



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 319 042**

⑫ Número de solicitud: 200701450

⑤① Int. Cl.:
C08F 226/06 (2006.01)
C08F 226/10 (2006.01)
C08F 220/10 (2006.01)
A61K 47/32 (2006.01)

⑫

SOLICITUD DE PATENTE

A1

⑫② Fecha de presentación: **25.05.2007**

⑫③ Fecha de publicación de la solicitud: **01.05.2009**

⑫④ Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
01.05.2009

⑦① Solicitante/s: **Universidad del País Vasco
Barrio Sarriena, s/n
48940 Leioa, Vizcaya, ES**

⑦② Inventor/es: **Forcada García, Jacqueline;
Imaz Makazaga, Ainara y
Ramos Julián, José**

⑦④ Agente: **Arias Sanz, Juan**

⑤④ Título: **Microgeles biocompatibles y sus aplicaciones.**

⑤⑦ Resumen:

Microgeles biocompatibles y sus aplicaciones.

Los microgeles biocompatibles comprenden una red polimérica constituida por unidades poliméricas interconectadas entre sí a través de un agente de entrecruzamiento, obtenida por polimerización en medio disperso de un monómero vinílico y un co-monómero basado en un carbohidrato. Dichos microgeles biocompatibles pueden ser utilizados, entre otras aplicaciones, para transportar y dosificar agentes biológicamente activos.

ES 2 319 042 A1

DESCRIPCIÓN

Microgeles biocompatibles y sus aplicaciones.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se relaciona con unos microgeles biocompatibles y sus aplicaciones, con un procedimiento para su producción y con composiciones farmacéuticas que comprenden dichos microgeles. Dichos microgeles biocompatibles pueden ser utilizados, entre otras aplicaciones, para transportar y dosificar agentes biológicamente activos.

Antecedentes de la invención

Los sistemas para la liberación de agentes biológicamente activos constituyen un campo de investigación en continuo desarrollo. Es conocido que la administración de ingredientes activos al cuerpo humano y animal requiere de vehículos de transporte adecuados, en los que el ingrediente activo permanezca químicamente inalterado y farmacológicamente estable durante su tránsito desde el lugar de administración hasta la diana donde va a ejercer su efecto. Asimismo, las características del vehículo deben ser tales que no sólo sea compatible con el recorrido que tenga que realizar, sino también con el lugar de dosificación, es decir, que libere el ingrediente activo en el momento preciso cuando haya llegado a la diana y que permita la biodisponibilidad del mismo.

De entre las posibilidades propuestas para la liberación de ingredientes activos o fármacos, se han desarrollado sistemas nanoparticulados a base de polímeros hidrofílicos como sistema de liberación de fármacos. Se han publicado numerosos trabajos que describen diversos métodos de elaboración de nanopartículas hidrofílicas a base de macromoléculas de origen natural tales como las nanopartículas de albúmina y gelatina.

Actualmente, los hidrogeles y los microgeles se están proponiendo como nuevos vehículos para la liberación de ingredientes activos o fármacos debido que ambos pueden encapsular dichos ingredientes activos o fármacos en un ambiente acuoso y bajo condiciones relativamente suaves. Además, se ha constatado que las partículas de microgel son capaces de responder a los estímulos de una forma mucho más rápida que sus homólogos geles macroscópicos, los hidrogeles, debido a su pequeño tamaño. Por otro lado, el tamaño de las partículas que forman el microgel es un parámetro muy importante puesto que gobierna la eficacia del sistema de liberación. Las partículas especialmente útiles en este tipo de aplicación son las partículas coloidales con un diámetro inferior a 1 μm [Couvreur P. y col., *Polymeric Nanoparticles and Microspheres*, Guiot, P.; Couvreur, P., ed., CRC Press, Boca Raton, Fla., 27-93, 1986].

La familia de polímeros más empleada en la síntesis de microgeles sensibles a las condiciones del medio es la de las poli(alquilacrilamidas) sensibles a la temperatura, más concretamente la poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAM). Sin embargo, la toxicidad de las poli(alquilacrilamidas) impide su empleo en aplicaciones biomédicas. A pesar de esto, son muchos los artículos y patentes publicados durante estos últimos años sobre este tipo de microgeles: WO 2006/102762 propone una técnica para injertar grupos ácido borónico en microgeles de PNIPAM con grupos carboxilo, los cuales se utilizan para liberar de forma controlada insulina; Nolan, C.M. y col. *Biomacromolecules* 2006, 7 (11), 2918-2922 también investigan la liberación de insulina a partir de microgeles de PNIPAM empleando ^1H RMN de temperatura variable; Bradley, M. y col. *Langmuir* 2005, 21, 1209-1215 sintetizan microgeles de NIPAM con ácido acrílico para estudiar la captación y liberación de moléculas de polióxido de etileno (POE) de distintos pesos moleculares a distintos pH; Berndt, I. y col. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2006, 45, 1735-1741 preparan microgeles con una corteza de PNIPAM y un núcleo de poli(N-isopropilmetacrilamida) (PNIPMAM) encontrando que a una temperatura comprendida entre 34°C y 44°C la corteza se colapsa, aunque el núcleo sigue hinchado.

Dentro de los monómeros biocompatibles y sensibles a la temperatura se encuentra la N-vinilcaprolactama (VCL) [Vihola, H. y col. *Biomaterials* 2005, 26, 3055-3064]. Debido a su biocompatibilidad, en los últimos años se está investigando su utilización para fines terapéuticos. A la hora de sintetizar el correspondiente polímero, se han utilizado diferentes técnicas de polimerización, tales como la polimerización en masa (Lau, A. C. W.; Wu, C. *Macromolecules* 1999, 32, 581-584); en suspensión (US 2003/008993), o en emulsión (Peng, S.; Wu, C. *Macromolecules* 2001, 34, 568-571). Además, se han realizado copolimerizaciones con N-vinilimidazol (Lozinsky, I. A. y col. *Macromolecules* 2003, 36, 7308-7323), acrilato de sodio (Peng, S. y col. *Macromol. Symp.* 2000, 159, 179-186), glicidil metacrilato (Qiu, X. y col. *J. Polym. Sci. Part A, Polym. Chem.* 2006, 44, 183-191), estireno (Pich, A. y col. *Colloid Polym. Sci.* 2003, 281, 916-920), vinilpirrolidona (Boyko, V. y col. *Macromolecules* 2005, 38 (12), 5266-5270), y con ácido metacrílico (Okhapkin, I. M. y col. *Macromolecules* 2003, 36 (21), 8130-8138). También, se ha copolimerizado con moléculas de poli(óxido de etileno) y sus derivados, ya que es un componente que aumenta la biocompatibilidad de los polímeros (Laukkanen, A. y col. *Macromolecules* 2000, 33, 8703-8708; Yanul, N. A. y col. *Macromol. Chem. Phys.* 2001, 202, 1700-1709; Verbrugghe, S. y col. *Macromol. Chem. Phys.* 2003, 204, 1217-1225). El hecho de haber profundizado en el estudio de las propiedades de los microgeles basados en este monómero (Laukkanen, A. y col. *Macromolecules* 2004, 37, 2268-2274. Meeussen, F. y col. *Polymer* 2000, 41, 8597-8602. Shtanko, N. I. y col. *Polym. Int.* 2003, 52, 1605-1610) ha hecho posible la encapsulación de diferentes compuestos dentro de las partículas del microgel. Por ejemplo, se han introducido nanopartículas de oro (Pich, A. y col. *e-Polymer* 2006, 18, 1-16) y enzimas (Pich, A. y col. *Macromolecules* 2006, 39, 7701-7707). También ha sido posible la encapsulación de varias moléculas de fármaco modelo tales como nadolol, propranolol y colinestearasa (Vihola, H. y col. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2002, 16, 69-74).

De entre todas las familias de microgeles biocompatibles que pueden encontrarse en bibliografía destacan todos aquellos basados en polisacáridos por ser, la mayoría de ellos, biodegradables. WO 2003/082316 describe la síntesis de microgeles basados en dextrano empleando un reticulante que contiene un enlace covalente que se rompe fácilmente en medio ácido. De esta forma el material se degrada por hidrólisis, liberando de forma controlada principios activos.

5 También se han sintetizado otras familias de microgeles basados en cadenas de polisacáridos modificados con grupos polimerizables por vía radical (WO 2006/071110 A1; Franssen, O. y col. *Int. J. Pharm.* 1998, 168, 1-7; Van Tomme, S.R. y col. *Biomaterials* 2005, 2129-2135; Chen, F. y col. *Int. J. Pharm.* 2006, 307, 23-32). Sin embargo, ninguno de ellos manifiesta sensibilidad con la temperatura.

10 Breve descripción de las figuras

La Figura 1 es una gráfica que muestra la absorción de una molécula modelo (calceína) en microgeles biocompatibles de la invención obtenidos en la reacción I1 CL4B, sintetizadas a 70°C.

15 La Figura 2 es una gráfica que muestra la absorción de una molécula modelo (calceína) en microgeles biocompatibles obtenidos en la reacción I1 PE6, sintetizadas a 70°C.

La Figura 3 es un diagrama de barras que muestra la viabilidad celular en cultivos de ratas de nueve días de su sembrado tras incubación durante 24 horas con un microgel biodegradable. La dilución 1:100 (primera columna) presenta una baja toxicidad en estas condiciones; sin embargo a diluciones 1:300 y 1:1000 (segunda y tercera columnas a la derecha) la viabilidad de las células es del 100%.

20

La Figura 4 es un diagrama de barras que muestra la viabilidad celular en cultivos de ratas de nueve días de su sembrado tras incubación durante 24 h con un microgel biodegradable. La dilución 1:100 (primera columna) presenta una baja toxicidad en estas condiciones; sin embargo a diluciones 1:300 y 1:1000 (segunda y tercera columnas a la derecha) la viabilidad de las células aunque no llega al 100%, es considerablemente más alta.

25

Descripción detallada de la invención

30 En un aspecto, la invención se relaciona con un microgel biocompatible, en adelante microgel biocompatible de la invención, que comprende una red polimérica, comprendiendo dicha red polimérica unas unidades poliméricas interconectadas entre sí a través de un agente de entrecruzamiento, en el que dicha red polimérica es obtenible por polimerización en medio disperso de un monómero vinílico y un co-monómero basado en un carbohidrato. En una realización particular, dicha red polimérica del microgel compatible de la invención comprende, además, un co-monómero (met)acrílico.

35

El término “microgel”, tal como aquí se utiliza, se refiere a una partícula de hidrogel tridimensional de 10 nm a 1.000 nm (1 μ m) de diámetro. Asimismo, un “hidrogel” es una red macromolecular tridimensional que se hincha en agua y que está formado a partir de un polímero entrecruzado (e.g., unidades poliméricas interconectadas entre sí mediante un agente de entrecruzamiento).

40

Dicho microgel biocompatible de la invención, si se desea, puede contener, además, al menos, un agente biológicamente activo, dando lugar a un microgel biocompatible cargado con un agente biológicamente activo que puede ser utilizado para transportar, suministrar y/o dosificar agentes biológicamente activos al sitio de interés. Los microgeles biocompatibles, cargados o no con agentes biológicamente activos, proporcionados por esta invención, pueden encontrarse en forma de nanopartículas, son sensibles a los cambios de temperatura y pH del medio en el que se encuentran dispersos, y pueden hincharse y deshincharse (es decir, cambiar de tamaño), respondiendo de este modo a estímulos de temperatura y pH. Nanopartículas de microgel biocompatible cargado o no con un agente biológicamente activo proporcionadas por esta invención pueden ser liofilizadas y, posteriormente, resuspenderse en medio acuoso conservando inalteradas sus propiedades y sensibilidades. Por tanto, los microgeles proporcionados por esta invención son materiales biocompatibles, útiles como portadores de agentes biológicamente activos, capaces de absorber (encapsular/captar) tanto agentes biológicamente activos hidrófobos como hidrófilos, y dosificarlos apropiadamente ya que responden a estímulos de temperatura y pH del medio en el que están dispersos.

45

50

55 Los microgeles biocompatibles y sensibles a la temperatura y pH de la presente invención presentan numerosas ventajas con respecto a otros materiales inteligentes que no pueden ser utilizados en la dosificación de fármacos porque no cumplen la condición de biocompatibilidad. En estos nuevos microgeles la fuerza impulsora que controla la absorción y posterior dosificación del agente biológicamente activo tiene un cierto carácter covalente, lo que supone una ventaja adicional tanto en el transporte del agente biológicamente activo como en su dosificación en el lugar elegido.

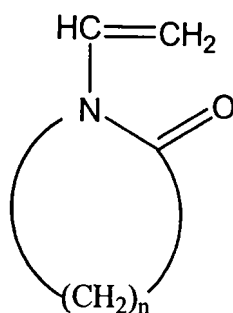
60

Monómero vinílico

De acuerdo con la presente invención, el componente “monómero vinílico”, que constituye el monómero principal, es una lactama (amida cíclica) que comprende un grupo vinilo ($-\text{CH}=\text{CH}_2$) unido al nitrógeno de la lactama. Es, por tanto, un monómero anfílico debido a que contiene grupos hidrófilos (amida) e hidrófobos (grupo vinilo y grupos alquilo del anillo de la lactama).

65

En una realización particular, dicho monómero vinílico es una N-vinil-lactama de 4-8 miembros en el anillo de la lactama, de fórmula general



donde n es un número entero comprendido entre 3 y 5.

En una realización particular, dicho monómero vinílico se selecciona entre N-vinilcaprolactama (VCL), N-vinilpirrolidona y sus mezclas, preferentemente, VCL.

La VCL es parcialmente soluble en agua, siendo su solubilidad de 8,5% en peso. La solubilidad en agua del correspondiente homopolímero, poli(N-vinilcaprolactama) (PVCL), varía con la temperatura. La presencia de los grupos hidrófobos e hidrófilos hace que coexistan fuerzas repulsivas y atractivas. El balance de estas fuerzas determina la solubilidad del polímero. Ciertos polímeros son solubles en agua a baja temperatura, separándose de la disolución y formando fase aparte al aumentar la temperatura por encima de un valor conocido como “temperatura inferior crítica de disolución” (en inglés, LCST), también llamada “temperatura crítica de cambio de fase”. En función de los monómeros empleados en la reacción de polimerización, los microgeles biocompatibles de la invención estarán constituidos por polímeros con distintos valores de LCST. El cambio de volumen experimentado por dichos microgeles biocompatibles de la invención sensibles a la temperatura puede ser mayor o menor según se copolimerice con monómeros más o menos hidrófilos. En resumen, ciertos polímeros con una composición y densidad de entrecruzamiento apropiadas pueden hincharse enormemente en agua a temperatura ambiente y colapsar a la LCST. Esta transición de fase es reversible.

La poli(N-vinilcaprolactama) (PVCL) es un polímero cuyo comportamiento en disolución es sensible a la temperatura. En fase acuosa, sus cambios de fase ocurren en un intervalo de temperatura comprendido entre 30°C y 40°C, es decir, cercano a la temperatura fisiológica. Además, cuenta con una característica adicional, su biocompatibilidad, que lo hace susceptible de ser utilizado en aplicaciones biomédicas. Durante el desarrollo de esta invención se ha observado que la síntesis de dicho polímero no se lleve a cabo a un pH ácido con el fin de evitar la hidrólisis de la VCL.

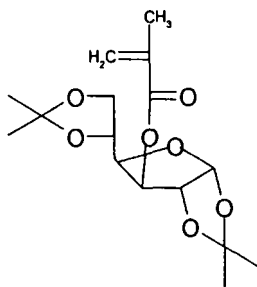
La concentración de monómero vinílico respecto al total de la formulación (receta) que comprende los componentes necesarios para la obtención de las unidades poliméricas interconectadas entre sí a través de un agente de entrecruzamiento que constituyen la red polimérica del microgel biocompatible de la invención puede variar dentro de un amplio intervalo; en concreto, entre la concentración de monómero vinílico que al polimerizar no forme un gel macroscópico (concentración máxima) y la concentración de monómero vinílico que al polimerizar permita obtener el diámetro final deseado del microgel biocompatible de la invención (concentración mínima). En una realización particular, la concentración de monómero vinílico está comprendida entre el 1-3% en peso respecto al total de la receta.

Co-monómero basado en un carbohidrato

De acuerdo con la presente invención, el componente “co-monómero basado en un carbohidrato” comprende un grupo acrílico o metacrílico y un grupo derivado de un glucósido, comprendiendo dicho grupo derivado de glucósido un glucofurano y dos grupos isopropilideno. En general, este componente aumenta la biocompatibilidad del monómero principal (monómero vinílico) y colabora en el control del balance hidrófobo/hidrófilo del microgel biocompatible de la invención.

En una realización particular, dicho co-monómero basado en un carbohidrato se selecciona del grupo formado por 3-O-metacrililoil-1,2:5,6-di-O-isopropilideno-D- glucofuranosa (3-MDG), un dextrano con uno o más grupos vinilo, y sus mezclas, preferentemente, 3-MDG.

El compuesto 3-MDG, de fórmula



es biocompatible, al tratarse de un co-monómero basado en un carbohidrato, y, además, debido a que es un co-monómero más hidrófobo que la N-vinilcaprolactama (VCL), permite sintetizar microgeles biocompatibles de la invención con temperaturas de transición de fase diferentes.

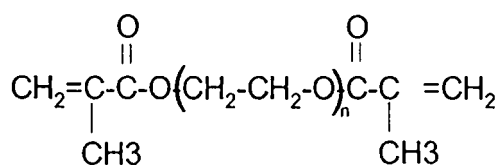
Los grupos isopropilideno de dicho co-monómero basado en un carbohidrato se pueden descomponer para dar grupos glucósido, conteniendo cada uno de dichos grupos glucósidos cinco grupos hidroxilo en su estructura.

La concentración de co-monómero basado en un carbohidrato, con respecto a la cantidad en peso del monómero vinílico, presente en la formulación (receta) que comprende los componentes necesarios para la obtención de las unidades poliméricas interconectadas entre sí a través de un agente de entrecruzamiento que constituyen la red polimérica del microgel biocompatible de la invención puede variar dentro de un amplio intervalo; no obstante, en una realización particular, la concentración de co-monómero basado en un carbohidrato está comprendida entre 5% y 40% en peso respecto al monómero vinílico.

Agente de entrecruzamiento

De acuerdo con la presente invención, el componente “agente de entrecruzamiento” es un monómero difuncional que comprende (i) al menos una unidad de etilenglicol y/o (ii) al menos un grupo vinilo.

En una realización particular, dicho agente de entrecruzamiento es un monómero difuncional que comprende al menos una unidad de etilenglicol. Ejemplos ilustrativos, no limitativos, de dicho agente de entrecruzamiento incluyen un monómero difuncional de fórmula general



donde n es mayor o igual que 1.

En este caso, cuando n es 1, el agente de entrecruzamiento es el dimetacrilato de etilenglicol (EGDMA) y cuando n es mayor que 1, el agente de entrecruzamiento es poli(dimetacrilato de etilenglicol) (PEGDMA).

Análogamente, otros monómeros difuncionales que comprenden al menos una unidad de etilenglicol y al menos dos grupos vinilo incluyen el diacrilato de etilenglicol (EGDA) y el poli(diacrilato de etilenglicol) (PEGDA).

En otra realización particular, dicho agente de entrecruzamiento es un monómero difuncional que comprende al menos una unidad de etilenglicol. Ejemplos ilustrativos, no limitativos, de dicho agente de entrecruzamiento incluyen etilenglicol di(1-metacrililoiloxi)etil éter, etc.

En otra realización particular, dicho agente de entrecruzamiento es un monómero difuncional que comprende al menos un grupo vinilo. Ejemplos ilustrativos, no limitativos, de dicho agente de entrecruzamiento incluyen un dextrano con más de un grupo vinilo, la N,N'-metilenbisacrilamida (BA), etc.

La BA, a diferencia de los otros agentes de entrecruzamiento citados previamente, no es biocompatible.

En otra realización particular, dicho agente de entrecruzamiento es un monómero difuncional seleccionado del grupo formado por EGDMA, PEGDMA, EGDA, PEGDA, etilenglicol di(1-metacrililoiloxi)etil éter, un dextrano con más de un grupo vinilo, BA, y sus mezclas, preferentemente, EGDMA, PEGDMA, EGDA y/o PEGDA.

Algunos de dichos agentes de entrecruzamiento presentan la característica de que, además de los átomos de oxígeno de los grupos carbonilo, los átomos de oxígeno presentes en las unidades de etilenglicol pueden formar puentes de hidrógeno con grupos carboxilo.

- 5 La concentración de agente de entrecruzamiento, respecto al monómero vinílico, presente en la formulación (receta) que comprende los componentes necesarios para la obtención de las unidades poliméricas interconectadas entre sí a través de dicho agente de entrecruzamiento que constituyen la red polimérica del microgel biocompatible de la invención puede variar dentro de un amplio intervalo, en función del diámetro deseado del microgel biocompatible de la invención (a temperaturas más altas o bajas que la LCST); no obstante, en una realización particular, la concentración de agente de entrecruzamiento presente en dicha receta está comprendida entre 2% y 10% en peso respecto al monómero vinílico.

Co-monómero (met)acrílico

- 15 Como se ha mencionado previamente, en una realización particular, la red polimérica del microgel compatible de la invención comprende, además, un co- monómero (met)acrílico como componente opcional. Ejemplos ilustrativos, no limitativos, de dicho co-monómero (met)acrílico incluyen el ácido acrílico, el ácido metacrílico y sus ésteres y derivados (e.g., N,N'-dietilaminoetilmetacrilato, hidrocloreto de aminoetil metacrilato, etc.).

- 20 Este componente es sensible a los cambios de pH del medio y, por ello, confiere sensibilidad al pH; es decir, cuando el pH del medio está por debajo del pKa del grupo carboxilo, dicho grupo se encuentra protonado (-COOH), mientras que cuando el pH sobrepasa el pKa de dicho grupo carboxilo se ioniza, aportando cargas negativas al microgel biocompatible de la invención.

- 25 La concentración de co-monómero (met)acrílico, respecto al monómero principal, cuando está presente en la formulación (receta) que comprende los componentes necesarios para la obtención de las unidades poliméricas interconectadas entre sí a través de dicho agente de entrecruzamiento que constituyen la red polimérica del microgel biocompatible de la invención puede variar dentro de un amplio intervalo; no obstante, en una realización particular, la concentración de co-monómero (met)acrílico presente en dicha receta está comprendida entre 1% y 10% en peso respecto al monómero vinílico.

Obtención del microgel biocompatible de la invención

- 35 El microgel biocompatible de la invención se obtiene como resultado del entrecruzamiento de unidades poliméricas interconectadas entre sí a través del agente de entrecruzamiento, generando una red polimérica. Dicha red polimérica puede ser obtenida mediante un procedimiento de polimerización en medio disperso de los monómeros y co-monómeros deseados (e.g., monómero vinílico, co-monómero basado en un carbohidrato, y, opcionalmente, co-monómero (met)acrílico) en presencia de dicho agente de entrecruzamiento. La polimerización de un monómero, así como la copolimerización de dos o más monómeros diferentes, en un medio disperso (heterogéneo) es conocida por los técnicos en la materia. En una realización particular, dicho procedimiento de polimerización se lleva a cabo en emulsión, es decir, mediante un procedimiento de polimerización en medio disperso vía radicales libres. Para llevar a cabo dicho procedimiento se requiere la participación de emulsificantes (tensioactivos) e iniciadores, así como tampones (disoluciones reguladoras) apropiados.

- 45 En una realización particular, el procedimiento de polimerización en emulsión de dichos monómeros y co-monómeros comprende el empleo de un emulsificante, tal como un emulsificante aniónico, y un iniciador, apropiados, en un tampón adecuado. En general, en este tipo de procedimiento de polimerización, el agua (e.g., agua destilada) se utiliza como medio continuo de reacción.

- 50 El emulsificante aniónico confiere estabilidad coloidal a los microgeles biocompatibles de la invención. Aunque prácticamente cualquier emulsificante aniónico apropiado podría ser utilizado, en una realización particular, dicho emulsificante aniónico es el dodecilsulfato sódico (SDS). La concentración de emulsificante aniónico que puede ser utilizada en la puesta en práctica de dicho procedimiento puede variar dentro de un amplio intervalo; no obstante, en una realización particular, la concentración de emulsificante aniónico está comprendida entre 2% y 4% en peso respecto al monómero vinílico, siempre por debajo de la concentración crítica micelar (CMC) del emulsificante (e.g., 8,3 mM, 25°C), para evitar que se formen micelas.

- El iniciador se descompone térmicamente para proporcionar radicales libres capaces de reaccionar con el monómero vinílico. Aunque prácticamente cualquier iniciador capaz de descomponerse y generar radicales libres apropiado podría ser utilizado, en una realización particular, dicho iniciador es un peróxido, tal como el persulfato potásico (KPS) [K₂S₂O₈]. La concentración de iniciador que puede ser utilizada en la puesta en práctica de dicho procedimiento puede variar dentro de un amplio intervalo; no obstante, en una realización particular, la concentración de iniciador está comprendida entre 0,5% y 1,5% en peso respecto al monómero vinílico.

- 65 Como tampón a utilizar en la reacción de polimerización puede emplearse prácticamente cualquier tampón que mantenga el pH del medio entre 6-7. En una realización particular, el tampón empleado en la reacción de polimerización ha sido el bicarbonato sódico que impide la hidrólisis del monómero vinílico y que disminuya el pH a 3 en las

reacciones de polimerización iniciadas con persulfato potásico. El tampón estará presente en el medio de la reacción de polimerización en la concentración adecuada para mantener el pH deseado.

La reacción de polimerización puede llevarse a cabo a una temperatura comprendida dentro de un amplio intervalo; no obstante, a la hora de elegir la temperatura de reacción es muy importante tener en cuenta la temperatura crítica de cambio de fase (LCST) de las unidades poliméricas que constituyen la red polimérica del microgel biocompatible de la invención. En una realización particular, la reacción de polimerización se lleva a cabo a una temperatura superior a las LCST de las distintas unidades poliméricas que forman parte de los microgeles biocompatibles de la invención. En una realización concreta, la reacción de polimerización se lleva a cabo a una temperatura igual o superior a 60°C.

Asimismo, la velocidad de agitación de la formulación (receta) que contiene los componentes necesarios para generar el microgel biocompatible de la invención mediante polimerización en un medio disperso tal como se ha mencionado previamente puede variar dentro de un amplio intervalo; no obstante, la velocidad de agitación debe ser lo suficientemente alta como para conseguir una mezcla homogénea de la dispersión (mezcla de reacción) a la hora de sintetizar los microgeles biocompatibles de la invención. En una realización particular, la velocidad de agitación es igual o superior a 200 rpm; en otra realización particular, la velocidad de agitación está comprendida entre 200 y 400 rpm.

La reacción de polimerización puede llevarse a cabo en un reactor en modo discontinuo o en modo semicontinuo.

Las características técnicas de los microgeles biocompatibles de la invención dependerán, entre otros factores, de la naturaleza y concentración utilizadas de monómero vinílico, co-monómero basado en carbohidrato, agente de entrecruzamiento, co-monómero (met)acrílico (en su caso), emulsificante, iniciador, y temperatura de reacción. Sin embargo, a modo ilustrativo, no limitativo, se pueden indicar los valores de algunas características técnicas de dichos microgeles biocompatibles de la invención, en forma de intervalo:

- Diámetro de partícula deshinchado (55°C): 80 - 180 nm [diámetro hidrodinámico promedio de partícula (Dp) medido por espectroscopia de correlación fotónica (PCS)].
- Diámetro de partícula hinchado (15°C): 200 - 400 nm
- Temperatura inferior crítica de disolución (LCST): 30-39°C
- Carga superficial: 2,9 $\mu\text{C}/\text{cm}^2$ [determinada mediante valoración conductimétrica (Ramos, J.; Forcada, J. Journal Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry 2003, 41 (15), 2322-2334)].

Los microgeles de la invención pueden encontrarse en forma de nanopartículas, que pueden ser liofilizadas y, una vez liofilizadas, si se resuspenden en medio acuoso, mantienen sus propiedades y capacidad de hinchamiento/deshinchamiento o respuesta a cambios de temperatura y pH.

Para analizar la sensibilidad de nanopartículas a base de microgeles biocompatibles de la invención a los cambios de temperatura, se han medido los tamaños de las nanopartículas finales (Dp) a diferentes temperaturas (desde 10°C hasta 55°C, con un incremento de 2,5°C), calculándose la LCST de las unidades poliméricas que las constituye a partir de la representación gráfica Dp vs T, T a la cual se observa el punto de inflexión de la curva.

Para que los microgeles biocompatibles de la invención respondan volumétricamente a los cambios de temperatura y pH tienen que estar sometidos a cambios de temperatura del medio en el que están dispersos que varían desde temperaturas por debajo de la LCST hasta temperaturas superiores a la LCST. En cuanto a los cambios de pH, el pH del medio de dispersión tiene que variar desde pH inferiores al pK_a hasta valores superiores al pK_a .

Microgeles biocompatibles cargados con un agente biológicamente activo

Como se ha mencionado previamente, los microgeles biocompatibles de la invención son capaces de captar o encapsular agentes biológicamente activos. Por tanto, en una realización particular, el microgel biocompatible de la invención comprende un agente biológicamente activo. En general, dicho agente biológicamente activo puede estar en el interior del microgel biocompatible de la invención o de la nanopartícula de microgel biocompatible de la invención; no obstante, en ocasiones, el agente biológicamente activo puede estar, además, unido o adsorbido a la superficie externa de dicho microgel o nanopartícula.

Los microgeles biocompatibles cargados con agentes biológicamente activos proporcionados por esta invención, pueden encontrarse en forma de nanopartículas, son sensibles a los cambios de temperatura y pH del medio en el que se encuentran dispersos, y pueden hincharse y deshincharse (es decir, cambiar de tamaño), respondiendo de este modo a estímulos de temperatura y pH. Nanopartículas de microgel biocompatible cargado o no con un agente biológicamente activo proporcionadas por esta invención pueden ser liofilizadas y, posteriormente, resuspenderse en medio acuoso conservando inalteradas sus propiedades y sensibilidades.

Los microgeles biocompatibles y sensibles a la temperatura y pH de la presente invención presentan numerosas ventajas con respecto a otros materiales inteligentes que no pueden ser utilizados en la dosificación de fármacos porque no cumplen la condición de biocompatibilidad. En estos nuevos microgeles la fuerza impulsora que controla la

absorción y posterior dosificación del agente biológicamente activo tiene un cierto carácter covalente, lo que supone una ventaja adicional tanto en el transporte del agente biológicamente activo como en su dosificación en el lugar elegido.

5 El término “agente biológicamente activo”, tal como aquí se utiliza, se refiere a cualquier sustancia que se administra a un sujeto, preferentemente un ser humano, con fines profilácticos o terapéuticos; es decir, cualquier sustancia que puede ser utilizada en el tratamiento, cura, prevención o diagnóstico de una enfermedad o para mejorar el bienestar físico y mental de humanos y animales, por ejemplo, fármacos, antígenos, alérgenos, etc.

10 El microgel biocompatible de la invención o las nanopartículas de microgel biocompatible de la invención pueden incorporar uno o más agentes biológicamente activos independientemente de las características de solubilidad de las mismas.

15 La naturaleza química del agente biológicamente activo puede variar dentro de un amplio intervalo, desde moléculas pequeñas hasta compuestos macromoleculares (péptidos, polinucleótidos, etc.). En una realización particular, dicho agente biológicamente activo es un péptido o una proteína. En otra realización particular, dicho agente biológicamente activo es un nucleótido, un nucleótido, un oligonucleótido, un polinucleótido o un ácido nucleico (e.g., ARN o ADN). En otra realización particular, dicho agente biológicamente activo es una molécula (orgánica o inorgánica) pequeña; generalmente, estas moléculas se obtienen por métodos de síntesis química o semisintéticos o, alternativamente, se aíslan de sus fuentes. En una realización concreta, dicha molécula (orgánica o inorgánica) pequeña, tiene un peso molecular relativamente bajo, generalmente, igual o inferior a 5.000, típicamente, igual o inferior a 2.500, ventajosamente, igual o inferior a 1.500. Numerosos principios activos terapéuticos (fármacos) contienen estas características y, por tanto, pueden ser utilizados en la puesta en práctica de la presente invención.

25 Los microgeles biocompatibles de la invención (y, consecuentemente, las nanopartículas de microgeles biocompatibles de la invención) pueden ser utilizados como vehículos para la administración tanto de sustancias hidrófilas como de sustancias hidrófobas. Ejemplos ilustrativos, no limitativos, de agentes biológicamente activos (definidos por grupos terapéuticos) que pueden ser utilizados y encapsulados en el interior de dichos microgeles y nanopartículas incluyen: sustancias anticancerígenas, antibióticos, inmunodepresivos, sustancias antivirales, inhibidores enzimáticos, neurotoxinas, opioides, hipnóticos, antihistamínicos, tranquilizantes, anticonvulsivos, relajantes musculares y sustancias contra el Parkinson, antiespasmódicos y contractores musculares, mióticos y anticolinérgicos, compuestos antiglaucoma, compuestos antiparásitos y/o antiprotozoos, antihipertensivos, analgésicos, antipiréticos y antiinflamatorios, anestésicos locales, prostaglandinas, antidepresivos, sustancias antipsicóticas, antieméticos, neurotransmisores, proteínas, modificadores de la respuesta celular y vacunas.

35 Por tanto, los microgeles proporcionados por esta invención son materiales biocompatibles, útiles como portadores de agentes biológicamente activos, capaces de absorber (encapsular/captar) tanto agentes biológicamente activos hidrófobos como hidrófilos, y dosificarlos apropiadamente ya que responden a estímulos de temperatura y pH del medio en el que están dispersos.

40 La capacidad de encapsular y liberar agentes biológicamente activos se ha ensayado con una molécula modelo, concretamente, calceína, un compuesto que contiene 4 grupos carboxilo en su estructura a temperatura ambiente y a pH 3 (por debajo del pK_a del grupo carboxilo). Cuando el microgel colapse ($T > LCST$ o el pH del medio sea superior al pK_a) se liberarán las moléculas captadas.

45 La captación o encapsulación del agente biológicamente activo por los microgeles biocompatibles de la invención puede llevarse a cabo por métodos convencionales. En una realización particular, la reacción de polimerización en medio disperso para producir el microgel biocompatible de la invención puede llevarse a cabo en presencia del agente biológicamente activo con el fin de encapsular dicho agente en su interior. Alternativamente, el procedimiento de obtención del microgel biocompatible cargado con un agente biológicamente activo proporcionado por esta invención comprende poner en contacto una dispersión que comprende un microgel biocompatible de la invención con una disolución que comprende dicho agente (o agentes) biológicamente activo(s) a encapsular.

55 De forma más concreta, en una realización particular, se mezcla una dispersión que comprende los microgeles biocompatibles de la invención (o nanopartículas a base de dichos microgeles) con una disolución del agente biológicamente activo a captar, a un pH determinado (e.g., pH 3, para el caso de la calceína); la disolución resultante se agita durante un periodo de tiempo apropiado y se separan los microgeles/nanopartículas de la invención cargadas con el agente biológicamente activo por métodos convencionales, tales como centrifugación (e.g., a 10.000-15.000 rpm y 20°C). Después de separar las nanopartículas cargadas se analiza el sobrenadante por métodos convencionales, e.g., mediante espectrofotometría. Conocida la concentración de agente biológicamente activo que se ha utilizado y la concentración de agente biológicamente activo que ha quedado en el sobrenadante, se puede calcular la cantidad de agente biológicamente activo captado o absorbido.

Composiciones farmacéuticas

65 En otro aspecto, la invención se relaciona con una composición farmacéutica que comprende un microgel biocompatible cargado con un agente biológicamente activo proporcionado por esta invención, y un excipiente, vehículo o adyuvante, farmacéuticamente aceptable.

Ejemplos ilustrativos, no limitativos, de composiciones farmacéuticas incluyen cualquier composición (sólida o semisólida) destinada a su administración oral, bucal, sublingual, tópica, ocular, intranasal, pulmonar, rectal, vaginal, parenteral, tópica, etc. En una realización particular, la composición farmacéutica se administra por vía oral debido a su biocompatibilidad. Los microgeles biocompatibles de la invención son unos materiales “inteligentes” que proporcionan una liberación más controlada del agente biológicamente activo y protegen a dichos agentes biológicamente activos durante la liberación pudiendo controlarse de este modo su biodisponibilidad de manera uniforme y constante. La reversibilidad en las propiedades de hinchamiento de estos microgeles convierte a estos materiales en excelentes vehículos de transporte tanto de agentes biológicamente activos de pequeño tamaño como de nuevos fármacos macromoleculares (por ejemplo, péptidos) y otros productos terapéuticos.

Las composiciones farmacéuticas descritas comprenderán los excipientes adecuados para cada formulación. Por ejemplo, en el caso de formulaciones orales en forma de comprimidos o cápsulas se incluirán si es necesario agentes aglutinantes, desintegrantes, lubricantes, agentes de carga, recubrimiento entérico, etc. Las formulaciones sólidas orales se preparan de forma convencional por mezclado, granulación en seco o húmedo e incorporando el microgel biocompatible de la invención cargado con el agente biológicamente activo. Las composiciones farmacéuticas también pueden ser adaptadas para su administración parenteral, en forma de, por ejemplo, soluciones, suspensiones o productos liofilizados, estériles, en la forma de dosificación apropiada; en este caso, dichas composiciones farmacéuticas incluirán los excipientes adecuados, tales como tampones, tensioactivos, etc. En cualquier caso, los excipientes se elegirán en función de la forma farmacéutica de administración seleccionada. Una revisión de las distintas formas farmacéuticas de administración de fármacos y de su preparación puede encontrarse en el libro “Tratado de Farmacia Galénica”, de C. Fauli i Trillo, 10 Edición, 1993, Luzán 5, S.A. de Ediciones.

La proporción del agente biológicamente activo incorporada en los microgeles biocompatibles de la invención puede variar dentro de un amplio intervalo, por ejemplo, puede ser de hasta un 50% en peso respecto al peso total de las nanopartículas. No obstante, la proporción adecuada dependerá en cada caso de la moléculas biológicamente activa incorporada.

La invención se describe a continuación mediante unos ejemplos que no son limitativos de la invención, sino ilustrativos.

Ejemplo 1

Síntesis de microgeles basados en N-vinilcaprolactama

1. Materiales

El monómero, N-vinilcaprolactama (VLC, Aldrich); el iniciador: persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$, Fluka); el tampón: bicarbonato de sodio ($NaCO_3H$); el agente de entrecruzamiento: N,N'-metilenebisacrilamida (BA, Aldrich); el estabilizador: dodecil sulfato de sodio (SDS, Aldrich); y el patrón de H^1 -RMN, acetato de sodio, se utilizaron tal y como fueron adquiridos.

2. Síntesis de microgeles de poli(VCL-co-BA) y poli(VCL-co-BA-co-3-MDG)

Las dos familias de partículas de microgel se sintetizaron en un reactor por lotes mediante copolimerización en emulsión. En la síntesis de la primera familia, VCL se usó como monómero principal y BA como agente de entrecruzamiento, mientras que en la síntesis de la segunda familia, se usó el monómero basado en carbohidrato, 3-O-metacriloil-1,2:5,6-di-O-isopropilideno-D-glucofuranosa (3-MDG) junto con VCL y BA. SDS se usó como emulsionante y persulfato de potasio como iniciador. La solución tampón de bicarbonato sódico en agua se añadió en la reacción para controlar el pH de la mezcla de reacción.

Las partículas de microgel poli(VCL-co-BA) se prepararon usando diferentes concentraciones de iniciador a temperaturas de reacción diferentes. La Tabla 1 muestra las recetas y condiciones de reacción usadas en la producción de las partículas de microgel entrecruzadas con BA [poli(VCL-co-BA)]. En la primera columna se muestra la nomenclatura de la reacción: El número y/o la X seguida de I indica la cantidad de iniciador (I, % en peso) añadido respecto al monómero (VCL), y el segundo número y/o X muestra la cantidad de agente de entrecruzamiento (CL) y surfactante (S). B significa que la reacción es tamponada y el valor que sigue a la B es el % en peso de tampón con respecto VCL.

TABLA 1

Reacción	VCL (wt %)	BA (wt % M)	K ₂ S ₂ O ₈ (wt % M)	NaCO ₃ H (wt % M)	SDS (wt % M)	T(°C)
IICL4BX	1	4	1	0,1	4	70
IICLX	1	0,4,5,7,10	1	1	4	70
IXCL4	1	4	0,3,0,5,1	0,3,0,5, 1	4	70
IISX	1	4	1	1	1,2,3,4	70
IITX	1	4	1	1	4	60,70,75,80
IIVCLX	1,3,5	4	1	1	4	70
Condiciones de reacción: rpm= 400; Tiempo de reacción= 5 h						
Variables: concentraciones de VCL, BA, KPS, NaCO ₃ H y SDS, y temperatura de reacción.						

En la síntesis de los microgeles poli(VCL-co-BA-co-3-MDG) se emplearon diferentes proporciones de VCL frente a 3-MDG (87:13, 79:21, 70:30, 63:37). Las reacciones de polimerización se llevaron a cabo a 70°C usando un 1% en peso de iniciador y tampón con respecto a la cantidad total de VCL y 3-MDG. La Tabla 2 muestra la receta y las condiciones de reacción utilizadas en la producción de las partículas de microgel poli(VCL-co-BA-co-MDG).

TABLA 2

Reacción	VCL/3- MDG	BA (wt % M)	K ₂ S ₂ O ₈ (wt % M)	NaCO ₃ H (wt % M)	SDS (wt % M)
A	87:13	4	1	1	4
B	79:21	4	1	1	4
C	70:30	4	1	1	4
D	63:37	4	1	1	4
Condiciones de reacción: rpm= 400; Tiempo de reacción= 5 h;					
Temperatura de reacción= 70°C					
Variables: relaciones entre los comonomeros, VCL y 3-MDG					

Las reacciones de polimerización se llevaron a cabo en un reactor por lotes.

Ejemplo 2

Síntesis de microgeles basados en N-vinilcaprolactama y PEGDMA

1. Materiales

El monómero, N-vinilcaprolactama (VLC, Aldrich); el iniciador: persulfato de potasio (K₂S₂O₈, Fluka); el tampón: bicarbonato de sodio (NaCO₃H); el agente de entrecruzamiento: poli(etilenglicol)dimetacrilato (PEGDMA); el estabilizador: dodecil sulfato de sodio (SDS, Aldrich); el patrón de ¹H-RMN, acetato de sodio, y óxido de deuterio (D₂O₂, Aldrich) se utilizaron tal y como fueron adquiridos. A lo largo del proceso se empleó agua desionizada dos veces. Hidroquinona (Fluka) se usó como inhibidor de la reacción de polimerización.

2. Síntesis de microgeles de poli(VCL-co-PEGDMA)

Las partículas de microgel se sintetizaron con distintas concentraciones de agente de entrecruzamiento mediante polimerización en emulsión en un reactor por lotes. VCL se usó como monómero principal y PEGDMA como agente de entrecruzamiento. El surfactante usado fue SDS. La Tabla 3 muestra la receta y las condiciones de reacción usadas

en la producción de poli(VCL-co-PEGDMA). El número que sigue a I indica la cantidad de iniciador (I, wt %M) añadida con respecto al monómero (VCL).

TABLA 3

Reacción	VCL (wt %)	PEGDMA (wt % M)	K ₂ S ₂ O ₈ (wt % M)	NaCO ₃ H (wt % M)	SDS (wt % M)
I1PE2	1	2	1	1	4
I1PE4	1	4	1	1	4
I1PE6	1	6	1	1	4
I1PE8	1	8	1	1	4
I1PE10	1	10	1	1	4
Condiciones de reacción: rpm= 400; Tiempo de reacción= 5 h; Temperatura de reacción= 70°C Variable: concentración de PEGDMA					

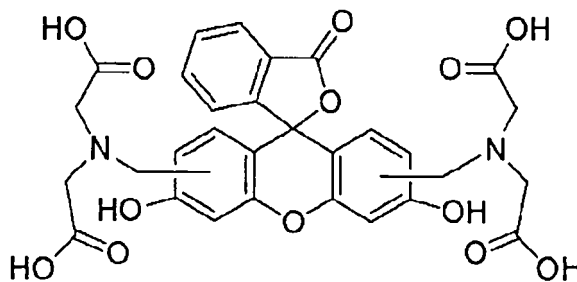
Ejemplo 3

Absorción de calceína por las partículas del microgel

Se analizó la capacidad de absorción de la calceína de los siguientes microgeles: I1CL4BX [microgel obtenido en el Ejemplo 1] y I1PE6 [microgel obtenido en la Ejemplo 2].

Materiales y métodos

La molécula modelo es la calceína cuya fórmula molecular corresponde a la siguiente estructura:



Peso molecular: 622,53 g/mol

Método de análisis

El procedimiento utilizado en el análisis de la absorción de la calceína fue el siguiente:

1. Preparar una disolución madre de calceína (200 ppm) a pH 3.
2. Obtener en el espectrofotómetro (Spectronic Genesys 5), la longitud de onda óptima de absorción (el máximo en la curva *absorbancia vs longitud de onda*).
3. Preparar distintas concentraciones de calceína y hacer la curva de calibrado para el espectrofotómetro.
4. Preparar distintas muestras, con distintas concentraciones de calceína (5-200 ppm) y la misma concentración de microgel (0,05 wt %) a pH 3.
5. Agitar (agitación orbital) durante 60 horas.

ES 2 319 042 A1

6. Medir el diámetro de cada microgel a 25°C y comparar con el diámetro de microgel que no contiene calceína (relación de hinchamiento).
7. Separar el microgel del medio acuoso por centrifugación: 20°C, 10,000 rpm, 2 horas.
8. Analizar la concentración del sobrenadante con el espectrofotómetro.

Resultados

Las Figuras 1 y 2 muestran la cantidad de molécula modelo (calceína) absorbida (mg/g) por las partículas de microgel frente a la concentración de calceína.

Ejemplo 4

Ensayos de biocompatibilidad y toxicidad de las partículas de microgel

Materiales y métodos

Los ensayos se han realizado en cultivos primarios de cerebro embrionario de rata. En estos cultivos se realizaron ensayos de biocompatibilidad y toxicidad mediante el uso de sondas fluorescentes, como el diacetato de fluoresceína y la calceína, que se incorporan a las células cultivadas viables (en distintos estados de madurez). A su vez, la cuantificación de las células vivas se realizó con fluorimetría. Los microgeles se aplicaron a concentraciones variables, permitiendo así establecer las concentraciones a las que no altera la viabilidad celular.

Resultados

Los microgeles han mostrado un perfil de toxicidad bajo cuando las células eran más inmaduras (9 días *in vitro*; 9DIV) y se incubaron durante periodos relativamente cortos (24 horas; Figura 3). Sin embargo, la toxicidad se incrementa en cultivos más viejos (16 días) y cuando la incubación con microgeles es más prolongada (72 horas; Figura 4).

REIVINDICACIONES

1. Un microgel biocompatible que comprende una red polimérica, comprendiendo dicha red polimérica unas unidades poliméricas interconectadas entre sí a través de un agente de entrecruzamiento, en el que dicha red polimérica es obtenible por polimerización en medio disperso de un monómero vinílico y un co-monómero basado en un carbohidrato.

2. Microgel según la reivindicación 1, en el que dicho monómero vinílico se selecciona entre N-vinilcaprolactama, N-vinilpirrolidona y sus mezclas.

3. Microgel según la reivindicación 1, en la que dicho co-monómero basado en carbohidratos comprende un grupo acrílico o metacrílico y un grupo derivado de un glucósido, comprendiendo dicho grupo derivado de glucósido un glucofurano y dos grupos isopropilideno.

4. Microgel según la reivindicación 3, en la que dicho co-monómero basado en carbohidratos se selecciona entre 3-O-metacriloil-1,2:5,6-di-O-isopropilideno-D- glucofuranosa (3-MDG), un dextrano con un grupo vinilo y sus mezclas.

5. Microgel según la reivindicación 1, en la que dicho agente de entrecruzamiento es un monómero difuncional que comprende al menos una unidad de etilenglicol y/o al menos un grupo vinilo.

6. Microgel según la reivindicación 5, en la que dicho monómero difuncional se selecciona entre dimetacrilato de etilenglicol (EGDMA), polidietilenglicol dimetacrilato (PEGDMA), diacrilato de etilenglicol (EGDA), polidietilenglicol diacrilato (PEGDA), etilenglicol di(1-metacrililoiloxi)etil éter, N,N'-metilenbisacrilamida (BA), un dextrano con más de un grupo vinilo, y sus mezclas.

7. Microgel según la reivindicación 1, en el que dicha red polimérica comprende, además, un co-monómero (met) acrílico.

8. Microgel según la reivindicación 7, en la que dicho co-monómero acrílico se selecciona entre ácido acrílico, ácido metacrílico, N,N'-dietilaminoetilmetacrilato e hidrocloreto de aminoetil metacrilato.

9. Microgel según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que comprende, además, un agente biológicamente activo.

10. Microgel según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en forma de nanopartículas.

11. Microgel según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en forma liofilizada.

12. Una composición farmacéutica que comprende un microgel biocompatible según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, y un excipiente, vehículo o adyuvante, farmacéuticamente aceptable.

13. Un procedimiento para la obtención de un microgel biocompatible según la reivindicación 1, que comprende la polimerización en medio disperso de una composición que comprende un monómero vinílico, un co-monómero basado en un carbohidrato y un agente de entrecruzamiento.

14. Procedimiento según la reivindicación 13, en el que dicha composición comprende, además, un co-monómero acrílico.

15. Procedimiento según la reivindicación 13 ó 14, en el que dicha polimerización se lleva a cabo en presencia de un agente biológicamente activo.

16. Procedimiento según la reivindicación 13 ó 14, que comprende, además, poner en contacto dicho microgel biocompatible con una disolución que comprende un agente biológicamente activo.

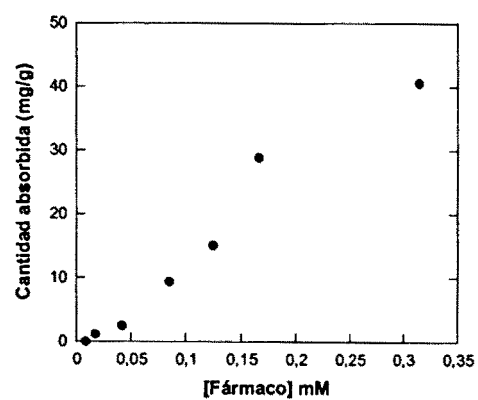


Figura 1

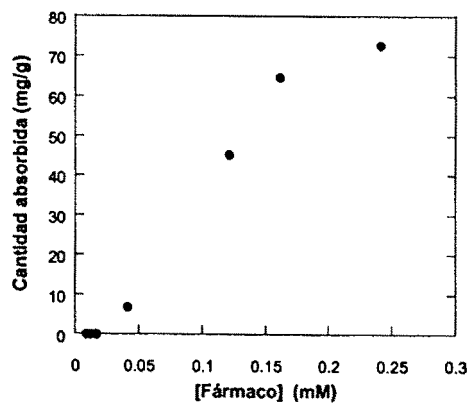


Figura 2

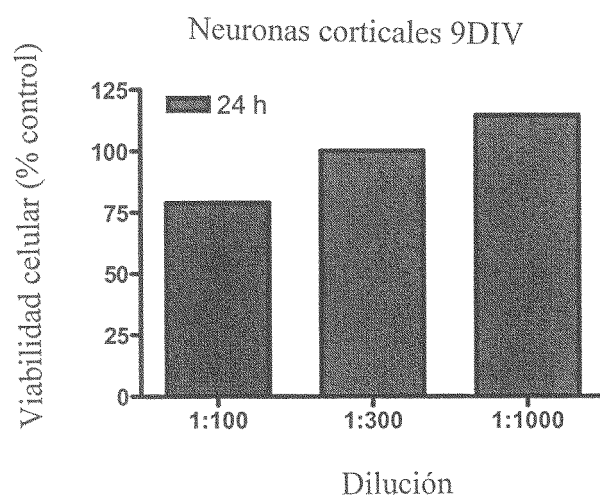


Figura 3

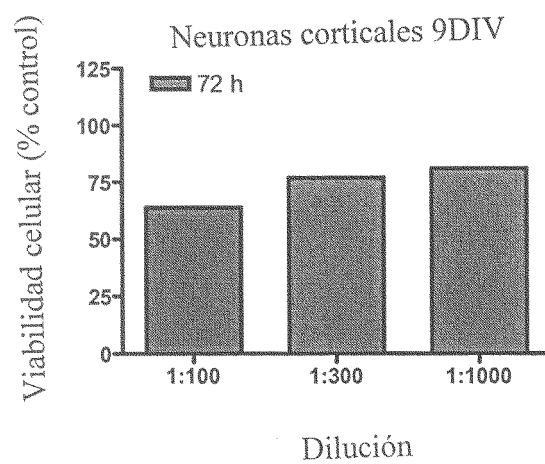


Figura 4



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ ES 2 319 042

⑫ Nº de solicitud: 200701450

⑬ Fecha de presentación de la solicitud: 25.05.2007

⑭ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑮ Int. Cl.: Ver hoja adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	IMAZ, A. et al. "Synthesis and Characterization of Saccharide-Based Latex Particles", Journal of Polymer Science: Part. A: Polymer Chemistry, 2006, Volumen 44, páginas 443-457 (Ver Introducción, experimental y tabla 4).	1,3-16
Y		2
Y	US 4482534 A (BLANK I. et al.) 13.11.1984, columna 4, línea 24 - columna 5, línea 68.	2
X	WO 2004096127 A2 (KOS LIFE SCIENCES INC) 11.11.2004, página 2, líneas 15-18; página 3, línea 4 - página 4, línea 18; página 6, línea 2 - página 7, línea 11; página 8, línea 28 - página 9, línea 5.	1,2,5-16
Y		3,4
Y	AL-BAGOURY, M. et al. "Semicontinuous Emulsion Copolymerization of 3-O-Methacryloyl-1,2:5,6-di-O-isopropylidene-alpha-D-glucofuranose (3-MDG) and Butyl Acrylate (BA). Monomer Feed Addition", Journal of Applied Polymer Science 2003, Volumen 90, páginas 2091-2102 (Ver páginas 2091,2092).	3,4
X	WO 2007016371 A2 (AKINA INC) 08.02.2007, página 10, líneas 10-12; tabla 3.	1,2,5-16

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe

31.03.2009

Examinador

M. del Carmen Bautista Sanz

Página

1/2

CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

C08F 226/06 (2006.01)

C08F 226/10 (2006.01)

C08F 220/10 (2006.01)

A61K 47/32 (2006.01)