleccionar un sujeto adecuado para el tratamiento basado en identificar si el sujeto tiene la enfermedad y la fase de la enfermedad.

Las instrucciones incluyen generalmente información sobre la dosificación, esquema de dosificación y vía de administración para el tratamiento previsto. Los recipientes pueden ser dosis unitarias, envases masivos (por ejemplo, envases de dosis múltiples) o dosis en subunidades. Las instrucciones suministradas en los artículos de fabricación y/o los estuches de ensayo de la presente descripción son normalmente instrucciones escritas sobre una etiqueta o inserción del envase (por ejemplo, una lámina de papel incluida en el artículo de fabricación y/o estuche de ensayo), pero son también aceptables instrucciones legibles a máquina (por ejemplo, instrucciones portadas sobre un disco de almacenamiento magnético u óptico).

La etiqueta o inserción del envase indica que la composición es usada para suministrar un hidrato de carbono y/o para tratar, por ejemplo, un trastorno congénito de glicosilación (CDG). Las instrucciones pueden ser proporcionadas para poner en práctica cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria descriptiva.

Los artículos de fabricación no reivindicados y/o los estuches de ensayo de la presente descripción pueden estar en cualquier envase adecuado. Los envases adecuados incluyen, sin limitarse a, viales, botellas, frascos y envases flexibles (por ejemplo, bolsas de Mylar o de plástico selladas). También están contemplados envases para ser usados en combinación con un dispositivo específico como un inhalador, dispositivo de administración nasal (por ejemplo, un atomizador) o un dispositivo de infusión como una minibomba. Un artículo de fabricación y/o un estuche de ensayo puede tener un orificio de acceso esterilizado (por ejemplo, el recipiente puede ser una bolsa de disolución intravenosa o un vial que tiene un tapón perforable mediante una aguja de inyección hipodérmica). El recipiente puede tener también un orificio de acceso esterilizado (por ejemplo, el recipiente puede ser una bolsa de disolución intravenosa o un vial que tiene un tapón perforable mediante una aguja de inyección hipodérmica). Al menos un agente activo en la composición es un hidrato de carbono capaz de tratar un trastorno congénito de glicosilación (CDG) y/o mejorar uno o más síntomas de la misma. El recipiente puede comprender además un segundo agente farmacéuticamente activo.

Los artículos de fabricación y/o los estuches de ensayo pueden proporcionar opcionalmente componentes adicionales como tamponantes y una información interpretativa. Normalmente, el artículo de fabricación y/o el estuche de ensayo comprenden un recipiente y una etiqueta o inserción(es) del envase sobre el recipiente o asociados al mismo.

Salvo que se defina otra cosa, todos los términos científicos y técnicos se entienden que tienen el mismo significado comúnmente usado en la técnica a los que pertenecen. Para los fines de la presente descripción, se definen los siguientes términos.

El término “aproximadamente”, como se usa en la presente memoria descriptiva, se refiere al intervalo de error habitual para el valor respectivo, fácilmente conocido por un experto en este campo técnico. La referencia a “aproximadamente” de un valor o parámetro de la presente memoria descriptiva incluye (y describe) realizaciones que están dirigidas a ese valor o parámetro por sí mismo, por ejemplo, “aproximadamente x” incluye y describe “x” por sí mismo. En algunas realizaciones, el término “aproximadamente”, cuando se usa en asociación con una medición, o se usa para modificar un valor, una unidad, una constante o un intervalo de valores, se refiere a variaciones de +/- 2%.

Como se usa en la presente memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular “uno”, “una”, “el”, “la”, incluyen las referencias en plural, salvo que el contexto indique claramente otra cosa. Por ejemplo, la referencia a “partícula de lípidos” es una referencia que va desde una a muchas partículas de lípidos, tal como cantidades molares e incluye equivalentes de las mismas conocidos por los expertos en la técnica, y así sucesivamente.

Ejemplos

La invención se comprenderá más en detalle mediante la referencia a los ejemplos que siguen. Sin embargo, no deben ser concebidos como una limitación del alcance de la invención.

Abreviaturas

“PC” corresponde a fosfatidilcolina.

“PE” corresponde a fosfatidiletanolamina.

“PEG” corresponde a 1,2- diestearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina-N-[amino(polietilenglicol)-2000] o

simplemente polietilenglicol.

"M1P" corresponde a manosa-1-fosfato.

"PBS" corresponde a disolución salina tamponada con fosfato.

"MWCO" corresponde a membrana de corte de peso molecular.

Materiales y métodos

Liposomas

Los materiales para la preparación de liposomas (PC, PE y PE-PEG) se adquirieron de la entidad Avanti Polar Lipids.

Líneas celulares

Fibroblastos dérmicos humanos de CDG-Ia y fibroblastos dérmicos humanos de tipo salvaje fueron adquiridos de la entidad Coriell Institute.

Medios de cultivo

Medios de Eagle mínimo de Dulbecco fueron adquiridos de la entidad Mediatech.

Medio esencial mínimo alfa fue adquirido de la entidad Mediatech.

Glutamina y penicilina-estreptomicina fueron adquiridos de la entidad Omega Scientific.

FBS fue adquirido de la entidad Thermo.

Ejemplo 1: Preparación de liposomas de manosa-1-fosfato

El siguiente ejemplo demuestra la preparación de liposomas que contienen manosa-1-fosfato (M1P-liposomas). La estructura de manosa-1-fosfato (M1P) se expone en la FIG. 1A. Aunque se expone un isómero específico en la FIG. 1A, debe entenderse que los hidratos de carbono usados en las composiciones y métodos proporcionados en la presente memoria descriptiva pueden estar en cualquier forma isómera, con la condición de que estos hidratos de carbono sean hidratos de carbono endógenos para un sujeto dado.

Método de preparación de liposomas

Se prepararon liposomas mediante hidratación en película fina a partir de fosfatidilcolina (PC), colesterol y fosfatidiletanolamina (PE) conjugada con polietilenglicol (PEG). La estructura del PEG se expone en la FIG. 1B. En la FIG. 1B, en una variante, n puede estar en el intervalo de 800-5000. En otras variantes, el valor de n puede ser 2000. Todavía en otras variantes, el PEG puede ser modificado mediante maleimida o NHS-éster dependiendo de si el PEG va a ser conjugado. La estructura de la fosfatidiletanolamina unida a PEG (PEG-PE) se expone en la FIG. 1C. La estructura de la fosfatidilcolina (PC) se expone en la FIG. 1D.

El disolvente masivo de la película de lípidos de PC y colesterol fue retirado mediante evaporación rotatoria durante 30 minutos, seguida de liofilización durante 4 horas para retirar cantidades residuales de disolvente. A continuación de estos, los liposomas fueron rehidratados en primer lugar con una disolución de manosa-1-fosfato (M1P) en disolución salina tamponada con fosfato 1X, pH 7,4 (PBS) a una concentración de M1P de 10 mg/ml. Seguidamente, se añadió PBS adicional con el fin de conseguir una concentración de lípidos de 20 mg/ml. Seguidamente los liposomas se calentaron a 39º C y se dimensionaron o extruyeron a través de membranas de policarbonato de un tamaño de poros de 200 nm y seguidamente un tamaño de poros de 100 nm usando un miniextrusor portátil. Los liposomas se analizaron seguidamente frente a PBS usando una membrana de corte de peso molecular de 2 kDa (MWCO).

A continuación de esta etapa, se añadió 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina-N-[amino(polietilenglicol)-2000] (PEG) mediante post-inserción. Brevemente, se obtuvo una película fina de PEG separando por secado el disolvente usando una corriente de gas N_2 y liofilizando, como se mencionó anteriormente. Esta partícula seguidamente fue rehidratada usando la disolución liposomal con contenido de M1P preparada. Después de centrifugar durante 5 minutos, la disolución se incubó a 37º C durante una noche para permitir la post-inserción de PEG en el núcleo de la nanopartícula. La estructura de los liposomas con contenido de manosa-1-fosfato se expone en la FIG.2.

Tabla 1

Formulación	Porcentaje en moles (%)	Peso (mg)
PC	70	16,7
Colesterol	30	3,64
DSPE-PEG_{2000}	2	1,75
M1P	5	1,0

En la Tabla 1, el volumen final de la formulación de liposomas fue de 1 ml.

Ejemplo 2. Medición de contenido de M1P en liposomas

La enfermedad CDG-Ia es una enfermedad de glicosilación caracterizada por la deficiencia o anormalidades asociadas con la enzima fosfomanomutasa (PMM). Este trastorno es diagnosticado usando las glicoproteínas en suero de origen hepático (la transferrina es la proteína clínicamente ensayada) que están comúnmente infraglicosiladas. Normalmente la transferrina es valorada usando isoelectroenfoque, que podría infravalorar una enorme disminución en la actividad de PMM (La actividad de PMM en pacientes de CDG-Ia es de aproximadamente 0,29 nM /min/mg, en comparación con la actividad normal de PMM de aproximadamente 2,97 nM/min/mg). La enzima PMM es responsable de catalizar la conversión de manosa-6-fosfato en manosa-1-fosfato que, a su vez, es un precursor de la síntesis final de $G_3M_9Gn_2$-P-P-Dolicol que, a su vez, es un precursor del oligosacárido unido a lípidos (LLO). Esto está representado por la siguiente representación esquemática de la trayectoria de glicosilación metabólica: glucosa → glucosa-6-fosfato → fructosa-6-fosfato → manosa → manosa-6-fosfato → manosa-1-fosfato → GDP-manosa → N-glicosilación del péptido.

Los oligosacáridos típicos LLO incluyen subunidades de manosa (M) unidas a disacárido N-acetilglucosamina (Gn_2). La disminución de la actividad de PMM dificulta por tanto la maduración completa de oligosacáridos LLO, que normalmente varían en un intervalo de tamaño desde M_5Gn_2 hasta M_9Gn_2. Los oligosacáridos LLO inmaduros resultantes no son LLO completamente funcionales y normalmente están truncados. Los oligosacáridos LLO inmaduros tienen normalmente tamaños de M_2Gn_2 y M_3Gn_2.

El análisis de las cadenas de oligosacáridos sintetizados se realiza normalmente incubando fibroblastos con manosa radiomarcada, con el fin de verificar cualquier divergencia de los modelos establecidos de maduración de oligosacáridos. Esto se lleva a cabo normalmente marcando oligosacáridos recientemente sintetizados en los fibroblastos humanos con [2-3H]manosa. A continuación de la incubación con manosa marcada, los lisados celulares son digeridos para analizar adicionalmente los azúcares marcados mediante cromatografía. Sin embargo, es necesario un suministro estacionario de manosa para asegurar una producción continua de la cadena de sacárido (S. Catherine Hubbard y Phillips W. Robbins. Journal of Biological Chemistry (1980) 255: 11782-11793). Un problema con la propuesta de suministrar sistemáticamente manosa al cuerpo para tratar trastornos, como CDG-Ia, es la incapacidad de la manosa para atravesar la membrana de plasmática. Por tanto, han sido evaluados diversos derivados de manosa en cuanto a su capacidad para acumularse en el citosol de las células. Sin embargo, esta propuesta es también es problemática, debido a la toxicidad y la inestabilidad de estos derivados.

El siguiente ejemplo demuestra la capacidad de M1P-liposomas para conducir la biosíntesis y la maduración completa de diversos oligosacáridos LLO. Esta propuesta evita la necesidad de permeabilizar células o usar un derivado de manosa.

Preparación de muestras de lípidos.

Se precipitaron lípidos con 10% de Tritón X-100 usando una relación 1:1 de liposoma:detergente, respectivamente. El precipitado de lípidos se separó mediante centrifugación. El M1P aislado fue tratado con HCl a una concentración final de 0,1 N; la unión 1-fosfo fue hidrolizada durante 15 minutos a 100º C. Las muestras se secaron en un vacío rápido en preparación para etiquetar con un fluoróforo para la detección y cuantificación como se describe por Alwael et al. (Anal. Methods, 2011, 3, 62). La concentración de M1P en los liposomas fue de 1,0 mg por mililitro de equivalente de formulación hasta un 5% de concentración total de lípidos.

Agentes terapéuticos/ensayos

La internalización celular en el citosol y la posterior integración de los M1P-liposomas (preparados como en el ejemplo 1) se valoró *in vitro* usando fibroblastos dérmicos humanos primarios derivados de pacientes afectados con trastorno CDG-Ia (fibroblastos de CDG-Ia) y fibroblastos dérmicos humanos de tipo salvaje. Para la evaluación de la capacidad de los M1P-liposomas para corregir los efectos de glicosilación de proteínas, se suministraron M1P-liposomas a fibroblastos primarios de CDG tipo I derivados de pacientes afectados con enfermedad CDG-Ia. La capacidad de dirigir la glicosilación hacia adelante se evaluó comparando la estructura de N-glicano de glicoproteína antes y después del tratamiento. Esta comparación requirió un análisis de N-

glicano usando cromatografía de fase normal.

Utilizando trayectorias endocitóticas, los M1P-liposomas pueden entrar en el interior de las células y liberar su carga en el citosol. Debido a la capacidad para suministrar manosa-1-fosfato no modificada al citosol, se realizó un análisis sobre el conjunto de oligosacáridos LLO y fibroblastos de tipo salvaje y fibroblastos derivados de un paciente de CDG-Ia (fibroblastos de CDG-Ia). Se aislaron estructura de LLO a partir de los fibroblastos de tipo salvaje (que tenían una actividad PMM de 100%) así como a partir de fibroblastos de CDG-Ia (que tenían una actividad PMM de 10%) y las cantidades de estructuras de LLO se compararon usando métodos cromatográficos.

Los fibroblastos dérmicos de CDG-Ia constituyen una serie de especies de oligosacáridos unidos a lípidos (LLO) truncados que varían en el intervalo de tamaños desde M_2Gn_2 hasta M_5Gn_2, siendo predominantes M_2Gn_2 y M_3Gn_3. Los liposomas de M1P del ejemplo 1 fueron ensayados con el fin de evaluar su capacidad para normalizar la distribución de diversos oligosacáridos de LLO. Se incubaron fibroblastos de CDG-Ia en medios de MEM bajos en glucosa con 300 µM de M1P simple (M1P) y 300 µM de M1P-liposomas (M1PL). Después del tratamiento, se recogieron las células y se recuperaron oligosacáridos de LLO, se hidrolizaron, se modificaron con un fluoróforo y se analizaron mediante cromatografía de fase normal como se describe por Gao et al. (Methods in Enzymology, 2006, 415, 3-20) y Bones et al. (Anal. Chem, 2011, 83 (13), 5344-52). El área de los picos de cada LLO se normalizó para contenido de proteínas antes del cálculo del porcentaje de abundancia.

Los resultados se exponen en la Tabla 2. La distribución de diversos oligosacáridos de LLO a partir de fibroblasto de tipo salvaje varió en el intervalo de M_2Gn_2 a M_7Gn_2. El tratamiento de fibroblastos de CDG-Ia con M1P-liposomas inhibió la síntesis de oligosacáridos de LLO truncados M_2Gn_2 y M_3Gn_2 y desplazó la producción hacia especies de oligosacáridos de LLO más grandes, que provocaron un aumento en la expresión de estructuras M_5Gn_2-M_7Gn_2 (Tabla 2). La cantidad de LLO de M_5Gn_2 producida después del tratamiento de fibroblastos de CDG-Ia con M1P-liposomas fue tres veces mayor que la cantidad de fibroblastos de CDG-Ia sin tratar y dos veces la cantidad de fibroblastos de CDG-Ia tratados con M1P simple (Tabla 2). Adicionalmente, se observaron oligosacáridos de LLO de orden superior (por ejemplo, M_6Gn_2 y M_7Gn_2) en fibroblastos de CDG-Ia después de un tratamiento con M1P-liposomas (Tabla 2). Estos oligosacáridos de LLO de orden superior no se observaron en los fibroblastos de CDG-Ia antes del tratamiento con M1P-liposomas. Además, la cantidad de oligosacáridos de LLO M_6Gn_2 y M_7Gn_2 en fibroblastos de CDG-Ia después de un tratamiento con M1P-liposomas fue comparable a la cantidad de fibroblastos de tipo salvaje (Tabla 2).

No se observó una normalización completa en todos los casos, ya que la propuesta analítica que se utilizó detectó oligosacáridos de LLO recientemente sintetizados, así como oligosacáridos de LLO previamente producidos en la célula.

Tabla 2

Genotipo	Tratamiento	M_2Gn_2	M_3Gn_2	M_4Gn_2	M_5Gn_2	M_6Gn_2	M_7Gn_2
Normal	Ninguno	18	10	36	32	4,5	0,4
CDG-Ia	Ninguno	31	38	24	6,2		
CDG-Ia	M1PL 300 µM	18	28	31	18	3,9	0,5
CDG-Ia	M1P 300 µM	40	24	27	8,9		

La Tabla 2 expone los análisis de cromatografía de fase normal de la distribución de oligosacáridos de LLO (expresada como porcentaje, %) de fibroblastos de tipo salvaje y fibroblastos de CDG-Ia. Los oligosacáridos de LLO contienen dos o más subunidades de manosa (Man) y disacárido de N-acetilglucosamina (GlcNAc2). En la Tabla 2, "M_2Gn_2" corresponde a Man2GlcNAc2, "M_3Gn_2" corresponde a Man3GlcNAc2, "M_4Gn_2" corresponde a Man4GlcNAc2, "M_5Gn_2" corresponde a Man5GlcNAc2, "M_6Gn_2" corresponde a Man6GlcNAc2, y "M_7Gn_2" corresponde a Man7GlcNAc2.

REIVINDICACIONES

1. Una composición, que comprende:

(i) una partícula de lípidos, que comprende uno o más lípidos conjugados con polietilenglicol (PEG), en donde el PEG está presente a una concentración entre aproximadamente 0,5 por ciento molar y aproximadamente 20 por ciento molar; y

(ii) manosa-1-fosfato encapsulada en la partícula de lípidos.

2. La composición de la reivindicación 1, en la que la partícula de lípidos es un liposoma.

3. La composición de las reivindicaciones 1 o 2, en la que uno o más de los uno o más lípidos son fosfolípidos.

4. La composición de la reivindicación 3, en la que uno o más de los uno o más fosfolípidos son fosfatidilcolina (PC), fosfatidiletanolamina (PE), fosfatidilserina (PS), fosfatidilglicerol (PG) o fosfatidilinositol (PI).

5. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el PEG tiene un peso molecular desde aproximadamente 200 Da hasta aproximadamente 10.000 Da.

6. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que la partícula de lípidos comprende además colesterol o uno o más glicerolípidos, esfingolípidos o ácidos grasos o una combinación de los mismos.

7. Una composición farmacéutica que comprende la composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

8. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o la composición farmacéutica de la reivindicación 7 para su uso en un método para suministrar manosa-1-fosfato al interior de las células de un sujeto que lo necesita, que comprende administrar la composición o la composición farmacéutica al sujeto, en donde la composición administrada atraviesa la membrana plasmática celular para suministrar el hidrato de carbono al interior de las células.

9. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o la composición farmacéutica de la reivindicación 7 para su uso en un método para tratar un trastorno congénito de glicosilación (CDG) en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto la composición o la composición farmacéutica.

10. La composición o la composición farmacéutica para el uso de la reivindicación 9, en donde el CDG es un trastorno CDG-Ia, CDG-Ib, CDG-Ic, CDG-Id, CDG-Ie, CDG-If, CDG-Ig, CDG-Ih, CDG-Ii, CDG-Ij, CDG-Ik, CDG-1L, CDG-Im, CDG-In, CDG-Io, CDG-Ip, CDG-Iq, CDG-Ir, DPM2-CDG, TUSC3-CDG, MAGT1-CDG, DHDDS-CDG y CDG-I/Iix, opcionalmente un trastorno CDG-Ia, CDG-Ie, CDG-Ii, CDG-Ik, CDG-Io, CDG-Ip o DPM2-CDG.

11. La composición o la composición farmacéutica para el uso de la reivindicación 9, que comprende administrar al sujeto la composición o la composición farmacéutica, en donde el trastorno congénito de glicosilación (CDG) es un trastorno CDG-Ia.

DIBUJOS

FIG. 1A

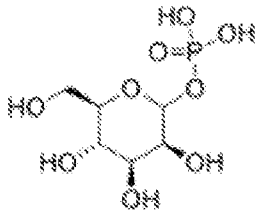


FIG. 1B

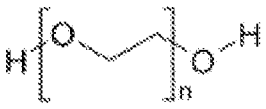
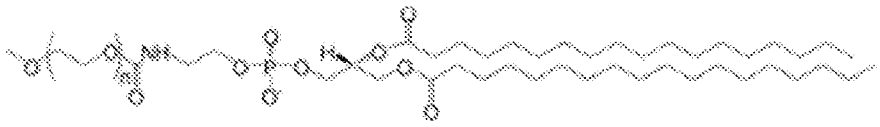
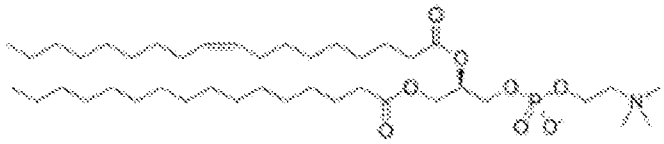


FIG. 1C



PEG-DSPE

FIG. 1D



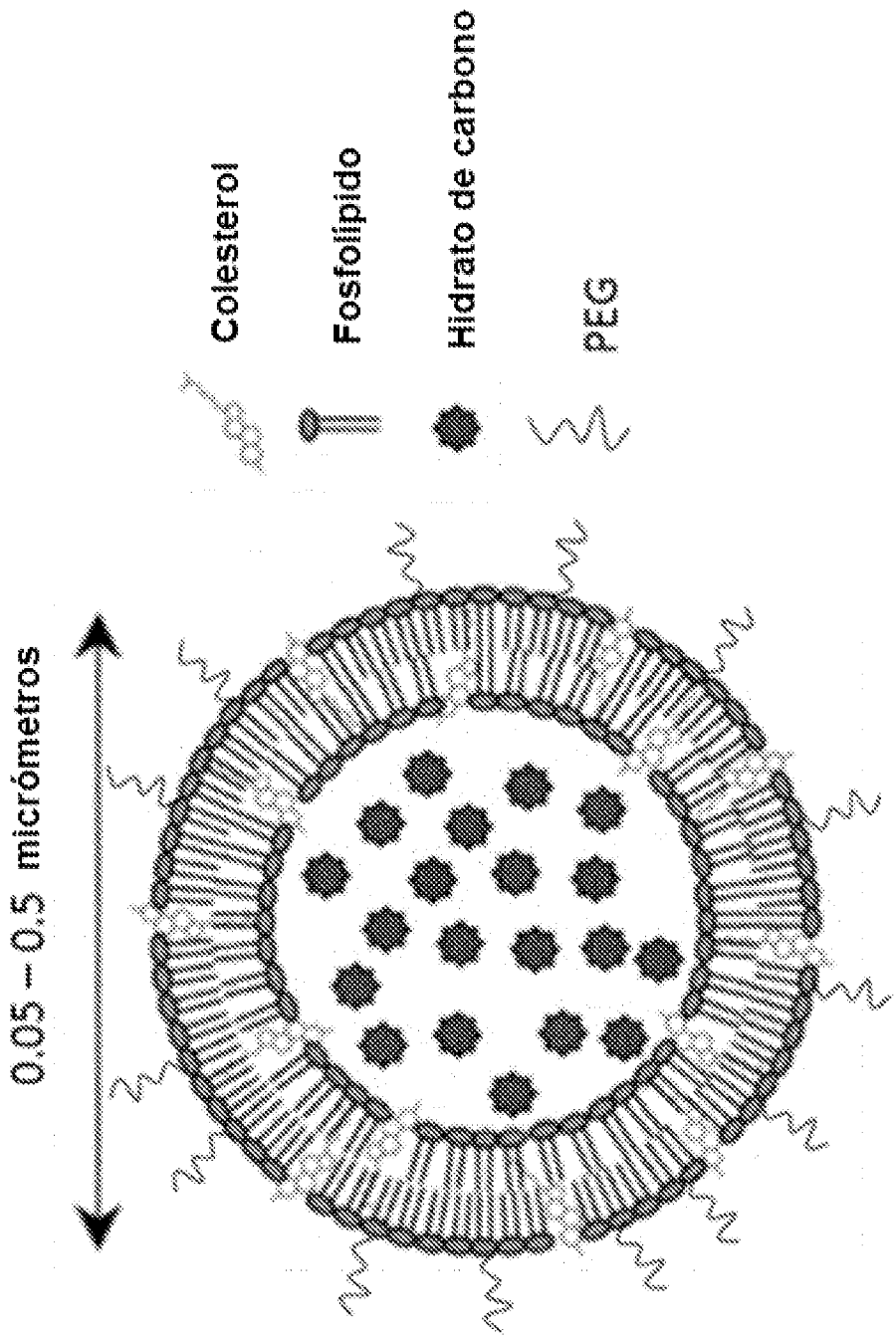

Colesterol
Fosfolípido
Hidrato de carbono
PEG
0,05 – 0,5 micrómetros

FIG. 2