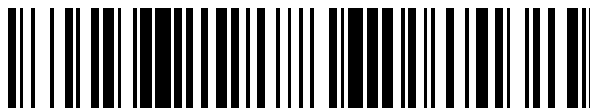


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 711 669**

21 Número de solicitud: 201731277

51 Int. Cl.:

A61K 9/51 (2006.01)

A61K 9/62 (2006.01)

A61K 47/36 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

02.11.2017

43 Fecha de publicación de la solicitud:

06.05.2019

71 Solicitantes:

**UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE
COMPOSTELA (100.0%)
Edificio EMPRENDIA- Campus Vida
15782 A Coruña ES**

72 Inventor/es:

**ALONSO FERNANDEZ, Maria José;
TEIJEIRO OSORIO, Desireé;
TEIJEIRO VALIÑO, Carmen María y
CADETE PIRES, Ana**

74 Agente/Representante:

TORRENTE VILASANCHEZ, Susana

Observaciones:

La lista de secuencias está accesible al público en la página web de la OEPM para su descarga en formato electrónico.

54 Título: **SISTEMAS DE LIBERACIÓN DE FÁRMACOS DE ÁCIDO POLISIÁLICO Y MÉTODOS**

57 Resumen:

La presente invención describe en general partículas, incluyendo nanocápsulas u otras nanoentidades, que comprenden ácido polisiálico para actuar como transportadores de fármacos u otras sustancias activas al interior de las células, u otras aplicaciones. En un aspecto, la invención se refiere a nanocápsulas u otras entidades que tienen un exterior, una cubierta o una superficie que comprende ácido polisiálico. En algunos casos, se describe la unión de grupos de direccionamiento como tLyp-1 al ácido polisiálico, por ejemplo, usando aminoalquil (C_1 - C_4) succinimida u otros espaciadores. Los grupos de direccionamiento pueden estar unidos al ácido polisiálico, por ejemplo, mediante una reacción del grupo carboxilato de un ácido polisiálico con una N-hidroxisuccinimida o una carbodiimida, y haciendo reaccionar el intermedio formado con un grupo lisina o arginina de un péptido de direccionamiento para producir ácido polisiálico-amida-péptido. Otros aspectos de la invención se dirigen generalmente a métodos para hacer o usar composiciones, kits que incluyen tales composiciones, o similares.

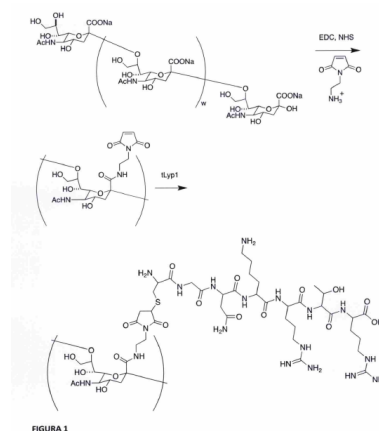


FIGURA 1

SISTEMAS DE LIBERACIÓN DE FÁRMACOS DE ÁCIDO POLISIÁLICO Y MÉTODOS**CAMPO DE LA INVENCIÓN**

La presente invención se refiere generalmente a partículas, incluyendo nanocápsulas u otras nanoentidades, que comprenden ácido polisiálico, para actuar como vehículos para liberar fármacos u otras sustancias activas al interior de las células. u otras aplicaciones.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

La liberación de fármacos al organismo de forma selectiva ha sido un reto continuo. Por ejemplo, muchos fármacos no pueden ejercer su acción de forma eficaz debido a su difícil acceso a las células diana.

Por lo tanto, se necesitan mejoras en la liberación fármacos.

RESUMEN

La presente invención se refiere generalmente a partículas, incluyendo nanocápsulas u otras nanoentidades, que comprenden ácido polisiálico. Las partículas pueden ser capaces de acceder al interior de las células donde liberarán su contenido. El objeto de la presente invención implica, en algunos casos, productos interrelacionados, soluciones alternativas a un problema particular, y/o una pluralidad de usos diferentes de uno o más sistemas y/o artículos.

En un aspecto, la presente invención se dirige generalmente a una composición. De acuerdo con un conjunto de realizaciones, la composición comprende una pluralidad de nanoentidades, por ejemplo, nanocápsulas, que comprenden una porción interna (o núcleo) rodeada por una cubierta. En algunos casos, la cubierta puede comprender ácido polisiálico. En algunas realizaciones, la cubierta comprende un grupo de direccionamiento (*targeting moiety*), que es un grupo que permite el direccionamiento u orientación selectiva de la nanoestructura. En algunas realizaciones, la cubierta comprende un péptido facilitador de la penetración celular y/o tumoral/tisular. En algunas realizaciones, el grupo de direccionamiento, y/o el péptido facilitador de la penetración celular y/o el péptido facilitador de la penetración tumoral/tisular está unido químicamente al ácido polisiálico. En algunas realizaciones, la porción interna comprende al menos un compuesto hidrofóbico.

La composición, en otro conjunto de realizaciones, incluye una pluralidad de nanocápsulas que comprenden una porción interna rodeada por una cubierta. En algunas realizaciones, la cubierta comprende ácido polisiálico y un grupo de direccionamiento unido químicamente al ácido polisiálico. En algunos casos, el grupo de direccionamiento comprende un péptido que tiene una secuencia $Z^1X^1X^2Z^2$, donde Z^1 es R o K, Z^2 es R o K, y X^1 y X^2 son cada uno un residuo aminoácido. En algunos casos, el péptido puede comprender una secuencia RGD, o una secuencia NGR. Por ejemplo, el péptido puede comprender una secuencia J^1 RGD, J^1 RGDJ², RGDJ², J^1 NGR, J^1 NGRJ², NGRJ², etc. (Estas abreviaturas K, R, N, G, D, etc. son los códigos estándar de una letra para nombrar residuos aminoácidos utilizadas por los expertos en la técnica; véanse más adelante los detalles). En algunos casos, el grupo de direccionamiento comprende un péptido que tiene ambas secuencias $Z^1X^1X^2Z^2$ y RGD (por ejemplo un péptido iRGD) o las secuencias $Z^1X^1X^2Z^2$ y NGR (por ejemplo un péptido iNGR).

En otro conjunto de realizaciones, la composición comprende una pluralidad de nanoentidades que comprenden una porción interna rodeada por una cubierta externa, la cubierta comprende ácido polisiálico, al menos algunas de las nanoentidades además comprenden un anticuerpo monoclonal.

De acuerdo con otro conjunto de realizaciones, la composición comprende entidades, que tienen un diámetro medio máximo de menos de aproximadamente 1 micrómetro. Las entidades, en algunas realizaciones, pueden tener una superficie que comprende ácido polisiálico y un grupo de direccionamiento. En algunos casos, las entidades no son liposomas (véase más adelante una discusión sobre liposomas).

Todavía otro conjunto de realizaciones está dirigido generalmente a una composición que comprende una pluralidad de nanoentidades, por ejemplo, nanocápsulas, que comprenden una parte interna rodeada por una cubierta. La cubierta puede comprender ácido polisiálico, opcionalmente unido a un grupo o resto hidrofóbico. La porción interna puede comprender al menos un compuesto hidrofóbico en algunos casos. En algunas realizaciones, la cubierta comprende ácido polisiálico, un grupo de direccionamiento y un grupo hidrofóbico. En algunos casos, al menos una parte del ácido polisiálico está unido al grupo de direccionamiento y/o al grupo hidrofóbico. En algunas realizaciones, el grupo hidrofóbico es un grupo alquilo, tal como C_2 - C_{24} , o C_{12} .

En otro conjunto de realizaciones, la composición comprende una pluralidad de nanoentidades, por ejemplo, nanocápsulas, que comprenden una porción interna rodeada

por una cubierta. En algunos casos, la cubierta consiste esencialmente en ácido polisiálico. En ciertos casos, la parte interna comprende al menos un compuesto hidrofóbico.

En otro conjunto de realizaciones, la composición es una composición farmacéutica.

5 Realizaciones adicionales de la invención se dirigen generalmente al uso de cualquiera de las composiciones descritas anteriormente, o cualquier composición descrita aquí, para la fabricación de un medicamento. Además, algunas realizaciones de la invención se dirigen generalmente a un método de administración de la composición de cualquiera de las composiciones descritas anteriormente, o cualquier composición de la
10 presente invención, a un organismo vivo, tal como un humano. En algunos casos, el organismo vivo puede ser un sujeto con cáncer u otras enfermedades. Por ejemplo, cualquiera de las composiciones descritas anteriormente (o cualquier composición descrita aquí) puede incluir además un fármaco terapéutico adecuado, tal como un fármaco anticancerígeno.

15 Otro aspecto de la invención se dirige generalmente a un método. En algunas realizaciones, el método incluye la acción de hacer reaccionar un grupo carboxilato de un ácido polisiálico con una aminoalquil (C_1-C_4) maleimida y/o con una aminoalquil (C_1-C_4) metacrilamida, y hacer reaccionar la aminoalquil (C_1-C_4) maleimida y/o la aminoalquil (C_1-C_4) metacrilamida resultante con un grupo tiol (por ejemplo procedente de un grupo
20 cisteína) presente en una molécula de direccionamiento para producir una composición ácido polisiálico-aminoalquil (C_1-C_4) succinimida-péptido y/o ácido polisiálico-aminoalquil (C_1-C_4) amido-isopropil-péptido. En algunas realizaciones, el método incluye la acción de hacer reaccionar un grupo funcional carboxilato de un ácido polisiálico con una N-hidroxisuccinimida, una triazina o una carbodiimida y hacer reaccionar el
25 compuesto intermedio formado con un grupo amino (por ejemplo procedente de lisina o arginina) de un grupo de direccionamiento para producir un ácido polisiálico-amida-péptido.

 Se describen aquí varios métodos de administración a un sujeto de un compuesto para la prevención o el tratamiento de una afección particular. Debe entenderse que en
30 cada uno de dichos aspectos de la invención, la invención incluye específicamente, también, el compuesto para uso en el tratamiento o prevención de esa condición particular, así como el uso del compuesto para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de esa condición particular.

En otro aspecto, la presente invención abarca métodos para hacer una o más de las realizaciones descritas en el presente documento, por ejemplo, una nanocápsula. En aún otro aspecto, la presente invención abarca métodos de utilización de una o más de las realizaciones descritas en la presente memoria, por ejemplo, una nanocápsula.

- 5 Otras ventajas y características novedosas de la presente invención resultarán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada de varias realizaciones no limitativas de la invención cuando se consideren en conjunción con las figuras adjuntas.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

- 10 Las realizaciones no limitantes de la presente invención se describirán a modo de ejemplo con referencia a las figuras adjuntas, que son esquemáticas y no han de ser extrapoladas a otra escala. En las figuras, cada componente idéntico o casi idéntico ilustrado se representa típicamente mediante un único número. Con fines de claridad, no se marca cada componente en cada figura, ni se muestra cada componente de cada realización
- 15 de la invención en la que la ilustración no es necesaria para permitir que los expertos en la técnica comprendan la invención. En las figuras:

Fig. 1 ilustra una reacción de acoplamiento del ácido siálico a un péptido destinado a actuar como grupo de direccionamiento;

- 20 Figs. 2A-2B ilustran los datos que muestran la administración de nanocápsulas a ratones, de acuerdo con ciertas realizaciones de la invención;

Fig. 3 ilustra la comparación entre la administración de ciertas nanocápsulas, como se describen aquí, con la administración de Abraxane® (nab-paclitaxel);

Fig. 4 ilustra la evolución del peso corporal de ratones tratados con ciertas nanocápsulas en todavía otra realización de la invención;

- 25 Fig. 5 ilustra un método para producir un ácido polisiálico modificado, de acuerdo con otra realización de la invención; y

Fig. 6 ilustra el espectro de ^1H -RMN del ácido polisiálico (PSA), el tLyp1 y el conjugado PSA-tLyp1 en $\text{D}_2\text{O}:\text{H}_2\text{O}$ 10:90 a 25 °C.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

La presente invención se refiere generalmente a partículas, incluyendo nanocápsulas u otras nanoentidades, que comprenden ácido polisiálico. Las partículas pueden ser capaces de acceder al interior de las células, y/o procurar la liberación intracelular de los fármacos asociados. En un aspecto, la presente invención está dirigida a

5 nanocápsulas u otras entidades que tienen un exterior o superficie que comprende ácido polisiálico. En algunos casos, grupos de direccionamiento tales como el péptido Lyp-1 o tLyp-1 pueden unirse al ácido polisiálico, por ejemplo, usando aminoalquil (C₁-C₄) succinimida u otros espaciadores. Éstos pueden ser creados, por ejemplo, mediante la reacción de un grupo carboxilato de un ácido polisiálico con una aminoalquil-(C₁-C₄)-

10 maleimida o una aminoalquil-(C₁-C₄)-metacrilamida, y la reacción de la aminoalquil-(C₁-C₄)-maleimida o la aminoalquil-(C₁-C₄)-metacrilamida resultante con un grupo cisteína u otro grupo azufre. Los grupos de direccionamiento pueden estar unidos al ácido polisiálico, por ejemplo, haciendo reaccionar un grupo carboxilato de un ácido polisiálico con una N-hidroxisuccinimida o una carbodiimida, y haciendo reaccionar el compuesto intermedio

15 formado con un grupo lisina o arginina del péptido de direccionamiento para producir ácido polisiálico-amida-péptido. Otros aspectos de la invención se refieren generalmente a métodos para fabricar o usar tales composiciones, kits que incluyen tales composiciones, o similares.

En un aspecto, la presente invención se refiere generalmente a partículas u otras

20 entidades que comprenden ácido polisiálico. Tales partículas o entidades pueden usarse, por ejemplo, para aplicaciones de liberación de fármacos. Por ejemplo, tales partículas pueden ser suministradas a un sujeto de manera que alcancen un tumor que el sujeto padezca. Las partículas pueden ser liberadas dentro de las células tumorales, por ejemplo, lo que puede ser facilitado a través de un grupo de direccionamiento que también tiene

25 capacidad como promotor o facilitador de la penetración celular o tisular tales como Lyp-1 o tLyp-1, u otros péptidos descritos en la presente memoria (por ejemplo, péptidos CendR). Otros péptidos, anticuerpos (por ejemplo anticuerpos completos, nanoanticuerpos, fragmentos variables de cadena sencilla, etc.), o grupos de direccionamiento de aptámeros, también se pueden usar en ciertas realizaciones, por ejemplo, como se discute en la

30 presente memoria. Una vez administradas, las partículas pueden acceder a las células diana, por ejemplo células tumorales, y liberar el fármaco contenido en su interior (por ejemplo, fármacos terapéuticos o anticancerígenos, etc). Las partículas u otras entidades

que comprenden ácido polisiálico modificado con un grupo de direccionamiento, no han sido previamente utilizadas para la liberación selectiva e intracelular de fármacos.

En algunos casos, las entidades pueden estar presentes dentro de un vehículo farmacéuticamente aceptable, como se discute en la presente memoria; por ejemplo, las entidades pueden suspenderse en un líquido o un gel, por ejemplo, para la administración a un sujeto. Las entidades pueden ser sustancialmente sólidas, o en ellas se pueden definir espacios internos, por ejemplo, como en una cápsula. Las entidades también pueden ser una micela o un liposoma en algunas realizaciones, aunque en ciertos casos, las entidades descritas en la presente memoria no son liposomas.

En algunos casos, la entidad puede ser una nanoentidad. Una "nanoentidad", como se usa en el presente documento, es típicamente una entidad que tiene un diámetro medio de menos de 1000 nm, por ejemplo, menos de 750 nm, menos de 500 nm, menos de 300 nm, menos de 250 nm, menos de 200 nm, menos de 150 nm, o menos de 100 nm. En algunos casos, las entidades también pueden tener un diámetro medio de al menos 1 nm, 5 nm, 10 nm, 50 nm, 100 nm, 500 nm, o 1000 nm. Las combinaciones de cualquiera de estos diámetros son también posibles, por ejemplo, la entidad puede tener un intervalo medio de diámetros entre 100 nm y 300 nm entre 1000 nm y 1 nm, entre 1000 nm y 10 nm, entre 750 nm y 1 nm, entre 500 nm y 10 nm, entre 300 nm y 10 nm, entre 250 nm y 10 nm, entre 200 nm y 10 nm, entre 150 nm y 10 nm, entre 100 nm y 10 nm, o similares. Más de una entidad también puede estar presente en algunas realizaciones, y en tales casos, el diámetro medio (aritmético) de la pluralidad de entidades puede tener las dimensiones descritas aquí. En algunos casos, las entidades que tienen un rango de diámetros están presentes. Tales entidades pueden ser determinadas por una variedad de métodos, tales como técnicas de difracción láser o dispersión de luz dinámica. Ejemplos no limitativos de nanoentidades incluyen nanopartículas, nanocápsulas, micelas u otras entidades tales como las descritas en la presente memoria. Tales entidades pueden tener, en algunos casos, las dimensiones dadas en este párrafo.

En algunos casos, la entidad puede incluir una porción interna rodeada por una cubierta externa, por ejemplo, expuesta al medio que rodea a la entidad. La porción interna puede estar simétricamente o asimétricamente posicionada dentro de la entidad. La parte interna puede contener, por ejemplo, un líquido (que puede ser, por ejemplo, no acuoso o acuoso), un sólido y/o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, la parte

interna puede contener también uno o más agentes farmacéuticos o fármacos, por ejemplo, cualquiera de los descritos en la presente memoria.

En algunos casos, la entidad es una cápsula (por ejemplo, una nanocápsula). La cápsula puede ser sustancialmente sólida, o tener una cubierta de tipo goma o tipo gel.

5 Además, en algunos casos, la entidad puede ser una partícula, tal como una nanopartícula. La partícula puede ser sólida y tener una forma bien definida. En algunos casos, la partícula puede ser una entidad que tiene una porción interna rodeada por una cubierta exterior, por ejemplo, la partícula puede ser una cápsula. La nanocápsula puede tener un tamaño en el rango de nanómetros. Si la nanopartícula es generalmente esférica, también

10 se puede referir a nanoesfera. Una nanocápsula puede ser sustancialmente uniforme, aunque puede tener características superficiales adicionales, tales como grupos de direccionamiento, promotores de la penetración, anticuerpos, o similares, incluyendo los descritos en la presente memoria.

En algunos casos, la partícula puede ser una entidad que tiene una porción interna rodeada por una cubierta exterior, por ejemplo, la partícula puede ser una cápsula o una nanocápsula. En algunos casos, una nanocápsula puede tener un tamaño en el rango de los nanómetros que comprende un núcleo interno y una cubierta exterior que tiene una composición distinguible del núcleo interno. El núcleo interno puede ser, por ejemplo, un material líquido o sólido. A menudo, pero no siempre, el núcleo interno es un aceite. La

15 cubierta externa puede estar formada por un material continuo, y típicamente está unido de un modo no covalente al núcleo interno. En algunos casos, la cubierta externa tiene un grosor medio de al menos 1 nm, al menos 2 nm, al menos 3 nm, al menos 5 nm, al menos 10 nm, al menos 20 nm, al menos 30 nm, al menos 50 nm, al menos 100 nm, o al menos 200 nm.

25 En algunos casos, la entidad comprende no más de una cubierta externa.

En algunos casos, la entidad puede ser una micela. Típicamente, una micela se forma a partir de una pluralidad de tensioactivos o moléculas anfifílicas que definen una parte interna y una exterior. Por ejemplo, las moléculas de tensioactivo pueden estar dispuestas para tener un exterior relativamente hidrófilo y una porción interna

30 relativamente hidrófoba, por ejemplo, formada a partir de una única capa de tensioactivo o moléculas anfifílicas. En algunos casos, la micela puede tener un tamaño en el rango de nanómetros. La micela puede estar, en algunas realizaciones, compuesta por moléculas anfifílicas a una concentración superior a la CMC (concentración micelar crítica) cuando

las micelas se dispersan en una fase externa. Si la fase líquida externa es acuosa, la parte hidrófila de las moléculas anfifílicas pueden estar orientadas hacia la parte externa. Dependiendo de la concentración de las moléculas anfifílicas, las micelas pueden organizarse por ellas mismas formando estructuras grandes, que son clústeres de micelas.

- 5 Las micelas pueden estar formadas por moléculas de tensioactivos, por ejemplo, tener sus porciones hidrófilas en la superficie y sus porciones hidrófobas apuntando hacia adentro (o viceversa en algunos casos).

Un liposoma puede tener una estructura similar, pero se forma típicamente a partir de una doble capa de tensioactivo o moléculas anfifílicas (por ejemplo, una bicapa lipídica), y puede así definir una parte interna, una porción media y una parte exterior; por
10 ejemplo, la porción interna puede ser relativamente hidrófila, la parte media (por ejemplo, la cubierta del liposoma, formada por la estructura bicapa del tensioactivo o moléculas anfifílicas) puede ser relativamente hidrófoba, y el exterior al liposoma puede ser una solución acuosa o un medio hidrófilo.

15 Como se usa en la presente memoria, la propiedad de ser “hidrófilo” se entiende como una propiedad constitucional de una molécula o un grupo funcional para penetrar en una fase acuosa o para permanecer en ella. En consecuencia, la propiedad de ser “hidrófobo” se entiende como una propiedad constitucional de una molécula o un grupo funcional para exhibir un comportamiento exofílico con respecto al agua, por ejemplo,
20 muestran la tendencia de no penetrar en el agua, o de salir de la fase acuosa. Para mayores detalles se referencia a Römpp Lexikon Lacke und Druckfarben, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, N.Y., 1998, “Hydrophilicity”, “Hydrophobicity”, páginas 294 y 295. En algunos casos, una entidad hidrófila (o hidrosoluble) es una que exhibe un logP de menos de 1,5, mientras que una entidad hidrófoba (o liposoluble) es una que exhibe un logP mayor que
25 1,5, donde logP es el coeficiente de partición octanol-agua de la entidad.

La parte interior, si está presente dentro de una entidad, puede contener un líquido, y en algunos casos, el líquido puede ser acuoso o no acuoso. En algunos casos, el líquido contiene una solución salina o solución de una sal en agua. Opcionalmente, el líquido puede contener un fármaco u otro agente farmacéutico, por ejemplo, para su
30 administración a un sujeto. Ejemplos no limitantes de fármacos u otros agentes farmacéuticos se discuten aquí.

En algunas realizaciones, la nanoentidad comprende una cubierta que consiste esencialmente en una única capa de material que comprende ácido polisiálico. En otras

realizaciones, la nanoentidad comprende una única capa que comprende ácido polisiálico. En otras realizaciones, la cubierta comprende múltiples capas, donde una de las capas comprende ácido polisiálico. En realizaciones adicionales, la capa comprende ácido polisiálico en la capa más externa.

5 En algunas realizaciones, la parte interna de la nanoentidad, por ejemplo, nanocápsula, nanopartícula, micela, o liposoma, puede comprender un sólido, semi-sólido (ejemplo gel), líquido, gas, o una combinación de los mismos. La parte interna puede ser acuosa, no acuosa o comprender ambas, una porción acuosa y una porción no acuosa. En algunas realizaciones, la parte interna comprende uno o más agentes farmacéuticos,
10 fármacos, o similares.

 En otras realizaciones, la parte interna comprende una porción no acuosa. En realizaciones adicionales, la porción no acuosa es un líquido no acuoso. En realizaciones adicionales, el líquido no acuoso comprende un compuesto hidrófobo, por ejemplo, un aceite. En realizaciones adicionales, el líquido no acuoso comprende un aceite y un
15 tensioactivo. En realizaciones adicionales, la parte interna comprende un ácido graso. En realizaciones adicionales, la parte interna comprende un monoglicérido. En realizaciones adicionales, la parte interna comprende un diglicérido. En realizaciones adicionales, la parte interna comprende un triglicérido. En realizaciones adicionales, la parte interna comprende un triglicérido de cadena media. En realizaciones adicionales, la parte interna
20 comprende un triglicérido de cadena larga.

 Si la parte interna de una entidad (por ejemplo, cápsulas, partículas, micelas u otras nanoentidades tales como las discutidas en este documento) no es acuosa, el líquido no acuoso que forma la parte interna puede comprender uno o más compuestos hidrófobos, por ejemplo, seleccionados de entre aceites, ácido grasos, alcanos, cicloalcanos, sales
25 biliares, derivados de sales biliares, terpenoides, terpenos, restos derivados de terpeno y vitaminas liposolubles, y/o al menos un surfactante. Estos aceites pueden seleccionarse de entre aceites naturales, semi-sintéticos y sintéticos para uso farmacéutico, tales como aceites de origen vegetal o animal, aceites de hidrocarburos o aceites de silicona. Aceites adecuados para llevar a cabo ciertas realizaciones de la presente invención incluyen, pero
30 no se limitan a, aceite mineral, aceite de escualeno, aceites aromatizados, aceites de silicona, aceites esenciales, vitaminas insolubles en agua, estearato de isopropilo, estearato de butilo, palmitato de octilo, palmitato de cetilo, tridecilo behenato, adipato de diisopropilo, sebacato de dioctilo, antranilato de mentilo, octanoato de cetilo, salicilato de

octilo, miristato de isopropilo, cetoles de neopentilglicol dicaprato, oleato de decilo, lactatos de alquilo C₁₂-C₁₅, lactato de cetilo, lactato de laurilo, neopentanoato de isoestearilo, lactato de miristilo, estearato de estearoil isocetilo, estearato de estearoil octildodecilo, aceites de hidrocarburos, isoparafina, parafinas líquidas, isododecano,

5 vaselina, aceite de argán, aceite de colza, aceite de chile, aceite de coco, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de linaza, aceite de semilla de uva, aceite de mostaza, aceite de oliva, aceite de palma, aceite de palma fraccionado, aceite de cacahuete, aceite de ricino, aceite de piñones, aceite de semilla de amapola, aceite de semilla de calabaza, aceite de salvado de arroz, aceite de cártamo, aceite de árbol de té, aceite de trufa, aceite vegetal,

10 aceite de albaricoque, aceite de jojoba, aceite de nuez de macadamia, aceite de germen de trigo, aceite de almendras, aceite de soja, aceite de semilla de sésamo, aceite de avellana, aceite de girasol, aceite de cáñamo, aceite de palo de rosa, aceite de nuez de Kukui, aceite de aguacate, aceite de nuez, aceite de pescado, aceite de bayas, aceite de especias, aceite de enebro, aceite de semillas, aceite de semilla de almendras, aceite de semilla de anís, aceite

15 de semilla de apio, aceite de semilla de comino, aceite de semilla de nuez moscada, aceite de hoja de albahaca, aceite de hoja de laurel, aceite de hoja de canela, aceite de hoja de salvia común, aceite de hoja de eucalipto, aceite de hoja de limón, aceite de orégano, aceite de hoja de pachuli, aceite de hoja de pimienta, aceite de hoja de menta, aceite de pino, aceite de hoja de romero, aceite de hierbabuena, aceite de la hoja del árbol de té, aceite de

20 tomillo, aceite de flores, aceite de camomila, aceite de salvia, aceite de clavo, aceite de flor de geranio, aceite de la flor del hyssop, aceite del jazmín, aceite de la lavanda, aceite de la flor del mauka, aceite de la flor del naranjo, aceite de rosas, aceite de flor de ylang-ylang, aceite de corteza, aceite de corteza de cassia, aceite de corteza de canela, aceite de corteza de sasafrás, aceite de madera, aceite de madera de alcanfor, aceite de madera de cedro,

25 aceite de palo de rosa, aceite de madera de sándalo, aceite de madera de jengibre, aceite de sebo, aceite de ricino, aceite de mirra, aceite de cáscara, aceite de cáscara de bergamota, aceite de cáscara de pomelo, aceite de cáscara de limón, aceite de cáscara de lima, aceite de cáscara de naranja, aceite de cáscara de mandarina, aceite de raíz, aceite de valeriana, ácido oleico, ácido linoleico, alcohol oleílico, alcohol isoestearílico, oleato de etilo,

30 triglicéridos de cadena media tales como mezclas de decanoil- y octanoil glicéridos (Miglyol® 810N, Miglyol® 812N, Kollisolv® MCT, Captex® 300, Captex® 355, Labrafac® lipófilo WL1349), Labrafil® M 2125 CS (linoleoil macrogol -6 glicéridos), Labrafil® M2130 CS (lauroil macrogol-6 glicéridos), Labrafil® M 1944 CS (oleoil

polioxil-6 glicéridos), Labrafac® PG (dicaprilocaprato de propilenglicol), Rylo® (mezcla de ácidos grasos), Peceol® (Monooleato de glicerol) y Maisine® (monolinoleato de glicerina), derivados sintéticos o semisintéticos de los mismos y combinaciones de los mismos.

- 5 En algunos casos, el aceite es uno o más de entre aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de oliva, aceite de ricino, aceite de soja, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de maíz, aceite de palma, alfa-tocoferol (vitamina E), miristato de isopropilo, escualeno, Miglyol®, Labrafil®, Labrafac®, Peceol®, Captex®, Kollisolv® MCT y Maisine® o mezclas de los mismos. Otros aceites adecuados incluyen aceites de la
- 10 familia de los terpenos formados por unidades de isopreno (2-metilbuta-1,3-dieno) y subdivididos según sus átomos de carbono: hemiterpenos (C₅), monoterpenos (C₁₀), sesquiterpenos (C₁₅), diterpenos (C₂₀), sesterterpenos (C₂₅), triterpenos (C₃₀), tetraterpenos (C₄₀, carotenoides) y politerpenos, vitamina A, escualeno, etc. En algunas realizaciones, el líquido no acuoso que forma la parte interna puede contener estabilizantes insolubles en
- 15 agua, conservantes, tensioactivos, disolventes orgánicos y mezclas de los mismos para proporcionar la máxima estabilidad a la formulación. También son posibles combinaciones de uno o más de estos y/u otros aceites en diversas realizaciones.

- Si la porción interna de una entidad (por ejemplo, cápsulas, partículas, micelas u otras nanoentidades tales como las aquí discutidas) es acuosa, el líquido acuoso que forma
- 20 la porción interna puede estar formado por agua que contiene al menos una sal, en ciertas realizaciones.

- Además, en algunas realizaciones, el líquido acuoso que forma la porción interna puede contener uno o más agentes estabilizantes, conservantes, tensioactivos, glicoles, polioles, azúcares, agentes espesantes, y gelificantes solubles en agua y mezclas de estos
- 25 y/u otros excipientes adecuados. Estos excipientes pueden ser utilizados, por ejemplo, para mejorar la estabilidad de la formulación, ajustar la viscosidad de la composición final, controlar la velocidad de liberación desde la fase acuosa interna, o similares.

- En un conjunto de realizaciones, las entidades (por ejemplo, cápsulas, partículas, micelas u otras nanoentidades tales como aquéllas discutidas en este documento)
- 30 comprenden ácido polisiálico. El ácido polisiálico puede distribuirse uniformemente por toda la entidad o concentrarse en ciertas regiones de la entidad, por ejemplo, en la cubierta de una cápsula u otra superficie externa de una entidad. En algunos casos, al menos el 50% en peso de una porción de una entidad, tal como una cubierta, comprende ácido polisiálico

y, en ciertos casos, al menos el 60% en peso, al menos el 70% en peso, al menos el 75% en peso, al menos el 80% en peso, al menos el 85% en peso, al menos el 90% en peso, al menos el 95% en peso, o al menos el 99% en peso de la porción de la entidad puede comprender ácido polisiálico. En algunos casos, una parte de la entidad puede consistir
 5 esencialmente en ácido polisiálico.

El ácido polisiálico se compone generalmente de una pluralidad de unidades de ácido siálico, a menudo unidas entre sí para formar un polímero mediante unión 2--> 8 y/o 2 --> 9, aunque también son posibles otras posiciones en las uniones. Típicamente, hay al menos 2, al menos 4, al menos 6, al menos 8, al menos 10, al menos 15, al menos 20, al
 10 menos 25, al menos 30, al menos 40, al menos 50, al menos 75, al menos 100, al menos 200, al menos 300, al menos 400, o al menos 500 unidades de ácido siálico unidas entre sí para formar ácido polisiálico. En algunos casos, el ácido polisiálico puede tener no más de 1000, no más de 500, no más de 200, no más de 100, no más de 50, no más de 30 unidades de ácido siálico o no más de 10 unidades de ácido siálico unidas entre sí para formar ácido
 15 polisiálico. También son posibles combinaciones de cualquiera de éstos, por ejemplo, un ácido polisiálico puede tener entre 2 y 100 unidades de ácido siálico que están unidas entre sí. Debe observarse que las unidades de ácido siálico no necesitan ser idénticas, y pueden ser independientemente iguales o diferentes, incluso dentro de la misma molécula de ácido polisiálico. También debe observarse que un ácido polisiálico no tiene necesariamente que
 20 ser una cadena lineal y también son posibles varias disposiciones de ramificación. Por ejemplo, una unidad de ácido siálico puede estar unida a 3 o más unidades de ácido siálico diferentes, creando de este modo un punto de ramificación dentro de la molécula de ácido polisiálico.

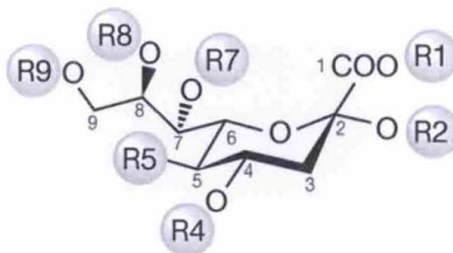
Como ejemplos no limitantes, el ácido polisiálico puede tener pesos moleculares
 25 diferentes, por ejemplo, 4 kDa, 30 kDa, 95 kDa, etc. En algunos casos, el ácido polisiálico puede contener más de 300 unidades de ácido siálico. Como ejemplos adicionales no limitativos, el ácido polisiálico puede tener un peso molecular de al menos 1 kDa, al menos 3 kDa, al menos 5 kDa, al menos 10 kDa, al menos 20 kDa, al menos 25 kDa, al menos 30 kDa, al menos 40 kDa, al menos 50 kDa, al menos 60 kDa, al menos 70 kDa, al menos 75
 30 kDa, al menos 80 kDa, al menos 90 kDa, al menos 100 kDa, etc. En algunos casos, el ácido polisiálico puede tener un peso molecular de no más de 100 kDa, no más de 90 kDa, no más de 80 kDa, no más de 75 kDa, no más de 70 kDa, no más de 60 kDa, no más de 50 kDa, no más de 40 kDa, no más de 30 kDa, no más de 25 kDa, no más de 20 kDa, no más

de 10 kDa, no más de 5 kDa, no más de 3 kDa o no más de 1 kDa. También son posibles combinaciones de cualquiera de éstos, por ejemplo, el ácido polisialico puede tener un peso molecular entre aproximadamente 1 kDa y aproximadamente 100 kDa, entre aproximadamente 5 kDa y aproximadamente 80 kDa, o entre aproximadamente 10 kDa y aproximadamente 50 kDa, etc. (A menos que se indique lo contrario, los pesos moleculares aquí descritos son pesos moleculares promedio en número).

También debe observarse que los ácidos polisialicos no siempre son idénticos. Por ejemplo, en algunas realizaciones, los ácidos polisialicos pueden tener números diferentes de unidades de ácido siálico, y / o pueden existir diferentes unidades de ácido siálico en diferentes moléculas de ácido polisialico que están presentes. En algunos casos pueden estar presentes uno o varios tipos de moléculas de ácido polisialico, por ejemplo, una o más formas pueden comprender al menos un 30%, al menos un 40%, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90%, o más, de las moléculas de ácido polisialico que están presentes, es decir, sobre una base molar.

Ejemplos no limitantes de unidades de ácido siálico que pueden estar presentes dentro de un ácido polisialico incluyen, pero no se limitan a, ácido N-acetilneuramínico (Neu), ácido 2-ceto-3-desoxinónico (Kdn), ácido lactamínico, ácido N-sialico, y/o ácido O-sialico. Otros ejemplos incluyen ácido N-glicolilneuramínico (Neu5Gc), ácido 9-O-acetil-8-O-metil-N-acetilneuramínico (Neu5,9Ac28Me) y ácido 7,8,9-tri-O-acetil-N-glicolilneuramínico (Neu5Gc7,8,9Ac3). "Sia" indica generalmente una unidad de ácido siálico indeterminada. En algunas realizaciones, las unidades de ácido siálico incluyen cualquier derivado de ácido neuramínico (un azúcar de 9 carbonos), incluyendo los 43 derivados típicamente encontrados en la naturaleza. Estos incluyen, pero no se limitan a, Neu; Neu5Ac; Neu4,5Ac2; Neu5,7Ac2; Neu5,8Ac2; Neu5,9Ac2; Neu4,5,9Ac3; Neu5,7,9Ac3; Neu5,8,9Ac3; Neu5,7,8,9Ac4; Neu5Ac9Lt; Neu4,5Ac29Lt; Neu5Ac8Me; Neu5,9Ac28Me; Neu5Ac8S; Neu5Ac9P; Neu2en5Ac; Neu2en5,9Ac2; Neu2en5Ac9Lt; Neu2,7an5Ac; Neu5Gc; Neu4Ac5Gc; Neu7Ac5Gc; Neu8Ac5Gc; Neu9Ac5Gc; Neu7,9Ac25Gc; Neu8,9Ac25Gc; Neu7,8,9Ac35Gc; Neu5Gc9Lt; Neu5Gc8Me; Neu9Ac5Gc8Me; Neu7,9Ac25Gc8Me; Neu5Gc8S; Neu5GcAc; Neu5GcMe; Neu2en5Gc; Neu2en9Ac5Gc; Neu2en5Gc9Lt; Neu2en5Gc8Me; Neu2,7an5Gc; Neu2,7an5Gc8Me; Kdn; y Knd9Ac. En un conjunto de realizaciones, cada una de las unidades de ácido siálico

(antes de la polimerización para formar ácido polisiálico) puede tener independientemente la siguiente estructura:



- 5 R^1 puede ser H; un enlace alfa a Gal (3/4/6), GalNAc (6) (N-acetilgalactosamina), GlcNAc (4/6), Sia (8/9), o 5-O-Neu5Gc; un oxígeno unido a C-7 en una molécula 2,7-anhidro; o un hidroxilo anomérico eliminado en Neu2en5Ac (doble enlace a C-3). R^2 puede ser H; un enlace alfa a Gal (3/4/6), GalNAc (6), GlcNAc (4/6), Sia (8/9), o 5-O-Neu5Gc; un oxígeno unido a C-7 en una molécula 2,7-anhidro; o un hidroxilo anomérico eliminado en
- 10 Neu2en5Ac (doble enlace a C-3). R^4 puede ser H; -acetilo; un anhidro a C-8; Fuc (fucosa); o Gal (galactosa). R^5 puede ser un amino; N-acetilo; N-glicolilo; Hidroxilo; N-acetimidilo; N-glicolil-O-acetilo; N-glicolil-O-metilo; o N-glicolil-O-2-Neu5Gc. R^7 puede ser H; -acetilo; un anhidro a C-2; o estar sustituido por un amino y N-acetilo en Leg (ácido legionaminico). R^8 puede ser H; -acetilo; un anhidro a C-4; -metilo; -sulfato; Sia
- 15 (ácido siálico); o Glc (glucosa). R^9 puede ser -H; -acetilo; -lactilo; -fosfato; -sulfato; Sia; o un OH sustituido por H en Leg. En algunos casos, el ácido polisiálico es el ácido colomínico (donde sólo la unión 2 --> 8 está presente).

Como se usa en el presente documento, el ácido siálico incluye sales solubles en agua y derivados de ácido siálico solubles en agua. Por ejemplo, la sal de ácido siálico

20 puede ser la sal de sodio, la sal de potasio, la sal de magnesio, la sal de calcio o la sal de cinc. En una realización, al menos parte del ácido siálico está presente como una sal sódica. También se pueden usar combinaciones de múltiples tipos de ácidos siálicos tales como, por ejemplo, subunidades de un ácido polisiálico y/o diferentes moléculas de ácido polisiálico.

25 En un conjunto de realizaciones, al menos parte del ácido siálico dentro del ácido polisiálico puede estar modificado (sin embargo, debe entenderse que en otras realizaciones, el ácido polisiálico no se encuentra necesariamente modificado). Por ejemplo, en algunos casos, una o más unidades de ácido siálico pueden ser modificadas, por ejemplo, mediante unión a polietilenglicol, alquilo u otros grupos hidrofóbicos, o

similares. Los grupos hidrofóbicos pueden incluir moléculas hidrofóbicas o porciones de las mismas, por ejemplo, un grupo alquilo, tal como los discutidos en el presente documento.

5 En algunas realizaciones, las nanoentidades no comprenden poliarginina o protamina.

En algunas realizaciones, el ácido polisiálico está unido a un grupo hidrofóbico. En algunos casos, la nanoentidad es una micela. En algunos casos, la nanoentidad tiene una superficie exterior hidrófila y una parte interna hidrófoba. El grupo hidrofóbico puede comprender un grupo alquilo, por ejemplo un grupo alquilo de cadena lineal. En algunas realizaciones, el grupo hidrofóbico comprende al menos 2 átomos de carbono. En otras realizaciones, el grupo hidrofóbico comprende al menos 3 átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo hidrofóbico comprende un grupo alquilo C₂-C₂₄ de cadena lineal (por ejemplo, C₂, C₃, C₄, C₅, C₆, C₇, C₈, C₉, C₁₀, C₁₁, C₁₂, C₁₃, C₁₄, C₁₅, C₁₆, C₁₇, C₁₈, C₁₉, C₂₀, C₂₁, C₂₂, C₂₃ y / o C₂₄). En una realización particular, el grupo hidrofóbico comprende un grupo alquilo C₁₂ de cadena lineal. En algunas realizaciones, la composición de la invención comprende además una cadena de carbono alifática unida covalentemente al ácido polisiálico. En algunas realizaciones, la cadena alifática de carbono comprende una cadena carbonada alifática C₂-C₂₄ (por ejemplo, C₂, C₃, C₄, C₅, C₆, C₇, C₈, C₉, C₁₀, C₁₁, C₁₂, C₁₃, C₁₄, C₁₅, C₁₆, C₁₇, C₁₈, C₁₉, C₂₀, C₂₁, C₂₂, C₂₃ y / o C₂₄).

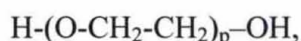
20 Ejemplos no limitantes de grupos hidrofóbicos incluyen C₃, C₄, C₅, C₆, C₇, C₈, C₉, C₁₀, C₁₁, C₁₂, C₁₃, C₁₄, C₁₅, C₁₆, C₁₇, C₁₈, C₁₉, C₂₀, C₂₁, C₂₂, C₂₃, C₂₄ u otro grupo alquilo (por ejemplo, un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada, por ejemplo, un grupo isoalquilo). En algunos casos, el grupo hidrofóbico comprende al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19, al menos 20, al menos 21, al menos 22, al menos 23 o al menos 24 átomos de carbono. Los grupos hidrofóbicos pueden estar saturados o insaturados, por ejemplo, conteniendo uno o más enlaces dobles o triples carbono-carbono. Una técnica para unir un grupo hidrofóbico se discute en el Ejemplo 3, usando C₁₂ como un ejemplo no limitante.

30 En algunos casos, los grupos hidrofóbicos pueden estar unidos usando activación a través de una sal de amonio cuaternaria (por ejemplo, hidróxido de tetrabutilamonio) y un tetrafluoroborato (por ejemplo tetrafluoroborato de 2-bromo-1-etil piridinio), previo a la reacción con un grupo hidrofóbico (por ejemplo, una amina alquílica, tal como dodecilamina para C₁₂). Otros métodos para unir grupos hidrofóbicos se pueden usar

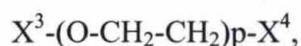
también en otras realizaciones, por ejemplo, usando química “click”, reacciones de Grignard, o similares.

Ejemplos adicionales no limitantes de grupos hidrofóbicos que pueden ser añadidas incluyen cicloalcanos (por ejemplo, ciclopropano, ciclobutano, ciclopentano, 5 ciclohexano, etc.), sales biliares, terpenoides, terpenos, grupos derivados de terpenos y vitaminas lipófilas tales como vitaminas A, D, E, K, y sus derivados. Ejemplos no limitantes de sales biliares incluyen sales biliares no derivatizadas tales como colato, desoxicolato, quenodesoxicolato, y ursodesoxicolato, etc. Ejemplos no limitativos de sales biliares derivatizadas incluyen taurocolato, taurodesoxicolato, tauroursodesoxicolato, 10 tauroquenodesoxicolato, glicolato, glicodesoxicolato, glicoursodesoxicolato, glicoquenodesoxicolato, taurolitocolato y glicolitocolato, etc.

En otro conjunto de realizaciones, al menos parte del ácido siálico se puede unir al polietilenglicol (PEG), aunque debe entenderse que el PEG no es un requisito en todas las realizaciones. El polietilenglicol (PEG), en su forma más común, es un polímero de la 15 siguiente fórmula:



donde p es un número entero que representa el grado de polimerización del PEG. En algunos casos, el PEG también puede ser modificado, por ejemplo, para incluir:



20 donde X^3 es hidrógeno o un grupo protector de hidroxilo que bloquea la función OH para reacciones posteriores. Los grupos protectores de radicales hidroxilo son ampliamente conocidos en la técnica; grupos protectores representativos (que incluyen ya el oxígeno a proteger) incluyen, pero no se limitan a éteres de sililo tales como trimetilsilil éter, trietilsilil éter, terc-butildimetilsilil éter, terc-butildifenilsilil éter, triisopropilsilil éter, dietilisopropilsilil éter, texildimetilsilil éter, trifenilsilil éter, di-terc-butilmetilsilil éter, 25 éteres alquílicos tales como éter metílico, éter terc-butílico, éter bencílico, éter p-metoxibencílico, éter 3,4-dimetoxibencílico, éter tritílico, éter alílico; alcoximetil éteres tales como metoximetil éter, 2-metoxietoximetil éter, benciloximetil éter, p-metoxibenciloximetil éter, 2- (trimetilsilil) etoximetil éter, tetrahidropiranyl éter y éteres 30 relacionados; metiltiometil éter, ésteres tales como éster de acetato, éster de benzoato, éster de pivalato, metoxiacetato, éster de cloroacetato, éster de levulinato, carbonatos tales como carbonato de bencilo, carbonato de p-nitrobencilo, carbonato de terc-butilo, carbonato de

2,2,2 tricloraetilo, carbonato de 2-(trimetilsilil) etilo, carbonato de alilo. En una realización, el grupo protector es un éter de alquilo, tal como metil éter.

X^4 puede indicar el anclaje al ácido siálico, y puede ser un enlace covalente o un grupo puente, tal como la N-hidroxi-succinimida (NHS), grupo maleimida, biotina, o similares (que pueden, por ejemplo, unirse a aminas tales como aminas primarias, grupos sulfhidrilo, o avidina o estreptavidina, respectivamente, de un ácido siálico modificado). En algunos casos, X^3 también puede ser un grupo que permita el anclaje. Además, en algunos casos, X^3 puede incluir un ácido polisiálico modificado hidrófobicamente, tal como se discute en la presente memoria. Por ejemplo, en un conjunto de realizaciones, puede utilizarse un grupo hidrofóbico, tal como C_3 , C_4 , C_5 , C_6 , C_7 , C_8 , C_9 , C_{10} , C_{11} , C_{12} , C_{13} , C_{14} , C_{15} , C_{16} , C_{17} , C_{18} , C_{19} , C_{20} , C_{21} , C_{22} , C_{23} , C_{24} u otro grupo alquilo (por ejemplo, un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada, por ejemplo, un grupo isoalquilo), unido al ácido polisiálico. En algunos casos, el grupo hidrofóbico comprende al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19, al menos 20, al menos 21, al menos 22, al menos 23 o al menos 24 átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo hidrofóbico puede ser tan hidrofóbico que, comparado con el ácido polisiálico no modificado sin el grupo X^4 , el ácido polisiálico con X^4 es más hidrofóbico, por ejemplo, con mayores grados de partición en octanol en un sistema de partición octanol/agua que sin el grupo X^4 .

En un conjunto de realizaciones, los PEG se unen al ácido siálico a través de grupos amina y /o grupos de ácido carboxílico. La pegilación se puede realizar utilizando cualquier método adecuado disponible en la técnica. Véase, por ejemplo, Gonzalez y Vaillard, "Evolution of Reactive mPEG Polymers for the Conjugation of Peptides and Proteins", *Curr. Org. Chem.*, 17 (9): 975-998, 2013 y Giorgi, et al., "Carbohydrate PEGylation, an approach to improve pharmacological potency", *Beilstein J. Org. Chem.*, 10: 1433 - 44, 2014. Los PEG están disponibles en una variedad de pesos moleculares, y el peso molecular apropiado para un uso dado se determina fácilmente por un experto en la técnica. Así, por ejemplo, un peso molecular adecuado de PEG puede estar entre aproximadamente 1 kDa y aproximadamente 100 kDa, entre aproximadamente 5 kDa y aproximadamente 80 kDa, o entre aproximadamente 10 kDa y aproximadamente 50 kDa, por ejemplo, aproximadamente 10 kDa, aproximadamente 15 kDa, aproximadamente 20 kDa, aproximadamente 25 kDa, aproximadamente 30 kDa, o aproximadamente 35 kDa.

En algunas realizaciones, el grado de pegilación puede definirse como el porcentaje de grupos funcionales o grupos funcionales en el ácido siálico que están funcionalizados con PEG. Ejemplos de grados de pegilación adecuados pueden estar entre aproximadamente 0,1% y aproximadamente 10%, entre aproximadamente 0,2% y aproximadamente 5%, o entre aproximadamente 0,5% y aproximadamente 2%, por ejemplo, aproximadamente 0,5%, aproximadamente 0,6%, aproximadamente 0,7%, aproximadamente 0,8 %; aproximadamente 0,9%, aproximadamente 1%, aproximadamente 1,1%; aproximadamente 1,2%, aproximadamente 1,3%, aproximadamente 1,4%; aproximadamente 1,5%, aproximadamente 1,6%, aproximadamente 1,7%; aproximadamente 1,8%; aproximadamente 1,9%; aproximadamente 2%;

En algunas realizaciones, la proporción de PEG en el ácido polisialico puede estar entre aproximadamente 10% y 90% (p /p) con respecto al peso total del ácido polisialico, entre aproximadamente 15% y 80%, entre aproximadamente 20% y 70%, o entre aproximadamente el 20% y 60%, por ejemplo, aproximadamente el 22%, aproximadamente el 24%, aproximadamente el 26%, aproximadamente el 28%, aproximadamente el 30%, aproximadamente el 32%, aproximadamente el 34%, aproximadamente el 36%, aproximadamente el 38%, aproximadamente el 40%, aproximadamente 42%, aproximadamente 44%, aproximadamente 46%, aproximadamente 48%, aproximadamente 50%, aproximadamente 52%, aproximadamente 54%, aproximadamente 56%, aproximadamente 58%, o aproximadamente 60%.

En un aspecto, la entidad también puede comprender un grupo de direccionamiento, aunque debe observarse que en algunas realizaciones, puede no estar presente dicho grupo de direccionamiento. El grupo de direccionamiento (si está presente) puede usarse para dirigir la liberación de las entidades, por ejemplo, a determinadas poblaciones celulares dentro de un sujeto. Por ejemplo, dicho grupo puede facilitar el acceso de las nanoentidades a un tipo de célula, por ejemplo, una célula cancerosa, una célula endotelial o una célula inmune. En algunas realizaciones, el grupo de direccionamiento permite dirigir la nanoentidad a una localización específica dentro de un sujeto, por ejemplo, un órgano específico o un tipo de célula específica (por ejemplo, a un tumor o a una célula cancerosa). En algunos casos, las entidades pueden ser internalizadas por las células sin necesidad de grupos de direccionamiento y, en otros casos, la internalización puede ser facilitada por el grupo de direccionamiento (por ejemplo, el

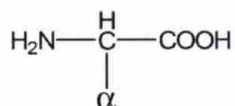
grupo de direccionamiento puede ser un péptido que facilite la penetración a nivel tisular y/o celular, por ejemplo Lyp-1 o tLyp-1, o un péptido CendR u otros péptidos como se discute en la presente memoria). Sin embargo, debe de entenderse que en ciertas realizaciones, el grupo de direccionamiento puede no facilitar la internalización
 5 necesariamente. En algunas realizaciones, pueden estar presentes más de un tipo de grupo de direccionamiento. En algunas realizaciones, un grupo de direccionamiento puede incluir un péptido que facilita la penetración celular y/o tumoral/tisular.

El sujeto puede ser un humano o un animal no humano. Ejemplos de sujetos incluyen, pero no se limitan a, un mamífero tal como una vaca, oveja, cabra, caballo,
 10 conejo, cerdo, ratón, rata, perro, gato, un primate (por ejemplo, un mono, un chimpancé, etc.) o similar. En algunos casos, el sujeto no es un mamífero tal como un pájaro, un anfibio o un pez.

En diversas realizaciones se puede usar una amplia variedad de grupos de direccionamiento. Por ejemplo, los grupos de direccionamiento pueden incluir péptidos,
 15 proteínas, aptámeros, anticuerpos (incluyendo anticuerpos monoclonales, nanoanticuerpos y fragmentos de anticuerpos), ácidos nucleicos, moléculas orgánicas, ligandos, o similares. Ejemplos específicos no limitativos incluyen la insulina o la transferrina.

Por ejemplo, en un conjunto de realizaciones, el grupo de direccionamiento es un péptido que, por ejemplo, tiene una longitud de no más de 50 aminoácidos, no más de 40
 20 aminoácidos, no más de 30 aminoácidos o no más de 10 aminoácidos. En ciertas realizaciones, el grupo de direccionamiento puede comprender una secuencia de reconocimiento celular, tal como una secuencia que comprende RGD (arginina-glicina-ácido aspártico). En ciertas realizaciones, el grupo de direccionamiento puede comprender una secuencia de reconocimiento celular, tal como una secuencia que comprende NGR
 25 (asparagina-glicina-arginina).

Un "aminoácido" se define en su sentido ordinario tal como se utiliza en el campo de la bioquímica. Típicamente pero no siempre (por ejemplo, como en el caso de la prolina), un aminoácido aislado tiene una estructura general:



30

En esta estructura, alfa (α) puede ser cualquier grupo adecuado; por ejemplo, alfa (α) puede ser un átomo de hidrógeno, un grupo metilo o un grupo isopropilo. Una serie de

aminoácidos aislados pueden estar conectados para formar un péptido o una proteína por reacción del -NH₂ de un aminoácido con el -COOH de otro aminoácido para formar un enlace peptídico (-CO-NH-). En estos casos, cada uno de los grupos R del péptido o la proteína puede referirse como un residuo de aminoácido. Los "aminoácidos naturales", tal como se usan aquí, son los 20 aminoácidos comúnmente encontrados en la naturaleza, típicamente en el isómero L, es decir, alanina ("Ala" o "A"), arginina ("Arg" o "R"), asparagina ("Asn" o "N"), ácido aspártico ("Asp" o "D"), cisteína ("Cys" o "C"), glutamina ("Gln" o "Q"), ácido glutámico ("Glu" o "E"), glicina ("Gly" o "G"), histidina ("His" o "H"), isoleucina ("Ile" o "I"), leucina ("Leu" o "L"), lisina ("Lys" o "K"), metionina ("Met" o "M"), fenilalanina ("Phe" o "F"), prolina ("Pro" o "P"), serina ("Ser" o "S"), treonina ("Thr" o "T"), triptófano ("Trp" o "W"), tirosina ("Tyr" o "Y") y valina ("Val" o "V").

En un conjunto de realizaciones, el grupo de direccionamiento es un péptido promotor de la penetración celular y/o tisular. Se dispone de una diversidad de péptidos promotores de la penetración celular/tisular. Por ejemplo, el péptido puede incluir un grupo funcional C-terminal conocido como "C-end Rule" (CendR) (R/K)XX(R /K). En algunos casos, el péptido promotor de la penetración celular y/o tisular también puede facilitar el direccionamiento de las nanoentidades a las células. Cada X en esta secuencia puede ser independientemente un aminoácido o no.

En algunos casos, el grupo de direccionamiento puede comprender una secuencia $Z^1X^1X^2Z^2$, donde Z^1 es R o K, Z^2 es R o K, y X^1 y X^2 son cada uno independientemente un residuo de aminoácido o no. En algunos casos, uno o ambos extremos del péptido pueden comprender otros aminoácidos, por ejemplo, como en las estructuras $J^1Z^1X^1X^2Z^2$, $Z^1X^1X^2Z^2J^2$ o $J^1Z^1X^1X^2Z^2J^2$, en donde cada J^1 y J^2 es independientemente una secuencia de aminoácidos (por ejemplo, que comprenden 1, 2, 3, 4, 5, 6, o más residuos de aminoácidos) o una cadena de carbono alifática. La cadena alifática de carbono puede contener átomos de carbono e hidrógeno en cualquier secuencia adecuada, por ejemplo, de cadena lineal o ramificada, y puede ser saturada o insaturada. Por ejemplo, en un conjunto de realizaciones, la cadena de carbono alifática puede ser una cadena de alquilo lineal que tiene una fórmula, por ejemplo, $-(CH_2)_n-$, siendo n 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 u otro número entero positivo. Además, en algunos casos, la secuencia puede terminar con un residuo de cisteína, por ejemplo, como en $CJ^1Z^1X^1X^2Z^2$, $CZ^1X^1X^2Z^2J^2$, o $CJ^1Z^1X^1X^2Z^2J^2$.

Ejemplos no limitantes de péptidos CendR incluyen Lyp-1, tLyp-1, iNGR, cLyp1, iRGD, RPARPAR, TT1 o TT1 lineal. Opcionalmente, también pueden estar

presentes en el péptido otros aminoácidos. Lyp-1 tiene una secuencia CGNKRTRGC (SEQ ID NO: 1). En algunas realizaciones, los dos restos Cys pueden estar unidos entre sí a través de un puente disulfuro, formando de este modo una estructura circular. En algunos casos, sólo puede estar presente una parte de la secuencia Lyp-1, por ejemplo, como en el

5 caso de tLyp-1 (CGNKRTR) (SEQ ID NO: 2). cLyp1 tiene una secuencia CGNKRTRGC (SEQ ID NO: 3), donde las dos cisteínas pueden estar unidas entre sí. iNGR tiene una secuencia CRNGRGPDC (SEQ ID NO: 4), donde las dos cisteínas pueden estar unidas entre sí. iRGD tiene una secuencia (CRGDKGPDC) (SEQ ID NO: 5) o una secuencia CRGDRGPDC (SEQ ID NO: 6), donde las dos cisteínas pueden estar unidas entre sí.

10 RPARPAR tiene una secuencia RPARPAR (SEQ ID NO: 7). TT1 tiene una secuencia CKRGARSTC (SEQ ID NO: 8), donde las dos cisteínas pueden estar unidas entre sí. El TT1 lineal tiene una secuencia AKRGARSTA (SEQ ID NO: 9).

En algunas realizaciones, el grupo de direccionamiento puede comprender una secuencia RGD. Opcionalmente, también pueden estar presentes otros aminoácidos en el

15 péptido. Ejemplos no limitativos de péptidos RGD incluyen RGD, RGD-4C, cRGD o Cilengitide. Opcionalmente, también pueden estar presentes otros aminoácidos en el péptido. RGD tiene una secuencia RGD (SEQ ID NO: 10). RGD-4C tiene una secuencia CDCRGDCFC (SEQ ID NO: 11). cRGD tiene una secuencia cRGDf(NMeV) (SEQ ID NO: 12) o c(RGDyK) (SEQ ID NO: 13). Cilengitide tiene una secuencia cíclica-(N-Me-

20 VRGDf-NH) (SEQ ID NO: 14).

En algunas realizaciones, el grupo de direccionamiento puede comprender una secuencia NGR. Opcionalmente, también pueden estar presentes otros aminoácidos en el péptido.

Algunos grupos de direccionamiento se pueden ver en, por ejemplo, Bertrand N., et

25 al., *Cancer Nanotechnology: The impact of passive and active targeting in the era of modern cancer biology*, Advanced Drug Delivery Reviews 66 (2014) 2-25, Gilad Y., et al., *Recent innovations in peptide based targeted delivery to cancer cells*, Biomedicines, 4 (2016) y Zhou G., et al. *Aptamers: A promising chemical antibody for cancer therapy*, Oncotarget, 7 (2016) 13446-13463. Los grupos de direccionamiento se pueden seleccionar

30 de entre, aunque no está limitado a, péptidos, como por ejemplo, péptidos CendR (por ejemplo, Lyp1, cLyp1, tLyp1, iRGD, iNGR, TT1, linear TT1, RPARPAR, F3, etc.), péptidos RGD (por ejemplo, 9-RGD, RGD4C, Delta 24-RGD, Delta 24-RGD4C, RGD-K5, cilengitide, RGD4C acíclico, RGD4C bicíclico, c(RGDfK), c(RGDyK), E-

[c(RGDfK)]₂, E[c(RGDyK)]₂), péptidos NGR, KLWVLPKGGGC, CDCRGDCFC, LABL, angiopeptin-2; proteínas, como por ejemplo, transferrina, proteínas con repeticiones de Ankirina (*ankyrin repeat protein*), *affibodies*; pequeñas moléculas, como por ejemplo, ácido fólico, trifenilfosfonio, ACUPA, PSMA, restos de carbohidratos (por ejemplo, manosa, glucosa, galactosa y sus derivados); anticuerpos y aptámeros.

Los péptidos, incluyendo cualquiera de las secuencias descritas anteriormente, pueden exhibir, en algunas realizaciones, actividad promotora de la penetración en células o tejidos, y de forma particular en el tejido tumoral. Un conjunto de realizaciones esta generalmente dirigido a la asociación de péptidos promotores de penetración celular sin propiedades de direccionamiento, por ejemplo, para proporcionar a al menos algunas de las nanoentidades de actividad de penetración celular o tisular cuando no se administran sistémicamente a un sujeto (por ejemplo, intratumoral, nasal, tópica, intra-peritoneal, vaginal, rectal, oral, pulmonar, ocular, etc.), o cuando se administra in vivo o ex vivo, por ejemplo a células vivas o tejidos. En algunos casos, algunos de los ácidos polisialícos están unidos a un péptido promotor de la penetración celular, por ejemplo, mediante una asociación no covalente.

Algunos péptidos promotores de la penetración celular se pueden encontrar, por ejemplo, en Zhang D. et al., *Cell- penetrating peptides as noninvasive transmembrane vectors for the development of novel multifunctional drug-delivery systems*, Journal of Controlled Release, Volume 229 (2016) Pages 130-139, y Regberg J., et al. *Applications of cell-penetrating peptides for tumor targeting and future cancer therapies*, Pharmaceuticals, 5 (2012) 991-1007. Péptidos promotores de la penetración celular útiles para ciertas realizaciones de la presente invención se pueden seleccionar de entre, aunque no se limitan a, TAT, mTAT (C-5H-TAT-5H-C), G3R6TAT, TAT(49-57), TAT(48-60), MPS, VP22, Antp, gH625, CPPs ricos en arginina (por ejemplo, octarginina, poliarginina, estearil-poliarginina, HIV-1 Rev34-50, FHV coat35-49) penetratin, penetratin-Arg, penetratin-Lys, SR9, HR9, PR9, H(7)K(R(2)), Pep-1, Pep-3, transportan, transportan10, pepFect, pVEC, JB577, TD-1, MPG8, CADY, YTA2, YTA4, SynB1, SynB3, PTD-4, GALA, SPACE, o similares. Péptidos promotores de la penetración celular que están asociados a grupos de direccionamiento se seleccionan de entre, aunque no se limitan a, PEGA, CREKA, RVG, DV3, DEVDG, ACPP-MMP-2/9, ACPP-MMP-2, R8-GRGD, penetratin-RGD.

Algunos péptidos promotores de la penetración tumoral/tisular se pueden encontrar, por ejemplo, en Ruoslahti E., *Tumor penetrating peptides for improved drug delivery*,

Advanced Drug Delivery Reviews, Volumes 110–111 (2017) Pages 3-12. Péptidos promotores de la penetración tumoral/tisular útiles para ciertas realizaciones de la presente invención se pueden seleccionar de entre, aunque no se limitan a, péptidos CendR, por ejemplo, iRGD (CRGDKGPDC), LyP-1 (CGNKRTRGC), tLyP-1 (CGNKRTR), TT1 (CKRGARSTC), Linear TT1 (AKRGARSTA), iNGR (CRNGRGPDC), RPARPAR, F3 (KDEPQRRSARLSAKPAPPKPEPKPKKAPAKK). En algunos casos, anticuerpos (incluyendo nanoanticuerpos, fragmentos de anticuerpos, anticuerpos monoclonales u otros anticuerpos) se pueden unir a la superficie o a la cubierta externa de una entidad, tal como una nanocápsula u otras entidades descritas en la presente memoria.

En ciertos aspectos, parte del ácido polisiálico está unido a una molécula de direccionamiento, por ejemplo, covalentemente. El ácido polisiálico puede unirse directa o indirectamente a un grupo de direccionamiento, por ejemplo, a través de un espaciador, tal como un ligando aminoalquil (C_1 - C_4) succinimida (incluyendo C_1 , C_2 , C_3 y C_4), o aminoalquil (C_1 - C_4) amido-iso-propilo (incluyendo C_1 , C_2 , C_3 y C_4). En algunos casos, pueden usarse otros espaciadores de aminoalquilsuccinimida o aminoalquilamido-iso-propilo. En algunas realizaciones, el grupo de direccionamiento puede comprender un extremo C, por ejemplo, para la unión. En algunos casos, el espaciador aminoalquil (C_1 - C_4) succinimida puede ser un espaciador aminoetilsuccinimida, aminopropilsuccinimida, aminobutilsuccinimida, o similares. El espaciador aminoalquil (C_1 - C_4) succinimide puede ser creado, por ejemplo, usando una reacción de acoplamiento EDC/NHS (hidrocloruro de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida /N-hidroxisuccinimida) para unir un grupo maleimida a un grupo de ácido carboxílico de una unidad de ácido siálico. En algunos casos, un grupo N-aminoalquil (C_1 - C_4) maleimida, tal como un grupo N-aminoetil maleimida, se puede hacer reaccionar con un grupo de ácido carboxílico de una unidad de ácido siálico para producir un enlace amida, uniéndose de este modo el grupo maleimida al polisiálico. El espaciador aminoalquil (C_1 - C_4) amido-iso-propilo puede ser creado, por ejemplo, usando aminoetilmecrilamida o N-(3-aminopropil) metacrilamida en presencia de BOP/TBA (benzotriazol-1-iloxi-tris (dimetilamino) fosfonio hexafluorofosfato/hidróxido de Tetra-n-butilamonio). El grupo maleimida o el grupo metacrililo pueden reaccionar a continuación, por ejemplo, mediante adición de tipo Michael, con una cisteína, un grupo tiol u otro grupo que contenga azufre dentro del péptido para unir el péptido al ácido polisiálico a través de una aminoalquil (C_1 - C_4) succinimida, tales como el

espaciador aminoetilsuccinimida (véase, por ejemplo, Fig. 1), o a través de un espaciador aminoalquil (C_1 - C_4) amido-iso-propilo.

En algunas realizaciones, el ácido polisiálico puede unirse a un grupo de direccionamiento directamente a través de un grupo amida. Véase, por ejemplo, Mojarradi, "Coupling of substances containing a primary amine to hyaluronan via carbodiimide-mediated amidation," Master's Thesis, Universidad de Uppsala, marzo de 2011. El grupo amida puede crearse, por ejemplo, haciendo reaccionar un grupo de ácido carboxílico del ácido siálico y una porción de lisina, arginina u otro grupo que contenga una amina primaria dentro del péptido, en particular la amina primaria está en un aminoácido lisina o arginina del grupo de direccionamiento. En algunas realizaciones, un activador está presente en la reacción para formar un producto intermedio, como por ejemplo una carbodiimida o N-hidroxisuccinimida o DMTMM (cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio) (D'Este et al., *A systematic analysis of DMTMM vs EDC/NHS for ligation of amines to Hyaluronan in water*, Carbohydrate Polymers, 108, (2014), 239-246).

Además, en ciertas realizaciones de la invención, una entidad puede incluir un promotor de la penetración capaz de facilitar la internalización celular o la penetración en los tejidos.

Por lo tanto, un conjunto de realizaciones se refiere en general a un método de hacer reaccionar un grupo carboxilato del ácido polisiálico con un aminoalquil (C_1 - C_4) maleimida y/o un aminoalquil (C_1 - C_4) metacrilamida, y hacer reaccionar la aminoalquil (C_1 - C_4) maleimida y/o la aminoalquil (C_1 - C_4) metacrilamida resultante con un grupo cisteína de un péptido para producir un ácido polisiálico-aminoalquil (C_1 - C_4) succinimide-péptido y/o una composición ácido polisiálico-aminoalquil (C_1 - C_4) amidoisopropil-péptido.

Otro conjunto de realizaciones se refiere a un método de hacer reaccionar un grupo carboxilato de un ácido polisiálico con una N-hidroxisuccinimida o una carbodiimida, y hacer reaccionar el producto intermedio formado con un grupo lisina o arginina de un péptido para producir un ácido polisiálico-amida-péptido.

Las nanoentidades pueden incluir cualquier variedad de agentes farmacéuticos o fármacos, en diversas realizaciones, los cuales pueden ubicarse internamente y/o en la superficie de las nanoentidades, dependiendo de la realización. En algunos casos, los agentes farmacéuticos pueden incluir cualquier sustancia o mezcla de

sustancias con la intención de ser usadas en la fabricación del medicamento y que, cuando se usan en la producción de un medicamento, resulta ser un ingrediente activo en el medicamento. Tales sustancias pueden proporcionar actividad farmacológica y/u otro efecto directo en diagnóstico, cura, mitigación, tratamiento o prevención de enfermedades o

5 afectar a la estructura y función del organismo. Ejemplos de agentes farmacéuticos incluyen cualquier compuesto químico o biológico farmacéuticamente activo, cualquier sal farmacéuticamente aceptable del mismo y cualquier mezcla de los mismos, que proporciona algún efecto farmacológico y se usa para tratar o prevenir una afección. Ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a,

10 clorhídrico, sulfúrico, nítrico, fosfórico, bromhídrico, malérico, málico, ascórbico, cítrico, tartárico, pamoico, láurico, esteárico, palmítico, oleico, mirístico, lauril sulfúrico, naftalensulfónico, linoleico, linolénico y similares. En algunos casos, la sal farmacéuticamente aceptable puede ser una sal de sodio, una sal de potasio, una sal de litio, una sal de calcio, una sal de magnesio, una sal de amonio o similares.

15 Los fármacos o agentes farmacéuticos pueden ser considerados liposolubles, hidrosolubles o anfifílicos (contienen simultáneamente grupos no polares y grupos polares y en medio acuoso tienden a formar micelas). Dada la complejidad de clasificar los fármacos o agentes farmacéuticos únicamente en función de su solubilidad, a modo de simplificar y en ningún caso limitar, se refieren a continuación dos clases de fármacos:

20 liposolubles (compuestos con un cierto grado de solubilidad en medios que contienen aceites, y/o lípidos y/o disolventes orgánicos y $\log P > 1,5$) e hidrosolubles (compuestos con un cierto grado de solubilidad en medio acuoso y $\log P < 1,5$), donde el $\log P$ se define como el coeficiente de reparto octanol-agua.

En ciertas realizaciones, los fármacos o agentes farmacéuticos pueden ser

25 liposolubles, de modo que, por ejemplo, puedan estar contenidos dentro de una porción interna no acuosa de una nanocápsula u otra entidad, por ejemplo, dentro de un aceite, un lípido y/o un disolvente orgánico, por ejemplo, un disolvente orgánico mezclado con un aceite. Además, en algunos casos, un fármaco o agente farmacéutico liposoluble puede estar presente en la superficie externa o cubierta de la entidad. Ejemplos no limitantes de

30 disolventes orgánicos incluyen, pero no se limitan a, etanol, butanol, 2-etilhexanol, isobutanol, isopropanol, metanol, propanol, propilenglicol, acetona, metil etilcetona, metilisobutilcetona, metilisopropilcetona, óxido de mesitilo, tricloroetileno, bromuro de etileno, cloroformo, cloruro de etileno, diclorometano, tetracloroetileno, tetracloruro de

carbono, dimetilformamida, 1,4-dioxano, éter butílico, éter dietílico de dimetilformamida, éter diisopropílico, tetrahidrofurano, éter terc-butilmetílico, sulfóxido de dimetilo, piridina, ciclohexano, hexano, acetonitrilo, acetato de etilo, tolueno, xileno, así como combinaciones de éstos y/u otros disolventes orgánicos. En algunos casos, el fármaco

5 liposoluble puede ser generalmente de naturaleza hidrofóbica, por ejemplo, teniendo un log P mayor que 1,5, donde P es el coeficiente intrínseco de reparto octanol-agua.

Ejemplos no limitantes de agentes farmacéuticos liposolubles o fármacos que se pueden usar incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: agentes quimioterapéuticos o anticancerígenos tales como taxoides (por ejemplo, docetaxel, paclitaxel, cabazitaxel),

10 tomudex, daunomicina, aclarrubicina, bleomicina, dactinomicina, daunorrubicina, rapamicina, epirubicina, valrubicina, idarrubicina, mitomicina C, mitoxantrona, elesclomol, ingenol mebutato, plicamicina, caliqueamicina, esperamicina, degarelix, emtansina, maitansina, maitansinoides (por ejemplo, maitansinoide DM1, maitansinoide 2, maitansinoide DM4), mitomicina, auristatinas, vinorelbina, vinblastina, vincristina,

15 vindesina, estramustina, derivados hidrofóbicos de cisplatino, clorambucil, bendamustina, carmustina, amantadina, rimantadina, lomustina, semustina, amsacrina, ladribina, citarabina, (C₁₂-C₁₈) -gemcitabina, tegafur, trimetrexato, epotilonas A-E (por ejemplo, sagopilona, ixapebilona, patupilona), eribulina, camptotecinas, aminoglutetimida, diaziquona, levamisol, metil-GAG, mitotano, mitozantrona, testolactona, michellamina B,

20 briostatina-1, halomon, didemnin A (por ejemplo, plitidepsina), trabectedina, lurbinectedina, vorinostat, romidepsina, irinotecan, bortezomib, erlotinib, gefitinib, imatinib, vemurafenib, crizotinib, vismodegib, tretinoína, alitretinoína, bexaroteno, y similares; o inmunomoduladores / inmunosupresores tales como imiquimod, ciclosporina, tacrolimus, pimecrolimus, everolimus, sirolimus, temsirolimus, azatioprina, leflunomida,

25 micofenolato, y similares; o fármacos esteroideos tales como enzalutamida, abiraterona, exemestano, fulvestrant, 2-metoxiestradiol, formestano, atamestano, gymnerol, protodioscin metilo, Physalin B, Physalin D, Physalin F, witaferina A, ginsenosidos, azaesteroides, cinobufagin, bufalin, dienogest, y similares; o conjugados esteroideos con fármacos citotóxicos (por ejemplo, nucleósidos, paclitaxel, clorambucilo y complejos

30 metálicos), tales como paclitaxel-estradiol, y similares; o el conjugado Trastuzumab-emtansina.

Otros ejemplos ilustrativos no limitantes, de moléculas biológicamente activas de naturaleza liposoluble incluyen los siguientes: analgésicos y agentes anti-inflamatorios

(por ejemplo, aloxiprina, auranofina, azapropazona, benorilato, diflunisal, etodolac, fenbufeno, fenoprofeno cálcico, flurbiprofeno, ibuprofeno, indometacina, ketoprofeno, ácido meclofenámico, diclofenaco, ácido mefenámico, nabumetona, naproxeno, oxifenbutazona, fenilbutazona, piroxicam, sulindac, etc.); antihelmínticos (por ejemplo,

5 albendazol, hidroxinaftoato de befenio, cambendazol, diclorofeno, ivermectina, mebendazol, oxamniquina, oxfendazol, embonato de oxantel, prazicuantel, embonato de pirantel, tiabendazol, etc.); antidiabéticos (por ejemplo, acetoexamida, clorpropamida, glibenclamida, gliclazida, glipizida, tolazamida, tolbutamida, etc.); antidepresivos (por ejemplo, amoxapina, maprotilina, mianserina, nortriptilina, trazodona, trimipramina, etc.);

10 agentes antifúngicos (por ejemplo, anfotericina, nitrato de butoconazol, clotrimazol, nitrato de econazol, fluconazol, flucitosina, griseofulvina, itraconazol, ketoconazol, miconazol, natamicina, nistatina, nitrato de sulconazol, terbinafina, terconazol, tioconazol, ácido undecenoico, etc.); antipalúdicos (por ejemplo, amodiaquina, cloroquina, clorproguanil, halofantrina, mefloquina, proguanil, pirimetamina, sulfato de quinina, etc.); agentes anti-

15 migrañosos (por ejemplo, dihidroergotamina, ergotamina, metisergida, pizotifeno, sumatriptano, etc.); agentes antiprotozoarios (por ejemplo, benznidazol, clioquinol, decoquinato, diiodohidroxiquinolina, furoato de diloxanida, dinitolmida, furzolidona, metronidazol, nimorazol, nitrofurazona, ornidazol, tinidazol, etc.); agentes antitiroideos (por ejemplo, carbimazol, propiltiouracilo, etc.); agentes antiarrítmicos (por ejemplo,

20 amiodarona, disopiramida, acetato de flecainida, sulfato de quinidina, etc.); agentes antibacterianos (por ejemplo, penicilina benetamina, cinoxacina, ciprofloxacino, claritromicina, clofazimina, cloxacilina, demeclociclina, doxiciclina, eritromicina, etionamida, imipenem, ácido nalidíxico, nitrofurantoína, rifampicina, espiramicina, sulfabenzamida, sulfadoxina, sulfamazina, sulfoacetamida, sulfadiazina, sulfafurazol,

25 sulfametoxazol, sulfapiridina, tetraciclina, trimetoprim, etc.); anticoagulantes (por ejemplo, dicumarol, dipiridamol, nicoumalona, fenindiona, etc.); ansiolíticos, neurolépticos, sedantes e hipnóticos (por ejemplo, alprazolam, amilobarbital, barbitona, bentazepam, bromazepam, bromperidol, brotizolam, butobarbitona, carbromal, clordiazepóxido, clormetiazol, clorpromazina, clobazam, clotiazepam, clozapina, diazepam, droperidol,

30 etinamato, flunanisona, flunitrazepam, fluopromazina, decanoato de flufinazina, decanoato de flupentixol, flurazepam, haloperidol, lorazepam, lormetazepam, medazepam, meprobamato, methaqualona, midazolam, nitrazepam, oxazepam, pentobarbitona, perfenazina pimozida, proclorperazina, sulpirida, temazepam, tioridazina, triazolam,

zopiclona, etc.); corticosteroides (por ejemplo, beclometasona, betametasona, budesonida, acetato de cortisona, desoximetasona, dexametasona, acetato de fludrocortisona, flunisolida, flucortolona, propionato de fluticasona, hidrocortisona, metilprednisolona, prednisolona, prednisona, triamcinolona, etc.); agentes antigotosos (por ejemplo, 5 alopurinol, probenecid, sulfinpirazona, etc.); diuréticos (por ejemplo, acetazolamida, amilorida, bendrofluazida, bumetanida, clorotiazida, clortalidona, ácido etacrínico, furosemida, metolazona, espironolactona, triamtereno, etc.); beta bloqueantes (por ejemplo, acebutolol, alprenolol, atenolol, labetalol, metoprolol, nadolol, oxprenolol, pindolol, propranolol, etc.); agentes inotrópicos cardíacos (por ejemplo, amrinona, 10 digitoxina, digoxina, enoximona, lanatoside C, medigoxina, etc.); agentes antiparkinsonianos (por ejemplo, bromocriptina, lisurida, etc.); antagonistas de receptores de histamina (por ejemplo, acrivastina, astemizol, cinarizina, ciclizina, ciproheptadina, dimenhidrinato, flunarizina, loratadina, meclozina, oxatomida, terfenadina, etc.); agentes reguladores de lípidos (por ejemplo, bezafibrato, clofibrato, fenofibrato, gemfibrozil, 15 probucol, etc.); nitratos y otros agentes antianginosos (por ejemplo, nitrato de amilo, trinitrato de glicerilo, dinitrato de isosorbida, mononitrato de isosorbida, tetranitrato de pentaeritritol, etc.); agentes nutricionales (por ejemplo, betacaroteno, vitamina A, vitamina B2, vitamina D, vitamina E, vitamina K, etc.); analgésicos opioides (por ejemplo, codeína, dextropropioxifeno, diamorfina, dihidrocodeína, meptazinol, metadona, morfina, 20 nalbufina, pentazocina, etc.); hormonas sexuales (por ejemplo, citrato de clomifeno, danazol, etinilestradiol, acetato de medroxiprogesterona, mestranol, metiltestosterona, noretisterona, norgestrel, estradiol, estrógenos conjugados, progesterona, estanozolol, estibestrol, testosterona, tibolona, etc.); y similares. Naturalmente, en ciertas realizaciones en las que son terapéuticamente eficaces, se pueden usar mezclas de fármacos liposolubles.

25 En otras realizaciones, sin embargo, los agentes farmacéuticos o fármacos pueden ser hidrosolubles pudiendo estar, por ejemplo, contenidos dentro de una porción interna acuosa de una nanocápsula o asociados a su superficie. En algunos casos, el fármaco hidrosoluble puede presentar un cierto grado de solubilidad en medio acuoso (por ejemplo, teniendo un log P inferior a 1,5, donde P es el coeficiente intrínseco de reparto octanol-agua). Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, todas las sales farmacéuticamente 30 aceptables de los fármacos liposolubles antes mencionados, por ejemplo, docetaxel o trihidrato de docetaxel; por ejemplo, la sal puede ser sal cloruro, una sal sulfato, una sal bromuro, una sal mesilato, una sal maleato, una sal citrato, una sal fosfato, una sal

hidrocloruro; una sal de sodio, una sal de calcio, una sal de potasio, una sal de magnesio, una sal de meglumina, una sal de amonio, etc. En diversas realizaciones, se puede usar cualquier agente o fármaco adecuado que pueda estar contenido dentro de un disolvente apropiado dentro de una nanocápsula, según se ha discutido aquí.

- 5 Otros ejemplos de agentes farmacéuticos o fármacos hidrosolubles que pueden usarse incluyen, pero no se limitan a, agentes quimioterapéuticos (por ejemplo, topotecan, tenipósido, etopósido, pralatrexato, omacetaxina, doxorubicina, dacarbazina, procarbazina, hidroxidaunorrubicina, hidroxiaurea, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, floxuridina o 5-fluorodeoxiuridina, fludarabina, 5-fluorouracilo, metotrexata, tiotepa,
- 10 gemcitabina, pentostatina, mecloretamina, pibobroman, ciclofosfamida, ifosfamida, busulfan, carboplatin, picoplatin, tetraplatin, satrapalin, platinum-DACH, ormaplatin, oxaplatin, melfalan, aminoglutetimida, etc.); agentes antimicrobianos (por ejemplo, triclosan, cloruro de cetilpiridio, bromuro de domifen, sales de amonio cuaternarias, compuestos de zinc, sanguinarina, fluorida, alexidina, octonidina, EDTA, etc.); agentes
- 15 anti-inflamatorios no esteroideos y reductores de dolor (por ejemplo, aspirina, acetaminofeno, ibuprofeno, ketoprofeno, diflunisal, fenoprofeno calcio, flurbiprofeno sódico, naproxeno, tolmetina sódica, indometacina, celecoxib, valdecoxib, parecoxib, rofecoxib, etc.); antitusivos (por ejemplo, benzonatato, caramifen edisilato, mentol, hidrobromuro de dextrometorfano, hidrocloruro de clofedianol, etc.); antihistaminas (por
- 20 ejemplo, maleato de bromfeniramina, maleato de clorfeniramina, maleato de carbinoxamina, fumarato de clemastina, maleato de dexclorfeniramina, hidrocloruro de difenilhidramina, maleato de azatadina, citrato de difenidramina, hidrocloruro de difenidramina, hidrocloruro de difenilpiralina, succinato de doxilamina, hidrocloruro de prometazine, maleato de pirilamina, citrato de tripelenamina, hidrocloruro de triprolidina,
- 25 acrivastina, loratadina, desloratadina, bromfeniramina, dexbrofeniramina, fexofenadina, cetirizina, montelukast sódico, etc.); expectorantes (por ejemplo, guaifenesina, ipecac, yoduro potásico, terpinina hidrato, etc.); analgésicos-antipiréticos (por ejemplo, salicilatos, fenilbutazona, indometacina, fenacetina, etc.); fármacos anti-migraña (por ejemplo, sumitriptan succinato, zolmitriptan, ácido valproico, eletriptan hidrobromuro, etc.); H₂-
- 30 antagonistas y/o inhibidores de la bomba de protones (por ejemplo, ranitidina, famotidina, omeprazol, etc.); o similares.

En algunos casos, la parte interna puede incluir un péptido, una proteína o un nucleótido, muchos de los cuales son de naturaleza hidrofílica. Además, en algunos casos, un fármaco o agente farmacéutico puede estar presente en la superficie externa o cubierta de la entidad. El péptido, proteína o nucleótido puede tener cualquier tipo de actividad, tal

5 como antineoplásica, anti-angiogénica, inmunomoduladora/inmunosupresora, antigénica, antiinflamatoria, analgésica, antimigrañosa, antiobesidad, antidiabética, antimicrobiana, cicatrizante, antihelmíntica, antiarrítmica, antiviral, anticoagulante, antidepresiva, antiepiléptica, antifúngica, antigotosa, antihipertensiva, antipalúdica, antimuscarínica, antiprotozoaria, antitiroidea, ansiolítica, sedante, hipnótica, neuroléptica, betabloqueante,

10 inotrópica cardíaca, inhibidora de la adhesión celular, corticosteroide, moduladora de la actividad de los receptores de citoquinas, diurética, anti-Parkinsoniana, antagonista de los receptores H de la histamina, queratolítica, reguladora de lípidos, relajante muscular, anti-angina, nutricional, estimulante, anti-disfunción eréctil, etc.

Ejemplos de péptidos y proteínas incluyen, pero no se limitan a interleuquina IL-

15 27, interferones (por ejemplo, interferón alfa II, interferón alfacon-1, interferón alfa-n3, interferón gamma), parasporina 2, fragmento de endostatina, macromomicina, actinoxantina, glicoproteína rica en histidina, carboxipeptidasa G2, ribonucleasa pancreática, mitomalcina, arginina deiminasa, proteína P-30 u onconasa, inhibidor de la metaloproteínasa, guanilato quinasa, beclin-1, aloferón, mitogilina ribonucleasa, aureinas,

20 antígeno CD276, dermaseptina- B2, lactoferricina B, plantaricina A, maximinas, cecropinas, péptidos de neutrófilos humanos, caerinas, nisinas, maculatinas, mCRAMP, BMAP-27, BMAP-28, citropinas, insulina humana, insulina recombinante, análogos de insulina (por ejemplo, insulina lispro, aspart insulina, insulina glulisina, insulina detemir, degludec insulina, insulina glargina, insulina NPH, etc.), análogos de GLP-1 (por ejemplo,

25 exenatida, liraglutida, lixisenatida, albiglutida, dulaglutida, taspoglutida, semaglutida, etc.), análogos de GLP-2 (por ejemplo, teduglutida), somatropina, anakinra, dornasa alfa, proteínas ácidas de suero de leche, SPARC o proteínas de osteonectina, proteína C, subfamilia A de queratina, hormona del crecimiento humano o somatotropina, gonadotropina, angiopoyetina, factores estimulantes de colonias (por ejemplo, factor

30 estimulante de colonias de macrófagos, factor estimulante de colonias de granulocitos, factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos, etc.), factor de crecimiento epidérmico, eritropoyetina, factor de crecimiento de fibroblastos, familia de ligandos GDNF, factor-9 de diferenciación del crecimiento, factor de crecimiento de hepatocitos,

factor de crecimiento derivado de hepatoma, factor de crecimiento similar a la insulina, factor de crecimiento de queratinocitos, proteína estimulante de macrófagos, neurotrofinas, factor de crecimiento placentario, factor de crecimiento derivado de plaquetas, trombopoyetina, factores de crecimiento transformantes, factor de crecimiento del
 5 endotelio vascular, quimiocinas, interleucinas, linfoquinas, factores de necrosis tumoral (por ejemplo, el factor alfa de necrosis tumoral), proteínas de fusión Fc, péptidos contulakina-G y derivados, antiinflaminas, péptidos opioides, lipopéptidos (por ejemplo surotomicina), antígenos, tales como toxoides tetánico y diftérico, hepatitis B, y anticuerpos tales como anticuerpos monoclonales (mAb). En consecuencia, como ejemplo
 10 no limitante, una nanoentidad tal como una nanocápsula puede contener un anticuerpo monoclonal, por ejemplo, dentro de una porción interna de la entidad, dentro de la porción externa o en ambas. Mezclas de fármacos hidrosolubles pueden, por supuesto, ser usados en ciertas realizaciones en que sean terapéuticamente efectivos.

Como se usa en la presente memoria, un "anticuerpo" se refiere a una proteína o
 15 glicoproteína que tiene uno o más polipéptidos sustancialmente codificados por genes de inmunoglobulina o fragmentos de genes de inmunoglobulina. Los genes de inmunoglobulina reconocidos incluyen los genes de la región constante kappa, lambda, alfa, gamma, delta, epsilon y mu, así como una miríada de genes de región variable de inmunoglobulina. Las cadenas ligeras se clasifican como kappa o lambda. Las cadenas
 20 pesadas se clasifican como gamma, mu, alfa, delta o épsilon, que a su vez definen las clases de inmunoglobulinas, IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, respectivamente. Se sabe que la unidad estructural típica de una inmunoglobulina (anticuerpo) comprende un tetrámero. Cada tetrámero está compuesto por dos pares idénticos de cadenas polipeptídicas, teniendo cada par una cadena "ligera" (aproximadamente de 25 kD) y una cadena "pesada"
 25 (aproximadamente de 50-70 kD). El N-terminal de cada cadena define una región variable de aproximadamente 100 a 110 o más aminoácidos que son los principales responsables del reconocimiento del antígeno. Los términos cadena ligera variable (VL) y cadena pesada variable (VH) se refieren respectivamente a estas cadenas ligera y pesada. Los anticuerpos existen como inmunoglobulinas intactas o como una serie de fragmentos bien
 30 caracterizados producidos por digestión con diversas peptidasas. Así, por ejemplo, la pepsina digiere un anticuerpo por debajo (es decir, hacia el dominio Fc) de los enlaces disulfuro en la región bisagra para producir F(ab)'₂, un dímero de Fab que es una cadena ligera unida a VH-CH1 por un enlace disulfuro. El F (ab) '2 puede reducirse bajo

condiciones suaves para romper el enlace disulfuro en la región bisagra convirtiendo de este modo el dímero (Fab')₂ en un monómero Fab'. El monómero Fab' es esencialmente un Fab con parte de la región bisagra. Mientras que varios fragmentos de un anticuerpo se definen en términos de la digestión de un anticuerpo intacto, tales fragmentos también
 5 pueden sintetizarse *de novo*, por ejemplo, químicamente, utilizando metodología de ADN recombinante, mediante métodos de "presentación en fagos" (*Phage display*) o similares. Ejemplos de anticuerpos incluyen anticuerpos de cadena sencilla, por ejemplo, anticuerpos Fv (scFv) de cadena sencilla en los que una cadena pesada variable y una cadena ligera variable se unen (directamente o a través de un espaciador peptídico) para formar un
 10 polipéptido continuo. Ejemplos adicionales no limitantes de anticuerpos incluyen nanocuerpos, fragmentos de anticuerpos, anticuerpos monoclonales, anticuerpos quiméricos, anticuerpos quiméricos inversos, etc. Fragmentos que se unen a antígenos pueden incluir Fab, Fab', F(ab)₂, dsFv, sFv, unicuerpos, minicuerpos, diacuerpos, tricuerpos, tetracuerpos, nanocuerpos, procuerpos, dominios de cuerpos, unicuerpos, bi-
 15 fragmento variable de cadena sencilla bi-específica (bi-scFv), y similares.

Ejemplos de anticuerpos incluyen, pero no se limitan a, rituximab, gemtuzumab, alemtuzumab, ibritumomab, cetuximab, panitumumab, pertuzumab, tositumomab, trastuzumab, bevazizumab, durvalumab, nivolumab, inotuzumab, avelumab, pembrolizumab, olaratumab, atezolizumab, daratumumab, elotuzumab, necitumumab,
 20 dinutuximab, blinatumomab, ramucirumab, obinutuzumab, denosumab, ipilimumab, brentuximab, ofatumumab y combinaciones de los mismos.

Ejemplos de nucleótidos incluyen, pero no se limitan a, ADN, ARN, siARN, ARNm, miARN, PNA, o similares. Los nucleótidos pueden ser sentido o antisentido en diversas realizaciones.

25 Los agentes farmacéuticos pueden estar presentes hasta aproximadamente un 50% en peso con respecto al peso seco total de los componentes del sistema. Sin embargo, la proporción apropiada dependerá de una diversidad de factores tales como los agentes farmacéuticos que se han de incorporar, la indicación para la que se utiliza, la eficacia de la administración, etc. Por ejemplo, en algunos casos, los agentes farmacéuticos pueden estar
 30 presentes hasta aproximadamente el 10% en peso, o hasta aproximadamente el 5% en peso. En ciertas realizaciones, puede estar presente más de un agente farmacéutico, que puede disolverse en la misma solución o por separado, dependiendo de la naturaleza del ingrediente farmacéutico activo a incorporar.

En algunas realizaciones, la nanoentidad puede comprender uno o más tensioactivos. En algunas realizaciones, la cubierta de la nanoentidad comprende uno o más tensioactivos. En otras realizaciones, la porción interna de la nanoentidad comprende uno o más tensioactivos. Los tensioactivos (si están presentes) incluyen cualquiera de entre una variedad de componentes que poseen estructuras y/o grupos funcionales que les permiten interactuar simultáneamente con la parte lipófila e hidrofílica de la formulación. Ejemplos de tensioactivos incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: monooleato de polioxietilensorbitano (polisorbato 80; Tween 80®; HLB 15), monoestearato de polioxietilensorbitano (Tween® 60, HLB 14,9 y Tween 61®; HLB 9,6), monooleato de polioxietilensorbitano (Tween 81®; HLB 10), triestearato de polioxietilensorbitano (Tween 65®; HLB 10,5), trioleato de polioxietilensorbitano (Tween 85®; HLB 11), monolaurato de polioxietilensorbitano (Tween® 20, HLB 16.7 y Tween 21®; HLB 13.3), monopalmitato de polioxietilensorbitano (Tween® 40, HLB 15.6); ésteres pegilados de ácidos grasos y mezclas con PEG, como el monoestearato de polietilenglicol (HLB 11.6), estearato de polietilenglicol, estearato de polietilenglicol 40 (HLB 17), estearato de polietilenglicol 100 (HLB 18.8), dilaurato de polietilenglicol 400 (HLB 9.7), dilaurato de polietilenglicol 200 (HLB 5.9), monopalmitato de polietilenglicol (HLB 11.6), Kolliphor HS15® (HLB 15), polietilenglicol-15-hidroxiestearato (HLB 14-16), D-alfa-tocoferil polietilenglicol succinato (TPGS; HLB 13.2), oleato de trietanolamonio (HLB 12), oleato sódico (HLB 18), colato sódico (HLB 18), desoxicolato sódico (HLB 16), lauril sulfato sódico (HLB 40), glicocolato sódico (HLB 16-18), oleato de trietanolamina (HLB 12), goma de tragacanto (HLB 11.9) y dodecilsulfato sódico (HLB 40); Poloxamer 124 (HLB 16), Poloxamer 188 (HLB 29), Poloxamer 237 (HLB 29), Poloxamer 238 (HLB 28), Poloxamer 278 (HLB 28), Poloxamer 338 (HLB 27), y Poloxamer 407 (HLB 22), monooleato de sorbitano (Span® 80, HLB 4.3), monolaurato de sorbitano (Span® 20, HLB 8.6), monoestearato de sorbitano (Span® 60, HLB 4.7), trioleato de sorbitano (Span® 85, HLB 1.8), sesquiolato de sorbitano (Span® 83, HLB 3.7), monopalmitato de sorbitano (Span® 40, HLB 6.7), isoestearato de sorbitano (Span® 120, HLB 4.7), macroglicéridos de lauroilo (por ejemplo Gelucire® 44/14, HLB 14 y Labrafil® M2130CS, HLB 4), macroglicéridos de estearoilo (por ejemplo Gelucire® 50/13, HLB 13), macroglicéridos de linoleoilo (por ejemplo, Labrafil® M2125CS, HLB 4), macroglicéridos de oleoilo (Labrafil® M1944CS, HLB 4), macroglicéridos de caprilcaproilo (Labrasol®, HLB 14), lecitinas (por ejemplo, lecitina de huevo, lecitina de

soja, lecitina de organismos no modificados genéticamente, lecitina de colza, lecitina de girasol, lisolecitina, etc), fosfolípidos (por ejemplo, fosfolípidos de huevo, fosfolípidos de soja, fosfolípidos sintéticos, fosfolípidos hidrogenados, fosfolípidos PEGilados, fosfatidilcolina, lisofosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina, etc.), Phosal®,

5 Phospholipon®, o cualquier combinación de cualquiera de éstos y/u otros tensioactivos. En algunos casos, el tensioactivo puede ser catiónico, por ejemplo, cloruro de bencetonio, cloruro de benzalconio, CTAB (bromuro de hexadeciltrimetilamonio), cetrimida, bromuro de tetradeciltrimetilamonio, bromuro de dodeciltrimetilamonio, o similares. En algunos casos, el agente tensioactivo catiónico puede contener una sal de amonio, por ejemplo,

10 como grupo de cabeza. Por ejemplo, el grupo de cabeza puede comprender una sal de amonio primario, secundario, terciario o cuaternario. Además, debe entenderse que dichos tensioactivos no son necesarios en todas las realizaciones.

En algunas realizaciones, las entidades comprenden al menos un tensioactivo catiónico, tal como los descritos anteriormente. Por ejemplo, ciertas realizaciones de la

15 invención generalmente dirigidas a nanocápsulas pueden, en algunos casos, contener tensioactivos tales como tensioactivos catiónicos. Por ejemplo, ciertas realizaciones de la invención generalmente dirigidas a nanocápsulas que tienen un grupo direccional pueden además comprende tensioactivos catiónicos.

Varios aspectos de la invención también son dirigidos de forma general a

20 sistemas y métodos para producir composiciones tales como las descritas en la presente memoria, por ejemplo, nanopartículas, nanocápsulas, micelas u otras nanoentidades. En algunos casos, la composición es una composición farmacéutica.

Como ejemplo, en un conjunto de realizaciones, se puede usar un método de difusión de disolvente en una sola etapa para producir las nanoentidades, por ejemplo

25 nanocápsulas. En algunos casos, esto puede incluir preparar una solución acuosa que comprende ácido polisiálico y opcionalmente uno o más tensioactivos solubles en agua, preparar una solución oleosa (por ejemplo, que comprende un aceite y uno o más tensioactivos y un disolvente orgánico, etc.) y mezclar ambas soluciones. En algunos casos, el disolvente orgánico puede evaporarse total o parcialmente.

30 En otro conjunto de realizaciones, puede usarse un método de difusión del disolvente en dos etapas. Por ejemplo, en algunos casos, el método puede incluir preparar una solución oleosa (por ejemplo, que comprende un aceite y uno o más tensioactivos y un disolvente orgánico, etc.) y añadirla a una fase acuosa (o añadir la fase acuosa sobre la fase

oleosa). La fase acuosa puede contener opcionalmente uno o más tensioactivos solubles en agua. Las soluciones pueden ser mezcladas mediante agitación (*stirring*) para formar una nanoemulsión. En algunos casos, el disolvente orgánico puede evaporarse completa o parcialmente. Una vez que la nanoemulsión se forma, una solución acuosa que comprende

5 ácido polisiálico se puede adicionar bajo agitación para producir las nanocápsulas.

En aún otro conjunto de realizaciones, puede usarse un método de sonicación. Por ejemplo, en algunos casos, el método puede incluir preparar una solución oleosa que comprende un aceite y uno o más tensioactivos y, opcionalmente, un disolvente orgánico, y añadirla a una fase acuosa (o añadir la fase acuosa sobre la fase oleosa). La fase acuosa

10 puede contener opcionalmente uno o más tensioactivos solubles en agua. Las soluciones pueden combinarse mientras se exponen a sonicación para formar una nanoemulsión. En algunos casos, el disolvente orgánico puede evaporarse completa o parcialmente. Como se describió previamente para el método de difusión de disolvente, el ácido polisiálico se puede disolver en la fase acuosa antes de la sonicación (formación de nanocápsulas en una

15 única etapa) o después de obtener la nanoemulsión mediante sonicación (proceso en dos etapas).

En aún otro conjunto de realizaciones, puede usarse un método de homogeneización. Por ejemplo, en algunos casos, el método puede incluir preparar una solución oleosa, que comprende un aceite y uno o más tensioactivos, y opcionalmente un

20 disolvente orgánico, y añadirla a una fase acuosa (o añadir la fase acuosa sobre la fase oleosa). La fase acuosa puede contener opcionalmente uno o más tensioactivos solubles en agua. Las soluciones pueden combinarse mientras se homogeneiza para formar una nanoemulsión. En algunos casos, el disolvente orgánico puede evaporarse completa o parcialmente. Como se describió previamente para ambos métodos de difusión de

25 disolvente y de sonicación, el ácido polisiálico se puede disolver en la fase acuosa antes de homogeneizar (formación de nanocápsulas en una única etapa) o después de obtener la nanoemulsión por homogeneización (proceso en dos etapas).

En otra realización, se puede usar un método de auto-emulsificación para producir la emulsión, por ejemplo, como se discute aquí. Por ejemplo, en algunos casos, el método

30 puede incluir preparar una solución oleosa, que comprende un aceite y uno o más tensioactivos (y opcionalmente un co-solvente) y adicionar lo a una fase acuosa (o adicionar la fase acuosa sobre la fase oleosa). La fase acuosa puede opcionalmente contener uno o más tensioactivos solubles en agua. En un conjunto de realizaciones, la

emulsión puede ser preparada sin el uso de co-solventes (por ejemplo, etanol, PEG, glicerina, propilenglicol, etc). Como se describió previamente el ácido polisiálico puede disolverse en la fase acuosa antes de la auto-emulsificación (formación de nanocápsulas en una única etapa) o después de obtener la nanoemulsión (proceso en dos etapas).

5 En otra realización, la presente invención se refiere a un método para producir nanoentidades, que comprende una etapa adicional de liofilización, que puede hacer que se conserven durante el almacenamiento. En algunos casos, no es necesario usar crioprotectores durante la liofilización. En algunas realizaciones, no es necesario diluir el sistema coloidal antes de la liofilización, ya que las nanoentidades pueden no formar
10 agregados durante la reconstitución del liofilizado. En algunos casos, es posible añadir uno o más azúcares, por ejemplo, azúcares que ejercen un efecto crioprotector. Ejemplos de crioprotectores incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: trehalosa, glucosa, sacarosa, manitol, maltosa, polivinilpirrolidona (PVP), glicerol, polietilenglicol (PEG), propilenglicol, 2-metil-2,4-pentanodiol (MPD), rafinosa, dextrano, fructosa, estaquiosa o
15 similares. En algunos casos, los crioprotectores u otros aditivos pueden tener otros efectos, por ejemplo, como tampones para controlar el pH. En forma liofilizada, las nanoentidades pueden almacenarse durante largos períodos de tiempo, y pueden regenerarse, por ejemplo, añadiendo agua.

Otro aspecto proporciona un método para administrar cualquier composición
20 comentada en la presente memoria a un organismo vivo. Cuando se administran, las composiciones de la invención se aplican en una cantidad terapéuticamente eficaz y en una formulación farmacéuticamente aceptable. En la presente memoria, el término "farmacéuticamente aceptable" significa que la formulación contiene agentes o excipientes compatibles con la forma requerida para su administración a un ser vivo, sin causar efectos
25 perjudiciales. Cualquiera de las composiciones de la presente invención puede ser administradas al organismo vivo en una dosis terapéuticamente eficaz. El término "terapéuticamente eficaz" o "eficaz" tal como se usa en la presente memoria significa aquella cantidad necesaria para retrasar la aparición de, inhibir la progresión de, detener completamente la aparición o progresión de, diagnosticar una condición particular que está
30 siendo tratada o, de otro modo, lograr un resultado médicamente deseable. Los términos "tratar", "tratado", "tratando", y similares, generalmente se refieren a la administración de las composiciones de la invención a un organismo vivo. Cuando se administran a un organismo vivo, las cantidades efectivas dependerán de la condición particular que se está

tratando y del resultado deseado. Una dosis terapéuticamente eficaz puede ser determinada por los expertos en la técnica, por ejemplo, empleando factores tales como los descritos adicionalmente a continuación y utilizando no más que una experimentación rutinaria. Por ejemplo, en una realización, las composiciones son usadas aquí para tratar el cáncer, por ejemplo, mediante la administración de docetaxel al organismo vivo, por ejemplo, por vía intravenosa.

Algunas realizaciones de la invención se dirigen generalmente al uso de una composición como se describe en el presente documento para la preparación de un medicamento. Por ejemplo, ciertas realizaciones se refieren a las composiciones descritas en la presente memoria para uso en el tratamiento del cáncer.

Al administrar las composiciones de la invención a un organismo vivo, se pueden seleccionar las dosis, pautas de dosificación, vías de administración y similares para influir en las actividades conocidas de estas composiciones. Las dosis se pueden estimar basándose en los resultados de modelos experimentales, opcionalmente en combinación con los resultados de ensayos de composiciones de la presente invención. La dosificación puede ajustarse apropiadamente para conseguir los niveles de fármaco deseados, locales o sistémicos, dependiendo del modo de administración. Las dosis pueden administrarse en una o varias administraciones por día, semana o mes.

La dosis de la composición administrada al organismo vivo puede ser tal que una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición alcance el lugar de acción de la composición dentro del organismo vivo. La dosis puede administrarse en algunos casos a la cantidad máxima evitando o minimizando cualquier efecto secundario potencialmente perjudicial dentro del organismo vivo. La dosificación de la composición que se administra depende de factores tales como la concentración final deseada en el lugar de acción, el método de administración al organismo vivo, la eficacia de la composición, la permanencia de la composición dentro del organismo vivo, el momento de la administración, el efecto de tratamientos concurrentes. La dosis administrada también puede depender de condiciones asociadas con el organismo vivo y puede variar en algunos casos de organismo a organismo. Por ejemplo, la edad, el sexo, el peso, el tamaño, el medio ambiente, las condiciones físicas o el estado actual de salud del organismo vivo también pueden influir en la dosis requerida y/o en la concentración de la composición en el lugar de acción. Pueden producirse variaciones en la dosificación entre diferentes individuos o

incluso dentro del mismo individuo en días diferentes. En algunos casos, puede utilizarse una dosis máxima, es decir, la dosis segura más alta de acuerdo con un criterio médico sólido. En algunos casos, la forma de dosificación es tal que no afecta perjudicialmente de manera sustancial al organismo vivo.

5 En ciertas realizaciones, se administra una composición de la invención a un organismo vivo que tiene cáncer. La administración de una composición de la invención puede realizarse por cualquier método médicamente aceptable que permita que la composición alcance su objetivo. El modo particular seleccionado dependerá, por supuesto, de factores tales como los descritos anteriormente, por ejemplo, la composición particular, la gravedad del estado del organismo vivo que se está tratando, la dosificación
10 requerida para la eficacia terapéutica, etc. Según se usa aquí, un modo de tratamiento "médicamente aceptable" es un modo capaz de producir niveles efectivos de la composición dentro del organismo vivo sin provocar efectos adversos clínicamente inaceptables.

15 Cualquier método médicamente aceptable puede ser usado para administrar la composición al organismo vivo. La administración puede ser localizada (es decir, en una región particular, sistema fisiológico, tejido, órgano o tipo celular) o sistémica, dependiendo de la afección a tratar. Por ejemplo, la composición puede administrarse por vía intravenosa, o a través de otras técnicas, tales como oral, vaginal, rectal, bucal,
20 pulmonar, ocular, tópica, nasal, transdérmica, intratumoral, peritoneal, mediante inyección parenteral o implantación, mediante administración quirúrgica o cualquier otro método de administración donde el acceso al objetivo por la composición de la invención sea alcanzado. Las composiciones adecuadas para la administración oral pueden presentarse como unidades discretas tales como cápsulas duras o blandas, píldoras, sobres, tabletas,
25 grageas o pastillas, conteniendo cada una, una cantidad determinada del compuesto activo. Otras composiciones orales adecuadas para su uso con la invención incluyen soluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos tales como un jarabe, un elixir o una emulsión. En otro conjunto de realizaciones, la composición puede usarse para reforzar un alimento o una bebida. La administración rectal puede utilizarse en algunas
30 realizaciones, por ejemplo, en forma de enema, supositorio o espuma.

 En un conjunto de realizaciones, la administración de la composición es parenteral, intratumoral u oral. En algunas realizaciones, la composición se administra por inyección o infusión. En una realización, la inyección se selecciona de entre inyección

intratumoral, subcutánea, intramuscular o intravenosa. En otra realización, la composición se administra mediante inyección o infusión intratecal.

En ciertas realizaciones de la invención, la administración de una composición de la invención puede diseñarse de manera que resulte en exposiciones secuenciales a una composición durante un cierto período de tiempo, por ejemplo, horas, días, semanas, meses o años. Esto puede conseguirse, por ejemplo, mediante administraciones repetidas de una composición de la invención por uno de los métodos descritos anteriormente. La administración de una composición puede ser sola, o en combinación con otros agentes terapéuticos y/o composiciones.

En ciertas realizaciones de la invención, una composición puede combinarse con un vehículo adecuado farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, incorporado en un sistema de liberación polimérico, o suspendido en un líquido, por ejemplo, disuelto o en suspensión coloidal. En general, los vehículos adecuados farmacéuticamente aceptables para su uso en la invención son bien conocidos por los expertos en la técnica. Tal como se utiliza en la presente memoria, un "vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a un material no tóxico que no interfiere significativamente con la eficacia de la actividad biológica del compuesto o compuestos activos a administrar, sino que se utiliza como ingrediente de la formulación, por ejemplo, para estabilizar o proteger el (los) compuesto (s) activo (s) dentro de la composición antes de su uso. El término "vehículo" indica un ingrediente orgánico o inorgánico, que puede ser natural o sintético, con el que se combinan uno o más compuestos activos de la invención para facilitar la aplicación de una composición como se describe en la presente memoria. El vehículo puede ser entremezclado o de otro modo mezclado con una o más composiciones de la presente invención, y entre sí, de una manera tal que no haya interacción que perjudique sustancialmente la eficacia farmacéutica deseada. El vehículo puede ser soluble o insoluble, dependiendo de la aplicación. Ejemplos de vehículos bien conocidos incluyen vidrio, poliestireno, polipropileno, polietileno, dextrano, nylon, amilasa, celulosa natural y modificada, poliacrilamida, agarosa y magnetita. La naturaleza del vehículo puede ser soluble o insoluble. Los expertos en la técnica sabrán de otros vehículos adecuados, o serán capaces de determinarlos, usando sólo experimentación rutinaria.

En algunas realizaciones, una composición de la invención puede incluir vehículos farmacéuticamente aceptables con ingredientes de formulación tales como sales, vehículos, agentes tamponantes, emulsionantes, diluyentes, excipientes, agentes quelantes,

agentes de relleno, agentes secantes, antioxidantes, antimicrobianos, conservantes, agentes aglutinantes, agentes de carga, sílices, solubilizantes o estabilizadores que se pueden ser usados con el compuesto activo. Por ejemplo, si la formulación es un líquido, el vehículo puede ser un disolvente, un disolvente parcial o un no disolvente, y puede ser acuoso u

5 orgánico. Ejemplos de ingredientes de formulación adecuados incluyen diluyentes tales como carbonato cálcico, carbonato sódico, lactosa, caolín, fosfato cálcico o fosfato sódico; agentes para granulación y desintegrantes tales como almidón de maíz o ácido algínico; agentes aglutinantes tales como almidón, gelatina o acacia; agentes lubricantes tales como estearato de magnesio, ácido esteárico o talco; materiales retardantes tales como

10 monoestearato de glicerol o diestearato de glicerol; agentes suspensores tales como carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato sódico, polivinilpirrolidona; agentes dispersantes o humectantes tales como lecitina u otros fosfátidos naturales; agentes espesantes tales como alcohol cetílico o cera de abejas; agentes tamponantes tales como ácido acético y sales de los mismos, ácido cítrico y sales

15 de los mismos, ácido bórico y sales de los mismos, o ácido fosfórico y sales de los mismos; o conservantes tales como cloruro de benzalconio, clorobutanol, parabenos o timerosal. Las concentraciones adecuadas del vehículo pueden ser determinadas por los expertos en la técnica, utilizando no más que una experimentación rutinaria. Una composición como la

descrita en la presente memoria puede formularse en preparaciones de formas sólidas, semisólidas, líquidas o gaseosas tales como tabletas, cápsulas, elixires, polvos, gránulos,

20 ungüentos, soluciones, depósitos, inhalantes o inyectables. Los expertos en la técnica sabrán de otros ingredientes de formulación adecuados, o serán capaces de determinarlos, utilizando sólo experimentación rutinaria.

Las preparaciones incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones acuosas o no

25 acuosas estériles, que pueden ser isotónicas con el suero sanguíneo en ciertas realizaciones. Ejemplos de disolventes no acuosos son polipropilenglicol, polietilenglicol, aceite vegetal tal como aceite de oliva, aceite de sésamo, aceite de coco, aceite de cacahuete, aceite mineral, ésteres orgánicos inyectables tales como oleato de etilo, o aceites no volátiles, incluyendo mono o di-glicéridos. Los vehículos acuosos incluyen agua, soluciones

30 alcohólicas /acuosas, emulsiones o suspensiones, incluyendo solución salina y medio tamponado. Los vehículos parenterales incluyen solución de cloruro de sodio, 1,3-butandiol, dextrosa de Ringer, dextrosa y cloruro de sodio, soluciones de lactato de Ringer o aceites no volátiles. Los vehículos intravenosos incluyen reabastecedores de líquidos y

nutrientes, reabastecedores de electrolitos (tales como los basados en dextrosa de Ringer), y similares. También pueden estar presentes conservantes y otros aditivos tales como, por ejemplo, antimicrobianos, antioxidantes, agentes quelantes y gases inertes y similares. Los expertos en la técnica pueden determinar fácilmente los diversos parámetros para la
 5 preparación y formulación de una composición tal como se describe en la presente memoria sin recurrir a una experimentación excesiva.

La presente invención también proporciona cualquiera de las composiciones mencionadas anteriormente en kits, incluyendo opcionalmente instrucciones para el uso de la composición para el tratamiento de cáncer u otras enfermedades. También se pueden
 10 proporcionar instrucciones para administrar una composición por cualquier técnica adecuada como se ha descrito anteriormente, por ejemplo, de forma oral o intravenosa.

Las composiciones de la invención pueden presentarse bajo la forma de un kit. El kit define típicamente un paquete que incluye una o más composiciones de la invención y otros ingredientes como se ha descrito anteriormente. Los kits también pueden incluir otros
 15 recipientes con uno o más disolventes, agentes tensioactivos, conservantes y/o diluyentes (por ejemplo, solución salina común (NaCl al 0,9%) o dextrosa al 5%) así como recipientes para mezclar, diluir o administrar la composición a un organismo vivo.

Las composiciones del kit pueden presentarse como soluciones líquidas o como polvos secos. Cuando una composición se presenta como un polvo seco, puede
 20 reconstituirse mediante la adición de un disolvente adecuado. En realizaciones en las que se usan formas líquidas de una composición, la forma líquida puede concentrarse o estar lista para su uso. El disolvente dependerá de una composición y del modo de uso o administración.

Los siguientes ejemplos pretenden ilustrar ciertas realizaciones de la presente
 25 invención, pero no ejemplifican el alcance completo de la misma.

EJEMPLO 1

Este ejemplo ilustra las nanocápsulas de ácido polisiálico funcionalizadas con el péptido de penetración tumoral tLyp-1.

La composición de las nanocápsulas fue la siguiente. Las nanocápsulas fueron
 30 formadas por un núcleo oleoso rodeado por una cubierta polimérica de ácido polisiálico (PSA, 30 kDa) funcionalizado con el péptido tLyp1 y estabilizado por tensioactivos. Las

nanocápsulas se formaron debido a la interacción del PSA con un tensioactivo cargado positivamente en la interfase de una emulsión de aceite en agua.

La unión covalente de PSA utilizada permite una unión covalente selectiva entre los grupos tiol del péptido tLyp1 y los grupos carboxilato del PSA. En esta estrategia de síntesis se utilizó el espaciador heterobifuncional aminoetil maleimida que permite, en primer lugar, la unión a través del grupo amina del grupo espaciador a los grupos carboxilato de PSA (usando química carbodiimida) y, en segundo lugar, la unión del péptido mediante la adición del grupo tiol del péptido (residuo de cisteína) al grupo maleimida del espaciador (adición de tipo Michael), siguiendo un proceso de dos etapas (Figura 1). Esta estrategia permitió la preservación de los grupos biológicamente activos del péptido tLyp1. Además, el grado de sustitución puede controlarse fácilmente.

Las nanocápsulas de PSA pueden producirse mediante una variedad de técnicas. El número de moléculas tLyp1 presente en la superficie de las nanocápsulas podría modificarse de acuerdo con las diferentes proporciones (ratios) molares utilizadas en la reacción química (véase la Tabla 1 como ejemplos variables no limitativos, que muestran la proporción molar del ácido carboxílico (COOH) de PSA: EDC: NHS: AEM). Una de ellas es una técnica de difusión del disolvente, que implica la mezcla de un disolvente polar en una fase acuosa. Otra técnica es una técnica de autoemulsificación, que no requiere el uso de disolventes orgánicos.

Las nanocápsulas de PSA pudieron ser funcionalizadas con tLyp1. El número de moléculas tLyp1 en la superficie de las nanocápsulas pudo ser controlado. Las nanocápsulas tLyp1 funcionalizadas que se formaron tenían un tamaño alrededor de 130 nm y un potencial zeta negativo (-44 mV). Las nanocápsulas funcionalizadas con tLyp1 resultaron estables tras la incubación en plasma a 37°C. Las nanocápsulas funcionalizadas con tLyp1 podrían cargarse con cualquier fármaco hidrofóbico adecuado y también con moléculas hidrosolubles. Por ejemplo, en un experimento, las nanocápsulas funcionalizadas con tLyp1 se cargaron con docetaxel. Además de tLyp1, otros péptidos de penetración en tejidos, tales como péptidos CendR (por ejemplo, Lyp1 e iRGD), pueden estar unidos a la cadena de PSA.

Tabla 1

	COOH (PSA)	EDC	NHS	AEM
--	------------	-----	-----	-----

Ratio 1	1	0.29	0.05	0.01
Ratio 2	1	0.58	0.1	0.02
Ratio 3	1	1.16	0.2	0.04
Ratio 4	1	1.8	0.3	0.06
Ratio 5	1	2.4	0.4	0.08
Ratio 6	1	3	0.5	0.1
Ratio 7	1	4.5	0.75	0.15

EDC: Hidrocloruro de N-(3-Dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida; NHS: N-Hidroxisuccinimida; AEM: sal trifluoroacetato de N-(2-Aminoetil) maleimida.

En un experimento, se prepararon las nanocápsulas de polisiálico de la forma que se explica a continuación. Los resultados se presentan como media +/- S.D. de 3 replicados.

Mediante una técnica de difusión del disolvente se prepararon nanocápsulas con una cubierta polimérica de PSA o PSA-tLyp1 de diferentes ratios. La fase orgánica se compuso de 4,75 ml de acetona y 0,25 ml de etanol, conteniendo 0,75 mg/ml de lecitina (Epikuron 145V), 0,15 mg/ml de CTAB, 2,96 mg/ml de Miglyol® 812 y 150 µg/ml de docetaxel, en el caso de nanocápsulas cargadas con docetaxel, y una fase acuosa de 10 ml de solución de PSA o PSA-tLyp1 a una concentración de 0,25 mg/ml. La fase orgánica se añadió gota a gota a la fase acuosa bajo agitación magnética, dando lugar a la formación inmediata de las nanogotículas y a la deposición del polímero a su alrededor. Después de la formación de las nanocápsulas, los disolventes orgánicos se eliminaron por rotaevaporación.

Las nanocápsulas se aislaron por ultracentrifugación (Ultracentrífuga Optima™ L-90K, Beckman Coulter, Fullerton, CA) a 84035 g durante 0,5 h a 15°C. A continuación se retiró el bajonadante del medio. Las nanocápsulas (en el sobrenadante) se recogieron y diluyeron hasta una concentración conocida.

Las nanocápsulas fueron caracterizadas en términos de tamaño medio de partícula e índice de polidispersión (PI) por espectroscopía de correlación fotónica (PCS). Las muestras se diluyeron en agua MilliQ y el análisis se llevó a cabo a 25°C utilizando un ángulo de 173°. Las mediciones del potencial zeta se realizaron mediante anemometría de láser Doppler (LDA), para lo que se diluyeron las muestras en solución acuosa de KCl 1

mM. Los análisis de PCS y LDA se realizaron por triplicado usando un equipo NanoZS® (Malvern Instruments, Malvern, UK).

Tabla 2

	Tamaño (nm)	PI	Potencial Zeta (mV)
PSA NCs	133.5 +/- 8.1	0.10	-51.4 +/- 6.7
PSA-tLyp1 NCs ratio 1*	125.0	0.12	-57.2
PSA-tLyp1 NCs ratio 2	140.5 +/- 2.0	0.05	-45.6 +/- 1.0
PSA-tLyp1 NCs ratio 3	143.5 +/- 4.1	0.06	-28.0 +/- 2.2
PSA-tLyp1 NCs ratio 4	Agregación		
PSA-tLyp1 NCs ratio 5	Agregación		
PSA-tLyp1 NCs ratio 6	Agregación		
PSA-tLyp1 NCs ratio 7	Agregación		

- 5 *n=1; PSA: ácido polisiálico; PSA-tlyp1: ácido polisiálico funcionalizado con el péptido tlyp1; NCs: nanocápsulas

Los experimentos de RMN se realizaron utilizando los espectrómetros Varian Inova 750. Los desplazamientos químicos se reportan en ppm. Los espectros se obtuvieron en una mezcla de óxido de deuterio: agua MilliQ 10:90 a una concentración de polímero entre 0,4-0,8 mg/ml. El análisis de ¹H-RMN se realizó a 750 MHz con 256 scans y 10 s de retardo entre cada scan. Para el procesamiento de los espectros se utilizó el Software MestreNova (Mestrelab Research). La formación del conjugado PSA-tLyp1 se confirmó verificando la presencia de señales ¹H- RMN características del péptido en los espectros correspondientes al PSA-tLyp1. Además, se observó la presencia de señales de protones de aminas características de los aminoácidos del péptido tLyp1 en el espectro ¹H-NMR del PSA-tLyp1 entre 6,5 y 8,5 ppm (Figura 6), confirmando así la unión covalente entre PSA y tLyp1.

EJEMPLO 2

Este ejemplo ilustra datos *in vivo* usando ciertas partículas según se describe en el Ejemplo 1. La funcionalización del PSA con tLyp1 dio como resultado un efecto de direccionamiento activo en un modelo de tumor ortotópico de pulmón (alta acumulación del fármaco antitumoral docetaxel en el pulmón). Los datos de biodistribución presentados en la Fig. 2A indican que este efecto de direccionamiento es marcadamente pronunciado cuando el péptido se encuentra unido covalentemente al PSA en comparación con la administración de nanocápsulas de PSA y tLyp1 no unidos entre sí (nanocápsulas de PSA y tLyp1) y nanocápsulas de PSA no modificadas (sin tLyp1).

En este ejemplo, la eficacia de las nanocápsulas de PSA funcionalizadas con tLyp1 se comparó con la de la formulación comercial Abraxane® (paclitaxel) en un modelo PDX (Xenograft Derivado de Paciente) de cáncer pancreático en ratones. Los resultados representados en la Figura 3 muestran que las nanocápsulas de PSA funcionalizadas con tLyp1 (Ratio 2) fueron más eficaces que el Abraxane®. El crecimiento del tumor se redujo significativamente y la supervivencia de los ratones se prolongó también significativamente (42 frente a 56 días). Además, las nanocápsulas mostraron una baja toxicidad *in vivo* en términos de pérdida de peso en ratones sanos (Figura 4) y toxicidad sanguínea.

La Figura 2 muestra la acumulación de docetaxel a 1h (Figura 2A) y 24 h (Figura 2B) tras la administración intravenosa de Taxotere® (docetaxel comercial), nanocápsulas de PSA, nanocápsulas de PSA-tlyp1 y nanocápsulas de PSA + tlyp1, a una dosis equivalente de 7,5 mg/kg. Los datos se muestran como la media +/- la desviación estándar (SD) de 5 replicados. Diferencias significativas entre tratamientos (*) $p < 0,01$.

La Figura 3 muestra el volumen tumoral relativo tras la administración intravenosa de Abraxane® (dosis de paclitaxel de 150 mg/kg) y nanocápsulas de PSA-tlyp1 cargadas con docetaxel (dosis de docetaxel de 60 mg/kg). Todos los datos se muestran como la media +/- el error estándar (SEM) de 5 replicados. Los ratones o bien murieron o bien fueron sacrificados a día 42 (grupo control y los tratados con Abraxane®) o a día 56 debido al avanzado estado de la enfermedad.

La Figura 4 muestra la evolución del peso corporal de los ratones tratados con nanocápsulas de PSA-tlyp1 a una dosis equivalente total de 75 mg/kg. Todos los datos se muestran como la media +/- la desviación estándar (SD) de 5 replicados.

EJEMPLO 3

Un ejemplo de preparación de ácido polisiálico funcionalizado con C₁₂ se realizó como sigue. El C₁₂ (dodecilo) se utiliza aquí como un ejemplo no limitativo, aunque otros grupos alquilo pueden usarse de manera similar en otros experimentos. Haciendo referencia a la Figura 5, una sal sódica de ácido polisiálico (30 kDa) se trató con Dowex y
 5 luego con hidróxido de tetrabutilamonio. Después de la concentración/purificación por ultrafiltración y de la liofilización del concentrado, se obtuvo una sal de tetrabutilamonio de ácido polisiálico fácilmente soluble en DMF.

El ácido se activó luego con tetrafluoroborato de 2-bromo-1-etil-piridinio y posteriormente se hizo reaccionar con dodecilamina. Después del aislamiento del producto
 10 por precipitación, el catión de tetrabutilamonio fue reemplazado por un catión de sodio. La concentración/purificación por ultrafiltración y la liofilización del concentrado originaron la sal de sodio de ácido polisiálico funcionalizado con dodecilamida, que era el objetivo. El análisis por ¹H-RMN confirmó la estructura y el grado de sustitución en el rango del 4%.

Algunas reacciones de prueba fueron realizadas para optimizar mejor la cantidad
 15 de tetrafluoroborato de 2-bromo-1-etil-piridinio. Una prueba inicial con un 5% de tetrafluoroborato de 2-bromo-1-etilpiridinio dio lugar a una incorporación muy baja (<1%) de dodecilamina en el polímero. Un experimento con 1 equivalente de tetrafluoroborato de 2-bromo-1-etil-piridinio dio lugar a un producto que era menos soluble en agua. Con un 30% de tetrafluoroborato de 2-bromo-1-etilpiridinio, se obtuvo un grado de sustitución en
 20 el rango del 4%. A continuación, la reacción se escaló a 1 gramo de polímero funcionalizado.

Ultrafiltración. La ultrafiltración se usó para concentrar (y desalar) la sal de tetrabutilamonio de ácido polisiálico y el ácido polisiálico derivatizado. La ultrafiltración se llevó a cabo usando un sistema de filtración de flujo tangencial (TFF) Minim II de Pall
 25 usando un casete (Pall) 10K Omega Centramate T-series 0.019 m² (artículo OS010T02, número de serie 36049076R, número de lote de membrana H5257E). Para la diafiltración, el agua se introdujo de forma continua en el depósito, liberándose un flujo de permeado. Las sales y las impurezas de bajo peso molecular permearon a través de la membrana y, por tanto, fueron eliminadas.

30 Sal de tetrabutilamonio de ácido polisiálico (2). La sal sódica de ácido polisiálico (100 g) fue disuelta en 100 ml de agua pura, se agitó durante 30 minutos con Dowex 50 WX8 (200-400, forma H⁺, recién lavado con agua, seguido de metanol y después con agua) (20 ml) y la resina resultante se separó por filtración y se lavó con agua desionizada.

El pH de la solución fue menor de 4. La solución se trató con hidróxido de tetrabutilamonio (solución al 40% en peso en agua) hasta que el pH fue aproximadamente 12. El procedimiento completo se repitió dos veces y el pH final se ajustó posteriormente a 7,5-8 mediante burbujeo de CO₂ seguido por burbujeo de N₂.

5 Ultrafiltración. La solución de sal de tetrabutilamonio de ácido polisiálico se colocó en el depósito (400 ml) y se concentró hasta un volumen de 100 ml. Para la diafiltración, el agua se introdujo de forma continua en el depósito (300 ml). El flujo de permeado fue de 12 ml/min. Cuando se terminó la diafiltración, la solución se concentró adicionalmente hasta un volumen mínimo y se retiró del depósito. La presión
10 transmembrana durante la diafiltración fue 0,6 bar, P₁ = 1,2 bar. El concentrado se liofilizó para dar lugar al compuesto (1,6 g) en forma de un sólido blanco.

Sal de tetrabutilamonio de ácido polisiálico funcionalizada con dodecilamida (3). A una solución de sal de tetrabutilamonio de ácido polisiálico 2 (1,3 g, 2,43 mmol eq.) en DMF (30 ml) bajo N₂ a temperatura ambiente se le añadió tetrafluoroborato de 2-bromo-1-
15 etilpiridinio (233 mg, 0,85 mmol, 0,35 eq.) en DMF (1 ml) y la solución se agitó durante 1 h. A continuación se añadió a la reacción una solución de 1-aminododecano (270 mg, 1,46 mmol) y Et₃N (0,576 ml, 4,13 mmol) en DMF (1 ml) y la mezcla se agitó durante 40 h. La mezcla de reacción se añadió gota a gota a una solución de Et₂O (150 ml) y acetona (15 ml). El precipitado se recogió por filtración, se lavó con Et₂O y se secó bajo presión
20 reducida.

Sal sódica de ácido polisiálico funcionalizado con dodecilamida (4). El precipitado blanco se disolvió en agua desionizada (100 mL) y la solución se agitó durante 30 minutos con Dowex 50WX8 (200-400, forma H⁺, recién lavado con agua seguido de metanol y luego agua) (20 mL) y la resina se filtró y lavó con agua desionizada. La
25 solución se trató con una solución acuosa de hidróxido sódico (1 M) hasta que el pH fue 12. El procedimiento completo se repitió dos veces y el pH final se ajustó posteriormente a 7,5-8 por burbujeo de CO₂ seguido de burbujeo de N₂.

Ultrafiltración. La solución de sal de sodio del ácido polisiálico derivatizado se colocó en el depósito (500 ml) y la solución se concentró hasta un volumen de 100 ml por
30 diafiltración.. La presión transmembrana durante la diafiltración fue de 0,6-0,7 bar (P₁ = 1,2-1,3 bar).

El concentrado se liofilizó para dar lugar la sal de sodio del ácido polisiálico funcionalizada con dodecilamida 4 (800 mg) en forma de un sólido blanco. El espectro de ^1H -RMN indicó un grado de sustitución de alrededor del 4%.

5

EJEMPLO 4

Este ejemplo ilustra la formulación, por la técnica de autoemulsificación, de nanocápsulas de ácido polisiálico (PSA, 30 kDa) y la asociación adicional de un anticuerpo IgG completo (Mw 160 kDa, punto isoelectrico 6,5 - 8,1) a dichas nanocápsulas. A menos que se indique lo contrario, los resultados se presentan como media +/- desviación estándar (SD) de un mínimo de 3 replicados.

Por ejemplo, en un experimento, la fase oleosa se compuso de 500 μl de los triglicéridos Caprílico/cáprico (Mygliol® 812) y 438 μl de una mezcla previamente preparada de Polisorbato 80 (Tween® 80) y Bromuro de Cetil Trimetil Amonio (CTAB) (5,5 mg de CTAB en 2 mL de Tween® 80, calentando a 50°C durante 1 h para su completa disolución). La fase acuosa se compuso de una mezcla de 11,25 mg de Macrogol 15 Hidroxiestearato (Kolliphor® HS15) y una solución acuosa previamente preparada de PSA (13,5 mg de PSA en 3975 μl de agua ultrapura).

Las nanocápsulas de PSA se formaron espontáneamente después de la adición de 175 μl de la fase oleosa sobre 1325 μl de la fase acuosa bajo agitación magnética (20 min, 900 rpm). A continuación, por ejemplo en un experimento, la IgG se asoció incubando 150 μl de nanocápsulas de PSA con 150 μl de IgG (1,47 mg/ml) durante 4 h a temperatura ambiente y bajo agitación horizontal.

El tamaño, índice de polidispersión (PI) y la carga superficial (potencial zeta) de las nanocápsulas de PSA y de las nanocápsulas de PSA cargadas con IgG fueron determinados mediante las técnicas de espectroscopía de correlación fotónica y anemometría de láser Doppler (instrumento Nano-ZS, Malvern, UK) (Tabla 3).

La eficacia de asociación de IgG a las nanocápsulas a PSA se evaluó por ultrafiltración utilizando membranas Nanosep® 300K (Pall Corporation, España). Así, 250 μl de las nanocápsulas cargadas con IgG se cargaron en la membrana de filtración y se centrifugaron (4 minutos, 4°C, 14.000 g). Después de este proceso de aislamiento, se recogió el filtrado que contenía el anticuerpo libre y se analizó mediante un ensayo de Bradford. La eficiencia de la asociación se calculó indirectamente como: $(\text{IgG total} - \text{IgG libre}) / \text{IgG total} * 100$. Los resultados se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3

Formulación	Tamaño (nm)	PI	Potential Zeta (mV)	Eficiencia de Asociación (%)
PSA NCs	152 +/- 8	0,2	-5 +/- 3	-
PSA NCs con IgG *	143,7 +/- 5	0,2	n.d	95 +/- 13

* $n=2$; PSA: ácido polisiálico; NCs: nanocápsulas

En un experimento, se evaluó la estabilidad de las nanocápsulas de PSA (sin IgG) en medio de cultivo celular RPMI (medio Roswell Park Memorial Institute), suplementado con 10% de suero bovino fetal (FBS) y 1% de piruvato. Las muestras se diluyeron 1/10 (v/v) en el medio y se incubaron a 37°C, y el tamaño se evaluó en diferentes momentos (0 h, 2 h, 4 h, 8 h, 24 h, 48 h y 72 h) utilizando la técnica de espectroscopía de correlación fotónica (instrumento Nano-ZS, Malvern, UK). Las nanocápsulas de PSA resultaron ser estables durante al menos 72 h (tamaño inicial: 156 +/- 2 nm; tamaño tras 72h: 157 +/- 3 nm).

En otro experimento, por ejemplo, se evaluó la estabilidad de las nanocápsulas de PSA (con y sin la IgG asociada) en plasma a 37°C midiendo el tamaño a diferentes tiempos (0 h, 1 h, 2 h, 4 h, 8 h, Y 24h). Las nanocápsulas de PSA resultaron ser estables durante al menos 24 h (tamaño inicial: 152 +/- 7 nm; tamaño tras 24h: 137 +/- 5 nm). Además, se observó que las nanocápsulas de PSA cargadas con IgG eran también estables durante al menos 24 h (tamaño inicial: 147 +/- 10 nm; tamaño tras 24 h: 143 +/- 17 nm).

Si bien se han descrito e ilustrado varias realizaciones de la presente invención, los expertos en la técnica apreciarán fácilmente una variedad de medios y/o estructuras alternativas para realizar las funciones y/u obtener los resultados y/o una o más de las ventajas descritas en la presente memoria, y cada una de dichas variaciones y/o modificaciones se considera que está dentro del alcance de la presente invención. Más generalmente, los expertos en la técnica apreciarán fácilmente que todos los parámetros, dimensiones, materiales y configuraciones descritos en la presente memoria se consideran

ilustrativos y que los parámetros, dimensiones, materiales y/o configuraciones reales dependerán de la aplicación o aplicaciones específicas para los cuales se usan las enseñanzas de la presente invención. Los expertos en la técnica reconocerán, o serán capaces de determinar, utilizando no más que la experimentación rutinaria, muchos equivalentes a las realizaciones específicas de la invención descritas en la presente memoria. Por lo tanto, debe entenderse que las realizaciones anteriores se presentan sólo a modo de ejemplo y que, dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas y equivalentes a las mismas, la invención se puede poner en práctica de maneras alternativas a las descritas y reivindicadas específicamente. La presente invención está referida a cada característica, sistema, artículo, material, kit y/o método individual descritos en la presente memoria. Además, cualquier combinación de dos o más de tales características, sistemas, artículos, materiales, kits y/o métodos, si tales características, sistemas, artículos, materiales, kits y/o métodos no son mutuamente inconsistentes, está incluida dentro del alcance de la presente invención.

En los casos en los que la presente memoria descriptiva y documentos incorporados por referencia incluyan información contradictoria y/o incoherente, la presente descripción prevalecerá. Si dos o más documentos incorporados por referencia incluyen información contradictoria y/o incoherente entre ellos, entonces el documento que tenga la fecha de vigencia posterior prevalecerá.

Todas las definiciones, tal como se definen y utilizan en el presente documento, deben entenderse que prevalecerán sobre definiciones de diccionario, definiciones de documentos incorporados por referencia y/o significados ordinarios de los términos definidos.

Los artículos indefinidos "un" y "una", tal como se usan aquí en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones, a menos que se indique claramente lo contrario, debe entenderse que significa "al menos uno".

La frase "y/o", tal como se usa aquí en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones, debe entenderse que significa "cualquiera o ambos" de los elementos así conectados, es decir, elementos que están presentes conjuntamente en algunos casos y disyuntivamente en otros casos. Los elementos múltiples enumerados con "y/o" deben interpretarse de la misma manera, es decir, "uno o más" de los elementos así conectados. Opcionalmente, pueden estar presentes otros elementos distintos de los elementos identificados específicamente por la cláusula "y/o", estén relacionados o no relacionados

con los elementos específicamente identificados. Por lo tanto, como ejemplo no limitativo, una referencia a "A y/o B", cuando se usa junto con un lenguaje abierto como "que comprende" puede referirse, en una realización, a A solamente (opcionalmente incluyendo elementos distintos de B); en otra realización, a B solamente (opcionalmente incluyendo
 5 elementos distintos de A); en otra realización más, tanto a A como B (opcionalmente incluyendo otros elementos); Etc.

Tal como se usa en el presente documento, en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones, "o" debe entenderse que tiene el mismo significado que "y/o" como se ha definido anteriormente. Por ejemplo, al separar los elementos de una lista, "o" o "y/o" se
 10 interpretarán como inclusivos, es decir, la inclusión de al menos uno, pero también más de uno, de un número o lista de elementos, y, opcionalmente, elementos no listados adicionales. Sólo los términos claramente indicados en sentido contrario, como "sólo uno de" o "exactamente uno de", o cuando se utiliza en las reivindicaciones, "que consiste en" se referirá a la inclusión de exactamente un elemento de un número o lista de elementos.
 15 En general, el término "o", tal como se usa aquí, sólo se interpretará como alternativa excluyente (es decir, "uno u otro, pero no ambos") cuando esté precedido por términos de exclusividad, como "cualquiera", "sólo uno de", o "exactamente uno de".

Como se usa en el presente documento, en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones, la frase "al menos uno", en referencia a una lista de uno o más elementos,
 20 debe entenderse que significa al menos un elemento seleccionado entre uno o más de los elementos de la lista de elementos, pero no necesariamente incluyendo al menos uno de cada uno de los elementos enumerados específicamente en la lista de elementos y sin excluir ninguna combinación de elementos en la lista de elementos. Esta definición también permite que los elementos estén opcionalmente presentes aparte de los elementos
 25 identificados específicamente dentro de la lista de elementos a los que se refiere la frase "al menos uno", estén relacionados o no relacionados con los elementos específicamente identificados. Por lo tanto, como ejemplo no limitativo, "al menos uno de A y B" (o, equivalentemente, "al menos uno de A o B" o, equivalentemente "al menos uno de A y/o B") puede referirse, en una realización, a al menos uno, incluyendo opcionalmente más de uno, A, sin B presente (y opcionalmente incluyendo elementos distintos de B); en otra
 30 realización, a al menos uno, incluyendo opcionalmente más de uno, B, sin A presente (y opcionalmente incluyendo elementos distintos de A); en otra realización más, a al menos

uno, incluyendo opcionalmente más de uno, A, y al menos uno, incluyendo opcionalmente más de uno, B (y opcionalmente incluyendo otros elementos), etc..

Cuando la palabra "aproximadamente" se utiliza aquí en referencia a un número, debe entenderse que todavía otra realización de la invención incluye ese número no
5 modificado por la presencia de la palabra "aproximadamente".

También debe entenderse que, a menos que se indique claramente lo contrario, en cualquier método reivindicado aquí que incluya más de una etapa o acción, el orden de las etapas o acciones del método no se limita necesariamente al orden en que se describen dichas etapas o acciones del método.

10 En las reivindicaciones, así como en la memoria descriptiva anterior, todas las frases de transición tales como "que comprende", "que incluye", "que lleva", "que tiene", "que contiene", "que implica", "que incorpora", "que está compuesto por", y similares se entiende que son de composición abierta, es decir, para significar que incluyen, pero sin limitarse a ellos. Sólo las frases de transición "que consistente en" y "que consistente
15 esencialmente en" serán frases de transición cerradas o semi-cerradas, respectivamente, tal como se establece en el Manual de la Oficina de Patentes de Estados Unidos de Procedimientos de Examen de Patentes, Sección 2111.03.

Reivindicaciones

1. Una composición que comprende:

una pluralidad de nanoentidades que comprenden una porción interna rodeada por una cubierta externa, la cubierta externa comprende ácido polisiálico, la porción interna comprende al menos un compuesto hidrofóbico.
2. La composición según la reivindicación 1, donde al menos algunas de las pluralidades de las nanoentidades además comprenden un grupo de direccionamiento, y/o un péptido facilitador de la penetración celular y/o un péptido facilitador de la penetración tumoral/tisular.
3. La composición según la reivindicación 2, donde el grupo de direccionamiento está unido al ácido polisiálico mediante un espaciador.
4. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2 o 3, donde el grupo de direccionamiento está unido al ácido polisiálico mediante un espaciador aminoalquil (C_1 - C_4) maleimida, aminoalquil (C_1 - C_4) metacrilamida, o directamente a través de un grupo amida.
5. La composición según la reivindicación 4, donde el espaciador aminoalquil (C_1 - C_4) maleimida se forma mediante una reacción de acoplamiento EDC/NHS ((hidrocloruro de 1-etil-3- (3-dimetilaminopropil) carbodiimida /N-hidroxisuccinimida) o una reacción de acoplamiento DMTMM (cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio).
6. La composición según la reivindicación 4, donde el grupo de direccionamiento está unido al ácido polisiálico mediante un espaciador aminoetilmaleimida.
7. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-6, donde el grupo de direccionamiento comprende un péptido o una proteína.

- 8 La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-6, donde el grupo de direccionamiento comprende un aptámero.
- 5 9. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-6, donde el grupo de direccionamiento comprende un ácido nucleico.
10. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-6, donde el grupo de direccionamiento comprende un anticuerpo o un fragmento del mismo.
- 10 11. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-6, donde el grupo de direccionamiento comprende un nanoanticuerpo, un unianticuerpo, un minianticuerpo, un dianticuerpo, un trianticuerpo, o un tetraanticuerpo.
- 15 12. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-6, donde el grupo de direccionamiento comprende una molécula orgánica.
13. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-6, donde el grupo de direccionamiento comprende un ligando.
- 20 14. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-6, donde el grupo de direccionamiento comprende un péptido facilitador de la penetración celular.
15. La composición según la reivindicación 14, donde el péptido facilitador de la penetración celular está químicamente unido al ácido polisiálico.
- 25 16. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-6, donde el grupo de direccionamiento comprende un péptido CendR.
17. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-6, donde el grupo de direccionamiento comprende una secuencia aminoacídica $Z^1X^1X^2Z^2$, donde Z^1 es R o K, Z^2 es R o K, y X^1 y X^2 son cada uno un residuo aminoácido.
- 30

18. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-6, donde el grupo de direccionamiento comprende una secuencia aminoacídica RGD.
19. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-6, donde el grupo de
5 direccionamiento comprende una secuencia aminoacídica NGR.
20. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-6, donde el grupo de direccionamiento comprende una secuencia aminoacídica $CJ^1Z^1X^1X^2Z^2$, donde J^1 es una secuencia de aminoácidos.
10
21. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-6, donde el grupo de direccionamiento comprende una secuencia aminoacídica J^1RGD , donde J^1 es una secuencia de aminoácidos.
- 15 22. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-6, donde el grupo de direccionamiento comprende una secuencia aminoacídica $J^1Z^1X^1X^2Z^2J^2$, en donde cada J^1 y J^2 es independientemente una secuencia de aminoácidos.
23. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-6, donde el grupo de
20 direccionamiento comprende una secuencia aminoacídica J^1RGDJ^2 , en donde cada J^1 y J^2 es independientemente una secuencia de aminoácidos.
24. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-6, donde el grupo de
25 direccionamiento comprende una secuencia aminoacídica $CJ^1Z^1X^1X^2Z^2J^2$, en donde cada J^1 y J^2 es independientemente una secuencia de aminoácidos.
25. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-6, donde el grupo de direccionamiento comprende Lyp-1.
- 30 26. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-6, donde el grupo de direccionamiento comprende tLyp-1.

27. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-6, donde el grupo de direccionamiento comprende cLyp1.
28. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-6, donde el grupo de
5 direccionamiento comprende iNGR.
29. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-6, donde el grupo de direccionamiento comprende iRGD.
- 10 30. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-6, donde el grupo de direccionamiento comprende RPARPAR.
31. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-6, donde el grupo de direccionamiento comprende TT1.
15
32. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-6, donde el grupo de direccionamiento comprende TT1 lineal.
33. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-6, donde el grupo de
20 direccionamiento comprende RGD-4C.
34. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-6, donde el grupo de direccionamiento comprende cRGD.
- 25 35. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-6, donde el grupo de direccionamiento comprende Cilengitide.
36. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-6, donde el grupo de direccionamiento se selecciona del grupo que consiste en Lyp1, tLyp1, cLyp1,
30 iNGR, iRGD, RPARPAR, TT1, TT1 lineal, RGD-4C, cRGD, Cilengitide, F3, 9-RGD, RGD4C, Delta 24-RGD, Delta 24-RGD4C, RGD-K5, RGD4C acíclico, RGD4C bicíclico, c(RGDfK), c(RGDyK), E-[c(RGDfK)2], E[c(RGDyK)]2, KLWVLPKGGGC, CDCRGDCFC, LABL, angiopeptin-2, anticuerpos,

nanoanticuerpos, unianticuerpos, minianticuerpos, dianticuerpos, trianticuerpos, tetranticuerpos, transferrina, proteínas con repeticiones de Ankirina (ankyrin repeat protein), *affibodies*, ácido fólico, trifenilfosfonio, ACUPA, PSMA, restos de carbohidratos y aptámeros.

5

37. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-36, donde la cubierta además comprende un agente promotor de la penetración.

10

38. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-37, donde al menos una parte del ácido polisiálico está unido a un grupo hidrófobo.

39. La composición según la reivindicación 38, donde el grupo hidrófobo se selecciona de un grupo alquilo, cicloalcanos, sales biliares y derivados, terpenoides, terpenos, restos derivados de terpenos y vitaminas liposolubles.

15

40. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 38 ó 39, donde el grupo hidrófobo comprende un grupo alquilo de cadena lineal.

20

41. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 38-40, donde el grupo hidrófobo comprende al menos 2 átomos de carbono.

42. La composición según la reivindicación 40, donde el grupo hidrófobo comprende al menos 3 átomos de carbono.

25

43. La composición según la reivindicación 40, donde el grupo hidrófobo comprende un grupo alquilo C₂-C₂₄ de cadena lineal.

44. La composición según la reivindicación 40, donde el grupo hidrófobo comprende un grupo alquilo C₁₂ de cadena lineal.

30

45. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-44, que además comprende una cadena de carbonos alifática unida covalentemente al ácido polisiálico.

46. La composición según la reivindicación 45, donde la cadena de carbonos alifática comprende una cadena de carbonos alifática C₂-C₂₄.
- 5 47. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-46, donde al menos aproximadamente el 90% en peso de la cubierta comprende ácido polisiálico.
48. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-47, donde al menos una pluralidad de nanoentidades son sustancialmente sólidas.
- 10 49. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-48, donde al menos alguna de la pluralidad de nanoentidades son nanocápsulas.
50. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-49, donde al menos una parte del ácido polisiálico comprende ácido N-acetilneuramínico.
- 15 51. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-50, donde al menos una parte del ácido polisiálico comprende ácido 2-ceto-3-desoxinónico.
- 20 52. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-51, donde al menos una parte del ácido polisiálico comprende ácido lactamínico.
53. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-52, donde al menos una parte del ácido polisiálico comprende ácido *N*-siálico.
- 25 54. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-53, donde al menos una parte del ácido polisiálico comprende ácido *O*-siálico.
55. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-54, donde al menos una parte del ácido polisiálico comprende al menos 2 unidades de ácido siálico.
- 30 56. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-55, donde al menos una parte del ácido polisiálico comprende al menos 4 unidades de ácido siálico.

57. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-56, donde al menos una parte del ácido polisiálico comprende al menos 8 unidades de ácido siálico.
- 5 58. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-57, donde al menos una parte del ácido polisiálico comprende unidades de ácido siálico unidos mediante una unión 2-->8.
59. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-58, donde al menos una
10 parte del ácido polisiálico comprende unidades de ácido siálico unidas mediante una unión 2-->9.
60. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-59, donde la porción
15 interna es no acuosa.
61. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-60, donde la porción
interna comprende un agente farmacéutico.
62. La composición según la reivindicación 61, donde el agente farmacéutico es
20 liposoluble.
63. La composición según la reivindicación 61, donde el agente farmacéutico es
anfifílico.
- 25 64. La composición según la reivindicación 61, donde el agente farmacéutico es
hidrosoluble.
65. La composición según la reivindicación 61, donde el agente farmacéutico es un
anticuerpo monoclonal.
- 30 66. La composición según la reivindicación 61, donde el agente farmacéutico es un
polinucleótido.

67. La composición según la reivindicación 61, donde el agente farmacéutico es docetaxel.
68. La composición según la reivindicación 61, donde el agente farmacéutico es un fármaco anticancerígeno.
69. La composición según la reivindicación 68, donde el agente farmacéutico se selecciona del grupo que consiste en docetaxel, gemcitabina, paclitaxel, cabazitaxel, tomudex, daunomicina, aclarubicina, bleomicina, dactinomicina, daunorrubicina, rapamicina, epirubicina, valrubicina, idarrubicina, mitomicina C, mitoxantrona, elesclomol, mebutato de ingenol, plicamicina, calicheamicina, esperamicina, degarelix, emtansina, maitansina, maitansinoide DM1, maitansinoida 2, maitansinoide DM4, mitomicina, auristatinas, vinorelbina, vinblastina, vincristina, vindesina, estramustina, derivados hidrofóbicos de cisplatino, clorambucilo, bendamustina, carmustina, amantadina, rimantadina, lomustina, semustina, amsacrina, ladribina, citarabina, (C₁₂-C₁₈)-gemcitabina, tegafur, trimetrexato, sagopilona, ixapebilona, patupilona, eribulin, camptotecina, aminoglutetimida, diaziquona, levamisol, metil-GAG, mitotano, mitozantrona, testolactona, michellamina B, briostatina-1, halomon, didemninas, plitidepsin, trabectedina, lurbinectedina, vorinostata, romidepsina, irinotecan, bortezomib, erlotinib, gefitinib, imatinib, vemurafenib, crizotinib, vismodegib, tretinoin, alitretinoin, bexaroteno, tacrolimus, everolimus, topotecan, tenipósido, etopósido, pralatrexato, omacetaxina, doxorubicina, dacarbazina, procarbazona, hidroxidaunorrubicina, hidroxiaurea, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, floxuridina o 5-fluorodeoxiuridina, fludarabina, 5-fluorouracilo, metotrexato, tiotepa, pentostatina, mecloretamina, pibobromano, ciclofosfamida, ifosfamida, busulfano, carboplatino, picoplatino, tetraplatino, satrapalino, platinum-DACH, ormaplatino, oxaplatino, melfalano, aminoglutetimida, trastuzumab, rituximab, gemtuzumab, alemtuzumab, ibritumomab, cetuximab, panitumumab, pertuzumab, tositumomab, bevacizumab, durvalumab, nivolumab, inotuzumab, avelumab, pembrolizumab, olaratumab, atezolizumab, daratumumab, elotuzumab, necitumumab, dinutuximab, blinatumomab, ramucirumab, obinutuzumab, denosumab, ipilimumab,

brentuximab, ofatumumab, Trastuzumab- emtansina y combinaciones de los mismos.

- 5 70. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-61, donde la cubierta comprende un agente farmacéutico.
71. La composición según la reivindicación 70, donde el agente farmacéutico de la cubierta es liposoluble.
- 10 72. La composición según la reivindicación 70, donde el agente farmacéutico de la cubierta es anfifílico.
73. La composición según la reivindicación 70, donde el agente farmacéutico de la cubierta es hidrosoluble.
- 15 74. La composición según la reivindicación 70, donde el agente farmacéutico de la cubierta es un anticuerpo monoclonal.
75. La composición según la reivindicación 70, donde el agente farmacéutico de la cubierta es un polinucleótido.
- 20 76. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-75, donde la pluralidad de nanoentidades tienen un diámetro medio de menos de 1 micrómetro.
- 25 77. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-76, donde la pluralidad de nanoentidades tienen un diámetro medio de menos de 250 nm.
78. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-77, donde la pluralidad de nanoentidades tienen un diámetro medio de 150 nm.
- 30 79. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 38-78, donde la nanoentidad es una micela.

80. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-79, con la condición de que la pluralidad de las nanoentidades no son liposomas.
- 5 81. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-80, con la condición de que la pluralidad de las nanoentidades no incluye protamina.
82. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-81, con la condición de que la pluralidad de las nanoentidades no incluye poliarginina.
- 10 83. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-82, donde la pluralidad de nanoentidades no comprende más de una cubierta externa.
84. Uso de una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-83 para la fabricación de un medicamento.
- 15 85. Un método que comprende administrar la composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-84 a un organismo vivo.
86. Un método que comprende:
 - 20 - hacer reaccionar un grupo carboxilato de un ácido polisiálico con un aminoalquil (C_1 - C_4) maleimida y/o un aminoalquil (C_1 - C_4) metacrilamida; y
 - hacer reaccionar la aminoalquil (C_1 - C_4) maleimida y/o la aminoalquil (C_1 - C_4) metacrilamida resultante con un grupo tiol de un grupo de direccionamiento para producir una composición ácido polisiálico-aminoalquil (C_1 - C_4) succinimida-
25 péptido y/o una composición ácido polisiálico-aminoalquil (C_1 - C_4) amidoisopropil-péptido.
87. El método según la reivindicación 86, que además comprende formar una emulsión que comprende la composición ácido polisiálico-aminoalquil (C_1 - C_4) succinimida-
30 péptido y/o la composición ácido polisiálico-aminoalquil (C_1 - C_4) amidoisopropil-péptido; y formar una pluralidad de nanopartículas a partir de la emulsión.

88. El método según la reivindicación 87, donde al menos una pluralidad de nanopartículas comprende una porción interna rodeada de una cubierta expuesta al exterior.
- 5 89. Un método que comprende:
- hacer reaccionar un grupo carboxilato de un ácido polisiálico con una N-hidroxisuccinimida y/o una carbodiimide para formar un intermedio; y
 - hacer reaccionar el intermedio con una lisina o arginina de un grupo de direccionamiento para producir ácido polisiálico-amida-péptido.
- 10 90. El método según la reivindicación 89, que además comprende formar una emulsión que comprende la composición ácido polisiálico-amida-péptido; y formar una pluralidad de nanopartículas a partir de la emulsión.
- 15 91. El método según la reivindicación 90, donde al menos una pluralidad de nanocápsulas comprende una porción interna rodeada de una cubierta expuesta al exterior.
92. Una composición que comprende:
- 20 una pluralidad de nanoentidades que comprende una porción interna rodeada por una cubierta externa, la cubierta externa que comprende ácido polisiálico, al menos algunas de las nanoentidades además comprende un anticuerpo monoclonal.
- 25 93. La composición según la reivindicación 92, donde el anticuerpo monoclonal está presente en la porción interna.
94. La composición según la reivindicación 92, donde el anticuerpo monoclonal está presente en la cubierta.
- 30 95. La composición según la reivindicación 92, donde al menos una pluralidad de nanoentidades además comprende uno o más tensioactivos.

96. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 92-95, donde al menos algunas de las pluralidades de las nanoentidades además comprende un grupo de direccionamiento, y/o un péptido facilitador de la penetración celular, y/o un péptido facilitador de la penetración tumoral/tisular.
- 5 97. La composición según la reivindicación 96, donde el grupo de direccionamiento está unido al ácido polisiálico mediante un espaciador.
- 10 98. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 96 o 97, donde el grupo de direccionamiento está unido al ácido polisiálico mediante un espaciador aminoalquil(C₁-C₄)succinimida, un aminoalquil(C₁-C₄) amido-iso-propilo, o directamente a través de un grupo amida.
- 15 99. La composición según la reivindicación 98, donde el espaciador aminoalquil(C₁-C₄)succinimida se crea mediante una reacción de acoplamiento EDC/NHS (hidrocloruro de 1-etil-3- (3-dimetilaminopropil) carbodiimida /N-hidroxysuccinimida).
- 20 100. La composición según la reivindicación 98, donde el grupo de direccionamiento está unido al ácido polisiálico mediante un espaciador aminoetilsuccinimida.
- 25 101. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 96-100, donde el grupo de direccionamiento comprende un péptido facilitador de la penetración celular.
- 30 102. La composición según la reivindicación 101, donde el péptido facilitador de la penetración celular está químicamente unido al ácido polisiálico.
103. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 96-100, donde el grupo de direccionamiento comprende una secuencia aminoacídica RGD.
104. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 96-100, donde el grupo de direccionamiento comprende una secuencia aminoacídica NGR.

105. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 96-100, donde el grupo de direccionamiento comprende Lyp-1.
- 5 106. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 96-100, donde el grupo de direccionamiento comprende tLyp-1.
107. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 96-100, donde el grupo de direccionamiento comprende cLyp1.
- 10 108. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 92-107, donde la cubierta además comprende un agente promotor de la penetración.
109. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 92-107, donde al menos una parte del ácido polisiálico está unido a un grupo hidrofóbico.
- 15 110. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 92-108, donde al menos aproximadamente el 93% en peso de la cubierta comprende ácido polisiálico.
111. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 92-110, donde al menos una parte de la pluralidad de las nanoentidades son nanocápsulas.
- 20 112. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 92-111, donde la pluralidad de las nanoentidades tienen un diámetro medio de menos de 1 micrómetro.
- 25 113. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 92-112, donde la pluralidad de las nanoentidades tiene un diámetro medio de menos de 250 nm.
114. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 92-113, donde la pluralidad de las nanoentidades tiene un diámetro medio de menos de 150 nm.
- 30 115. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 92-114, con la condición de que la pluralidad de las nanoentidades no son liposomas.

116. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 92-115, con la condición de que la pluralidad de nanoentidades no incluyen protamina.
- 5 117. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 92-116, con la condición de que la pluralidad de nanoentidades no incluye poliarginina.
118. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 92-117, donde la pluralidad de nanoentidades no comprende más de una cubierta externa.
- 10 119. Uso de la composición según cualquiera de las reivindicaciones 92-118 para la fabricación de un medicamento.
120. Un método que comprende administrar la composición según cualquiera de las reivindicaciones 92-118 a un organismo vivo.
- 15 121. Una composición que comprende:
una pluralidad de nanoentidades que comprende una porción interna rodeada por una cubierta externa, la cubierta consiste esencialmente en ácido polisiálico, la porción interna comprende al menos un compuesto hidrofóbico.
- 20 122. La composición según la reivindicación 121, donde la cubierta es al menos el 90% en peso de ácido polisiálico.
- 25 123. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 121 o 122, donde al menos una pluralidad de nanoentidades además comprende un tensioactivo situado entre la porción interna y la cubierta.
- 30 124. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 121-123, donde al menos una pluralidad de nanoentidades además comprende un grupo de direccionamiento que comprende un péptido facilitador de la penetración celular químicamente unido al ácido polisiálico.

125. La composición según la reivindicación 124, donde el grupo de direccionamiento comprende un péptido CendR.
126. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 124 o 125, donde el grupo de direccionamiento comprende tLyp-1.
127. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 124-126, donde el grupo de direccionamiento está unido al ácido polisiálico mediante un espaciador.
128. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 124-127, donde el grupo de direccionamiento está unido al ácido polisiálico mediante un espaciador aminoalquil (C₁-C₄) succinimida.
129. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 121-128, con la condición de que la pluralidad de nanoentidades no son liposomas.
130. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 121-129, con la condición de que la pluralidad de nanoentidades no incluye protamina.
131. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 121-130, con la condición de que la pluralidad de nanoentidades no incluye poliarginina.
132. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 121-131, con la condición de que la pluralidad de nanoentidades no comprende más de una cubierta externa.
133. Uso de una composición según cualquiera de las reivindicaciones 121-132 para la fabricación de un medicamento.
134. Un método que comprende administrar la composición según cualquiera de las reivindicaciones 121-133 a un organismo vivo.
135. Una composición que comprende:

una pluralidad de nanoentidades que comprende una porción interna rodeada de una cubierta, la cubierta comprende ácido polisiálico y un grupo de direccionamiento que comprende un péptido facilitador de la penetración celular químicamente unido al ácido polisiálico.

5

136. La composición según la reivindicación 135, con la condición de que la pluralidad de nanoentidades no son liposomas.

10

137. Uso de una composición según cualquiera de las reivindicaciones 135 o 136 para la fabricación de un medicamento.

138. Un método que comprende administrar la composición según cualquiera de las reivindicaciones 135 o 136 a un organismo vivo.

15

139. Una composición que comprende:

una pluralidad de nanocápsulas que comprende una porción interna rodeada por una cubierta, la cubierta comprende ácido polisiálico y un grupo de direccionamiento químicamente unido al ácido polisiálico, donde el grupo de direccionamiento comprende un péptido que tiene la secuencia $Z^1X^1X^2Z^2$ y/o una secuencia RGD y/o una secuencia NGR, donde Z^1 es R o K, Z^2 es R o K, y X^1 y X^2 son un residuo aminoácido.

20

140. La composición según la reivindicación 139, con la condición de que la pluralidad de las nanoentidades no son liposomas.

25

141. Uso de una composición según cualquiera de las reivindicaciones 139 o 140 para la fabricación de un medicamento.

30

142. Un método que comprende administrar la composición según cualquiera de las reivindicaciones 139 o 140 a un organismo vivo.

143. Una composición que comprende:

una pluralidad de nanoentidades, con un diámetro medio máximo de al menos 1 micrómetro, las entidades tienen una superficie que comprende ácido polisiálico y un grupo de direccionamiento, con la condición de que no son liposomas.

5

144. La composición según la reivindicación 143, donde al menos una pluralidad de nanoentidades son nanocápsulas.

10

145. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 143 o 144, donde al menos una pluralidad de nanoentidades son micelas.

146. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 143-145, donde el grupo de direccionamiento comprende un péptido facilitador de la penetración celular.

15

147. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 143-146, con la condición de que la pluralidad de entidades no son liposomas.

148. Uso de una composición según cualquiera de las reivindicaciones 143-147 para la fabricación de un medicamento.

20

149. Un método que comprende administrar la composición según cualquiera de las reivindicaciones 140-147 a un organismo vivo.

25

150. Un kit que comprende la composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-88, 92-118, 121-132, 135, 136, 139, 140, o 143-147.

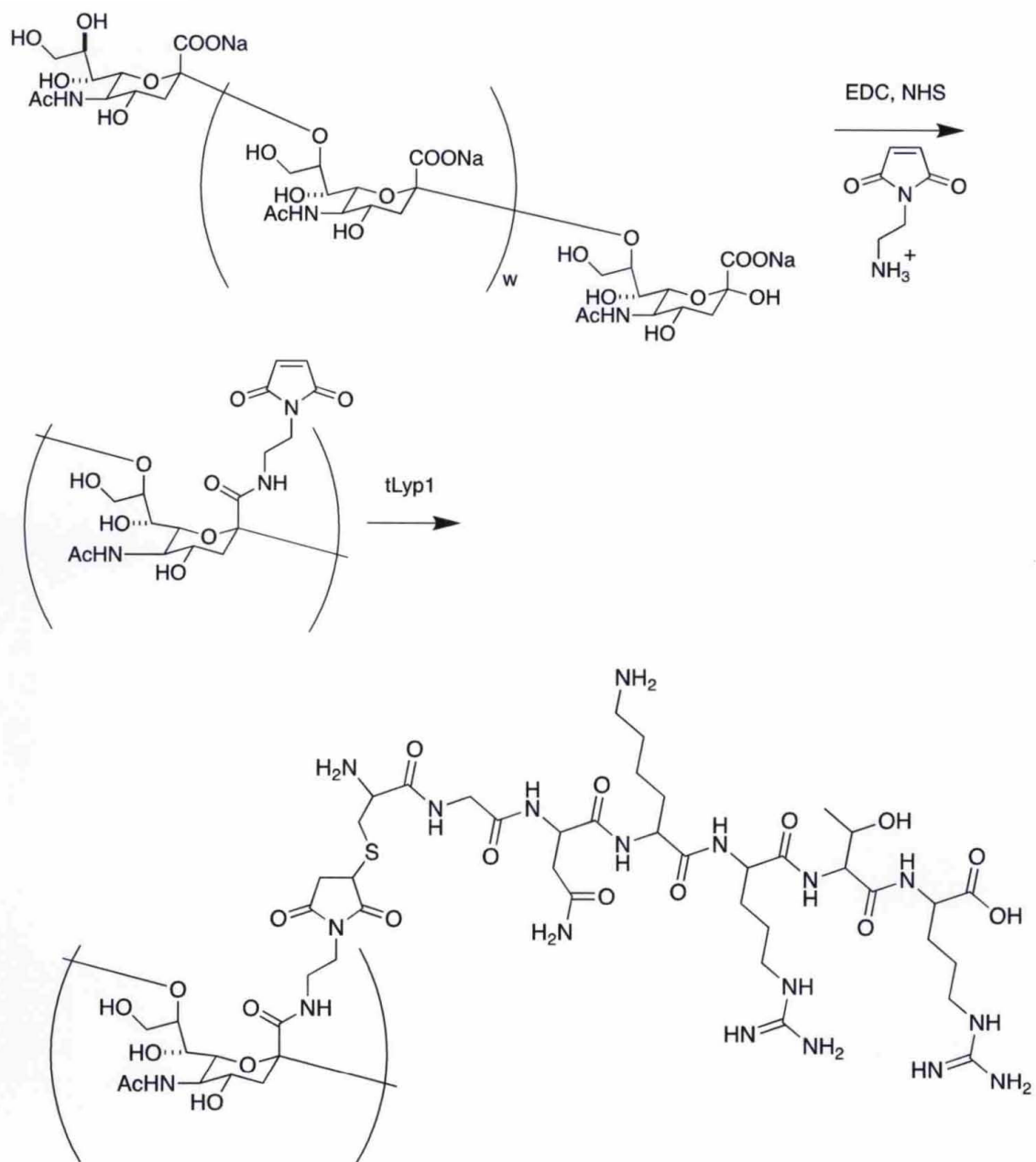


FIGURA 1

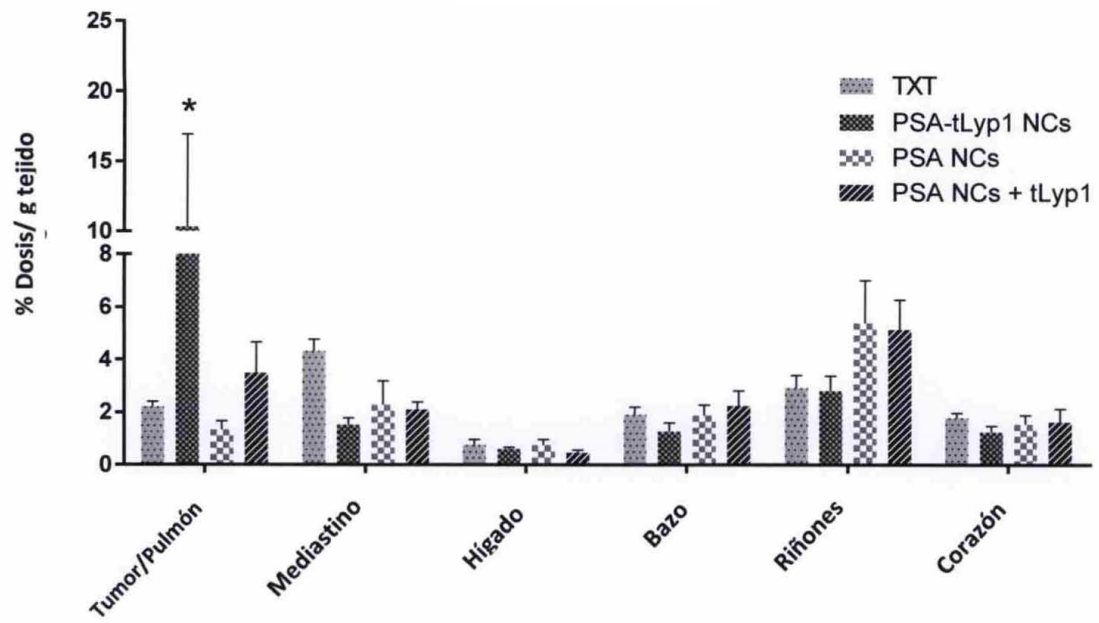


FIGURA 2A

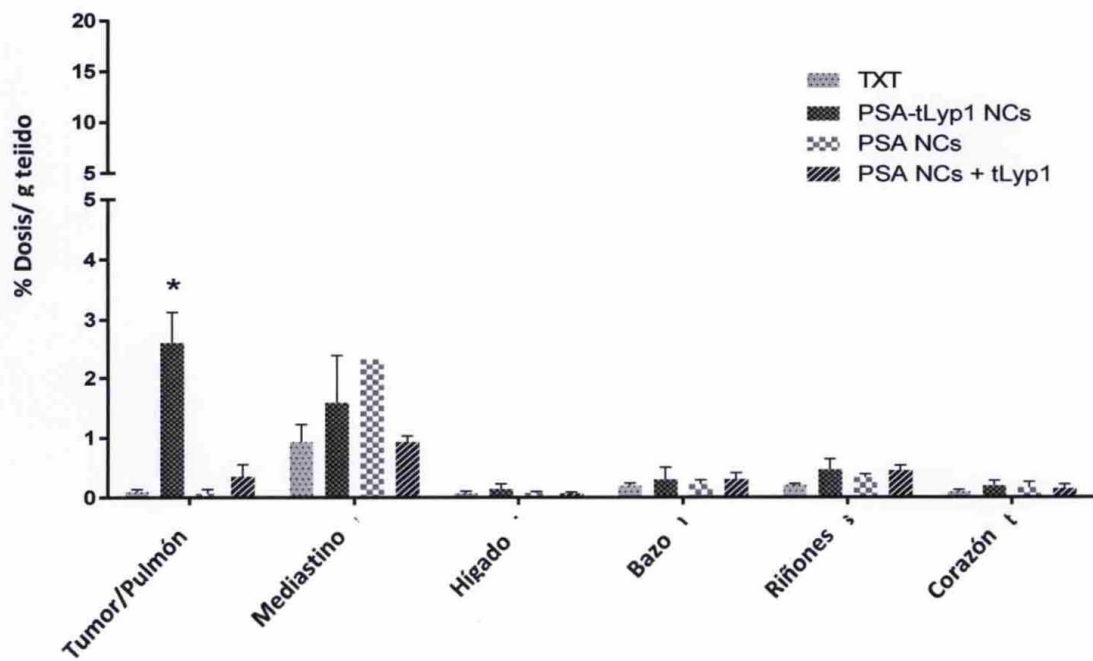


FIGURA 2B

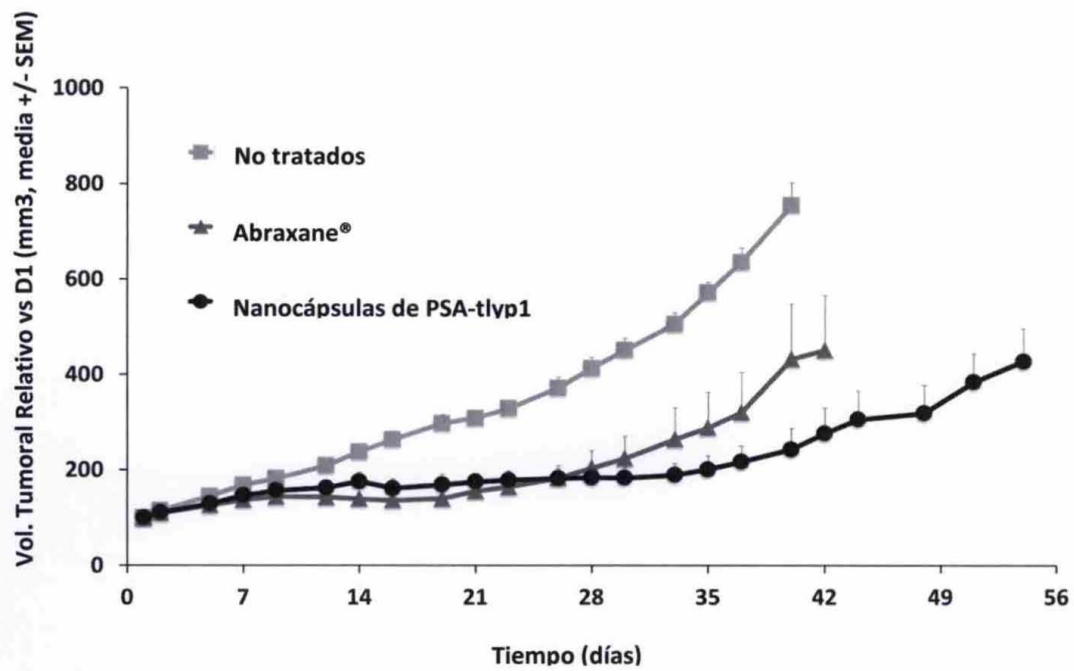


FIGURA 3

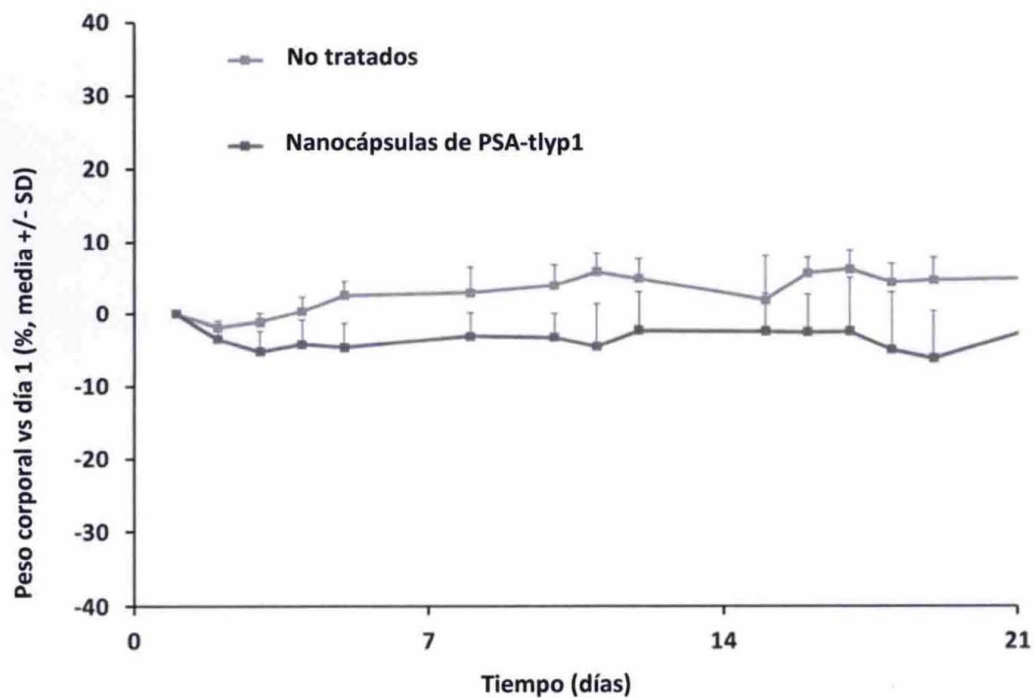


FIGURA 4

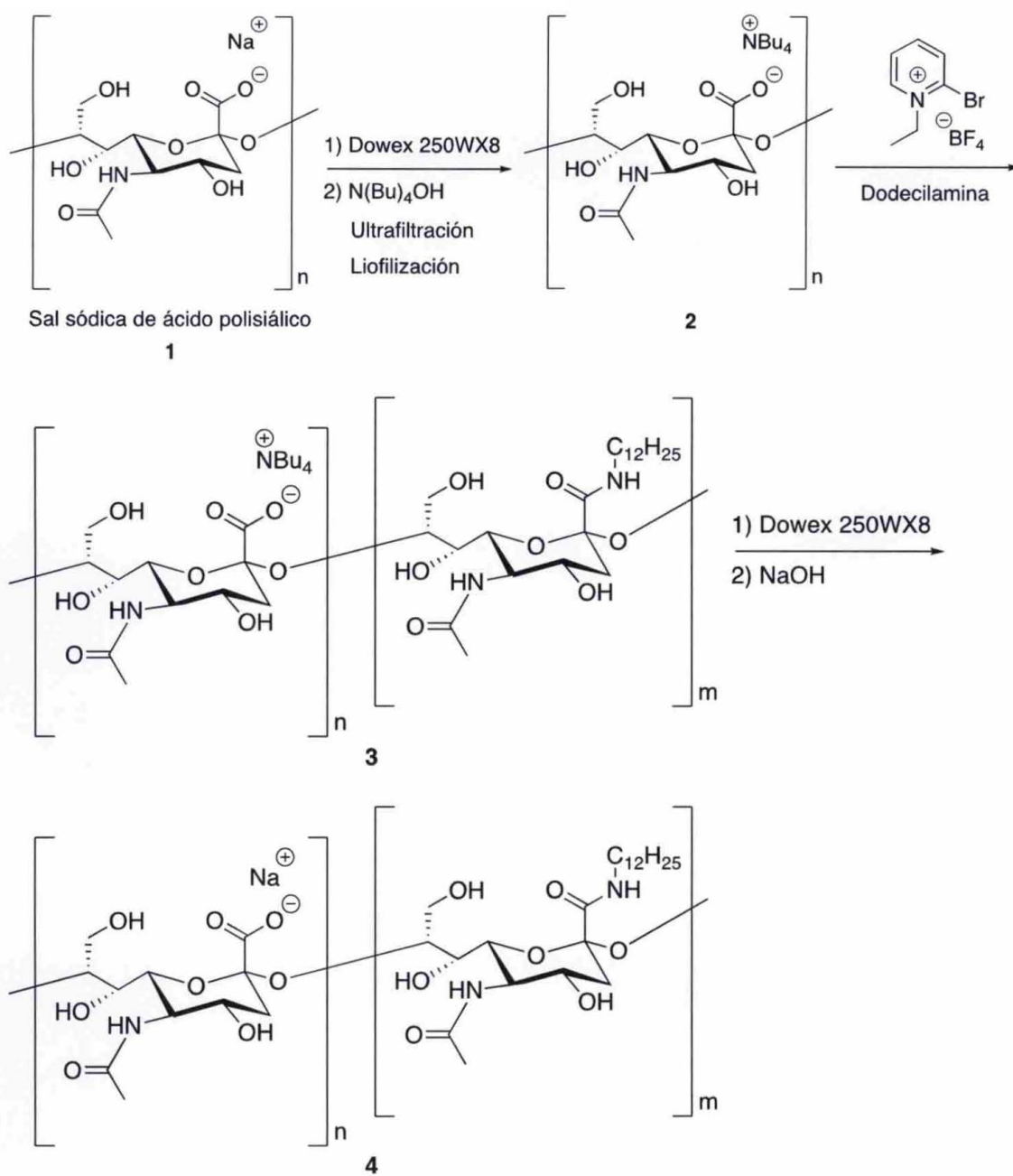


FIGURA 5

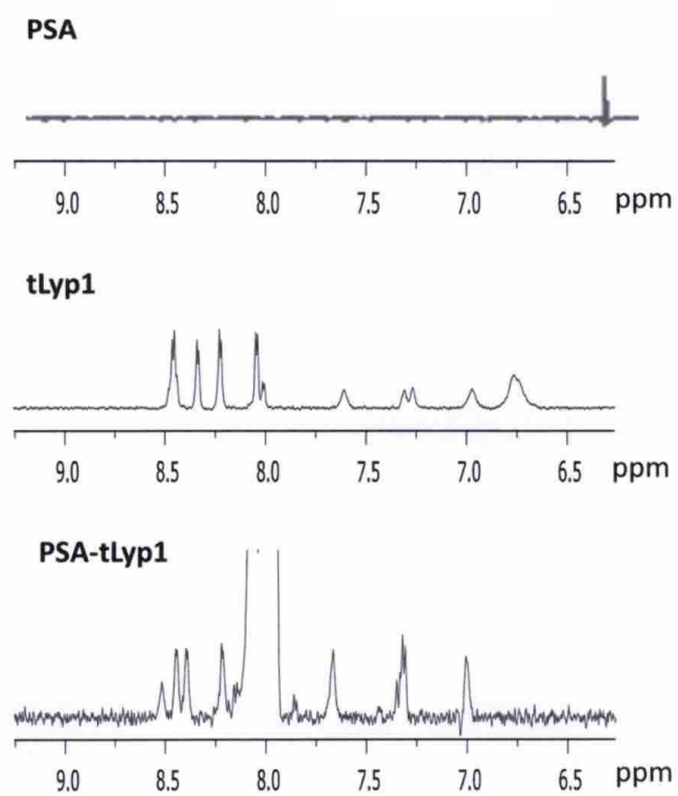


FIGURA 6



②① N.º solicitud: 201731277

②② Fecha de presentación de la solicitud: 02.11.2017

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	THWALA, L.N. et al. "The interaction of protamine nanocapsules with the intestinal epithelium: A mechanistic approach". JOURNAL OF CONTROLLED RELEASE, 10/12/2016, Vol. 243, páginas 109-120, <DOI: 10.1016/j.jconrel.2016.10.002>, todo el documento.	1, 2, 14, 47-50, 53, 58-62, 76-78, 80-84, 121-124, 143, 144, 147, 148, 150
Y		3-7, 16, 26, 36, 67-69, 87, 88, 125-133, 146
X	BADER, R.A. et al. "Polysialic acid-based micelles for encapsulation of hydrophobic drugs". BIOMACROMOLECULES, 10/01/2011, Vol. 12, páginas 314-320, <DOI: 10.1021/bm1008603>, todo el documento.	1, 47, 50, 53, 58-62, 76-78, 80-84, 121-123, 129-133, 150
Y		3-7, 16, 26, 36, 67-69, 87, 88, 125-133, 146
X	WO 2005016973 A1 (LIPOXEN TECHNOLOGIES LIMITED) 24/02/2005, todo el documento	86
Y		1-7, 14, 16, 26, 36, 67-69, 87, 88, 125-133, 146
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: 1-7, 14, 16, 26, 36, 47-50, 53, 58-62, 67-69, 76-78, 80-84, 86-88, 121-133, 143, 144, 146-148, 150		
Fecha de realización del informe 23.05.2018	Examinador M. Novoa Sanjurjo	Página 1/3



21 N.º solicitud: 201731277

22 Fecha de presentación de la solicitud: 02.11.2017

32 Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

51 Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	56 Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
Y	ROTH, L. et al. "Transtumoral targeting enabled by a novel neuropilin-binding peptide". ONCOGENE, 16/08/2012, Vol. 31, páginas 3754-3763, <DOI: 10.1038/onc.2011.537>, todo el documento.	1-7, 14, 16, 26, 36, 67-69, 87, 88, 125-133, 146
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: 1-7, 14, 16, 26, 36, 47-50, 53, 58-62, 67-69, 76-78, 80-84, 86-88, 121-133, 143, 144, 146-150		
Fecha de realización del informe 23.05.2018	Examinador M. Novoa Sanjurjo	Página 2/3

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

A61K9/51 (2006.01)

A61K9/62 (2006.01)

A61K47/36 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61K

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, REGISTRY, HCAPLUS, BIOSIS