

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 397 016**

21 Número de solicitud: 201090058

51 Int. Cl.:

A61K 9/51 (2006.01)

B82Y 5/00 (2011.01)

12

PATENTE DE INVENCION

B1

22 Fecha de presentación:

18.02.2008

43 Fecha de publicación de la solicitud:

04.03.2013

Fecha de la concesión:

10.01.2014

45 Fecha de publicación de la concesión:

17.01.2014

73 Titular/es:

**CSIR
SCIENTIA, MEIRING NAUDE ROAD
0040 PRETORIA ZA**

72 Inventor/es:

KALOMBO, Lonji

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

54 Título: **TRANSPORTADORES DE NANOPARTÍCULAS PARA ADMINISTRACIÓN DE FÁRMACOS Y PROCEDIMIENTO PARA PRODUCIR LAS MISMAS.**

57 Resumen:

La invención proporciona un procedimiento para la producción de transportadores de nanopartículas para administrar fármacos, en el que dichas nanopartículas se producen preparando una emulsión doble de agua-aceite-agua que incluye uno o más polímeros que forma la base del transportador de nanopartículas, mezclando el fármaco que se va a administrar en una de las fases de emulsión, dopando bien la fase de aceite o bien la fase de agua externa con un hidrato de carbono y secando la emulsión mediante pulverización para formar nanopartículas de una distribución reducida de tamaños de partículas, de 100 nm a 1.000 nm, siendo las nanopartículas esféricas.

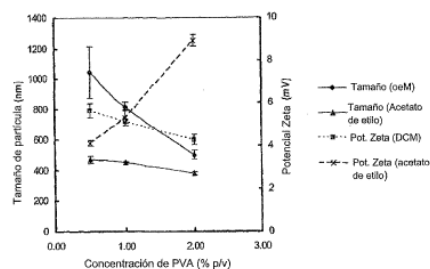


Figura 2. Tamaño y potencial zeta frente a la concentración de PVA para formulaciones en las que se usó lactosa sin Surfynol104 PG-50™ y PEG.

ES 2 397 016 B1

DESCRIPCIÓN

TRANSPORTADORES DE NANOPARTÍCULAS PARA ADMINISTRACIÓN DE FÁRMACOS Y PROCEDIMIENTO PARA PRODUCIR LAS MISMAS

Campo de la invención

5

La invención se refiere a transportadores de nanopartículas para la administración oral de compuestos médicamente activos y/u otros compuestos.

Antecedentes de la invención

10

La técnica de secado por pulverización ha encontrado una amplia aplicación en la preparación de polvos farmacéuticos, en la mayoría de los casos para liberación pulmonar de los fármacos, con características específicas tales como el tamaño de la partícula, la densidad y la forma. Es un procedimiento bien establecido para producir polvo sólido mediante la atomización de suspensiones o soluciones para dar gotas, seguido por un procedimiento de secado en flujo de aire caliente.

Aunque con frecuencia se considera un procedimiento de deshidratación, el secado por pulverización también puede usarse como procedimiento de encapsulación, en el que las sustancias activas quedan atrapadas en una matriz o cubierta polimérica. Se ha informado que varios sistemas coloidales, tales como emulsiones o liposomas, se secaron por pulverización con éxito, con la conservación de su estructura usando agentes auxiliares del secado, particularmente azúcares tales como lactosa, sorbitol y

trehalosa.

Uno de los méritos de la técnica de secado por pulverización es que es un procedimiento de secado rápido y rentable aplicable a una amplia gama de
5 productos farmacéuticos y que conduce a la producción de un polvo que fluye libremente, que se caracteriza por un contenido de agua muy bajo, que, por tanto, impide la degradación del ingrediente activo. Esto es significativo para el desarrollo de transportadores estables a largo plazo, principalmente cuando estos transportadores están en el intervalo de la nanoescala, diseñados
10 específicamente para la liberación de compuestos activos en el punto de interés.

Recientemente se ha mostrado que la técnica de secado por pulverización puede producir partículas sólidas a nanoescala y nanopartículas lipídicas sólidas cargadas con agentes activos que se van a usar como
15 sistemas de administración para las vías aéreas pulmonares. Cabe mencionar que en la mayoría de los casos en los que esta técnica se aplicó para producir nanopartículas sólidas fue, de hecho, un procedimiento de secado de nanocápsulas obtenido mediante otras técnicas. Después, la suspensión de las nanopartículas se sometió a secado por pulverización. Esto a menudo tuvo
20 como resultado la producción de partículas con un intervalo de tamaños muy amplio desde el tamaño nano al micro, a pesar de la presencia de disacáridos como excipientes de secado en la formulación.

Recientemente se informó del secado por pulverización de un sistema
25 coloidal líquido en el campo de la administración de fármacos, en el que una

emulsión sencilla (emulsión de agua en aceite) que contiene ADN encapsulado en ácido poli(láctico-co-glicólico (PLGA), se secó por pulverización, de forma satisfactoria. Se realizó otro informe sobre el secado por pulverización de una emulsión doble (aceite en agua en aceite o A/A/A), en presencia de lactosa,
5 con el objetivo de conservar aceite de naranja y, en ambos casos, las partículas producidas estaban en el intervalo de tamaño de micrómetros.

Se ha identificado la necesidad de nanopartículas esféricas con un pequeño intervalo de distribución del tamaño, normalmente de 180 a 250 nm.
10 Idealmente, dichas partículas deberían tener una superficie sustancialmente lisa y de flujo libre.

Sumario de la invención

La invención proporciona un procedimiento para la producción de
15 transportadores de nanopartículas para administrar fármacos, en el que dichas nanopartículas se producen mediante:

- preparación de una emulsión doble de agua-aceite-agua, que incluye uno o más polímeros que forma la base del transportador
20 de nanopartículas;
- mezcla del fármaco que se va a administrar en una o más de las fases de emulsión;
- dopaje de la fase de aceite o de la fase de agua externa con un hidrato de carbono; y

- secar mediante pulverización la emulsión para formar nanopartículas de una pequeña distribución de tamaños de partículas de 100 nm a 1000 nm.

5 Las nanopartículas producidas de este modo pueden ser nanopartículas multifuncionales.

El hidrato de carbono puede ser un sacárido.

El sacárido puede ser un disacárido.

El disacárido puede ser lactosa, maltosa, isomaltosa, manobiosa,
10 trehalosa, celobiosa o similar.

El sacárido se puede combinar con un polisacárido mucoadhesivo catiónico biodegradable.

El polisacárido puede ser chitosán o derivados del mismo.

La fase de aceite de la emulsión se puede dopar con un tensioactivo.

15 La fase de agua de la emulsión se puede dopar con un tensioactivo.

El tensioactivo puede ser un tensioactivo no iónico.

El tensioactivo puede basarse en la química de diol acetilénico.

El tensioactivo puede ser un tensioactivo no iónico polimérico.

El tensioactivo no iónico polimérico en la fase de agua puede ser alcohol
20 polivinílico (PVA), parcialmente hidrolizado.

El polímero puede estar en la fase de aceite de la emulsión.

El polímero en la fase de aceite puede ser PLGA (ácido poli(láctico-co-glicólico)).

Pueden estar presentes polímeros de fase aceite y de fase agua.

25 El fármaco se puede añadir a la fase de aceite.

El fármaco puede ser un fármaco hidrófilo que se añade a la fase de agua interna.

El fármaco puede ser hidrófobo y, opcionalmente, se puede añadir a la fase de aceite.

5 El fármaco puede ser rifampicina, isoniazida, etambutol o pirazinamida.

La fase de agua externa de la emulsión puede incluir polietilenglicol (PEG).

La fase de aceite puede incluir ácido esteárico.

Las nanopartículas formadas de este modo pueden ser esféricas.

10 La distribución del tamaño de partícula de las nanopartículas puede ser de 180 nm a 250 nm de diámetro.

La descripción de las formas de realización siguientes deberá interpretarse ampliamente y no para limitar el alcance de la invención.

15 DESCRIPCIÓN ESPECÍFICA DE FORMAS DE REALIZACIÓN DE LA INVENCION

1. Objeto del experimento

20 Para este experimento, antibióticos antituberculosis, incluidos isoniazida (INH), etambutol (ETH), pirazinamida (PZA) y rifampicina, se han cargado satisfactoriamente en nanopartículas con núcleo-cubierta polimérica de poli DL, ácido láctico-co-glicólico (PLGA 50:50), un polímero biodegradable y biocompatible, ampliamente usado como transportador. Partículas sólidas
25 submicrométricas de PLGA que incorpora INH (o Eth o PZA o RIF) se han

obtenido mediante secado por pulverización directa de una emulsión doble típica de agua aceite agua (A/A/A).

En la formulación se empleó chitosán, un polisacárido catiónico biodegradable mucoadhesivo, como potenciador de la absorción, mientras que como auxiliar del secado por pulverización se usó lactosa monohidrato. El PVA se consideró como el principal componente estabilizador de la emulsión doble, mientras que se incorporó PEG para incrementar la biocirculación del transportador.

10

Surfynol 104 PG-50TM, como tensioactivo, desempeñó un gran papel en la disminución del tamaño hacia el intervalo de tamaño nano al tiempo que disminuye significativamente la distribución de tamaños.

15 **2. Materiales y procedimientos**

2.1 Materiales

Los fármacos de primera línea contra la tuberculosis se adquirieron en Sigma. Ácido poli, DL, láctico-co-glicólico (PLGA) 50:50 (PM: 45000-75000) y chitosán de bajo PM, desacilado al 85%, fueron suministrados por Sigma. El alcohol polivinílico (PVA) (PM: 13000-23000 y parcialmente hidrolizado (87-89%) también se obtuvieron en Sigma. Ácido esteárico fue suministrado por Merck, Surfynol 104 PG-50 TM, un tensioactivo de tipo diol Gemini, fue suministrado por Air Products. Polietilenglicol (PEG) (PM 9000) se adquirió en

25

BASF Chemicals. Como excipiente se usó lactosa monohidrato suministrada por Merck.

El diclorometano, el acetato de etilo y el acetonitrilo de calidad analítica y
5 de HPLC también fueron suministrados por Merck.

2.2 Procedimientos

2.2.1 Formulación

10

La preparación de nanopartículas se alcanzó mediante el procedimiento basado en la precipitación polimérica interfacial a partir de una emulsión doble de A/A/A posterior a la evaporación del disolvente orgánico. En la presente invención, la etapa de evaporación y secado del disolvente se combinó en una
15 etapa aplicando la técnica de secado por pulverización.

Brevemente, 50 mg de INH se disolvieron en 2 ml de solución de tampón fosfato (pH 7,4), que se añadió a una solución de 100 mg de PLGA (50:50) disueltos en 8 ml del disolvente orgánico (DCM o acetato de etilo). 2 ml
20 opcionales de ácido esteárico al 0,2% (p/v) también se pueden disolver en el mismo disolvente (DCM o acetato de etilo). Intencionadamente se añadió una gota de Surfynol104 PG-50 TM, bien a la fase de aceite de PLGA o bien a la fase acuosa externa que contiene PVA.

25 La mezcla se sometió a emulsificación usando el homogeneizador de

alta velocidad (Silverson L4R) a 5000 rpm durante 3 minutos para producir una emulsión de A/A. La primera emulsión obtenida se vertió inmediatamente después en un volumen en fase acuosa de una concentración conocida de solución acuosa de PVA (1 ó 2% p/v), PEG 0,5% p/v, chitosán y lactosa en una

5 proporción en volumen definida y se emulsionó para formar la emulsión doble de A/A/A de nuevo por medio del homogeneizador de alta velocidad (Silverson L4R) a 8.000 rpm durante 5 minutos. La emulsión final obtenida se alimentó directamente a través de un secador por pulverización para producir nanopartículas usando las condiciones especificadas en la Tabla 1.

10

Secado por pulverización

Para producir los polvos secos de las diversas formulaciones se usó un secador por pulverización Büchi mini, modelo B-290 (Büchi Lab, Suiza) con una

15 boquilla estándar (diámetro de 0,7 mm). Las condiciones usadas se recopilan en la Tabla 1:

Tabla 1 Condición del procedimiento de secado por pulverización del Secador por pulverización Büchi Mini B-290

Condición	Parámetro
Caudal volumétrico de atomización	
de aire	800 NL/h
Velocidad de alimentación	1,0 ml/min
Tasa del aspirador	100 %
Temperatura de entrada (salida)	90 - 110 °C (53 - 63 °C)

Presión para atomización

6 - 7 bares

El secador por pulverización estaba equipado con un ciclón de alto rendimiento, diseñado para obtener una recuperación excelente del material en el vaso receptor y reducir la adhesión del producto en la pared de la cámara de
5 secado.

2.2.2 Tamaño de partícula y distribución del tamaño

El tamaño de partícula y las distribuciones del tamaño de partícula se
10 midieron mediante Dispersión de láser dinámico o Espectroscopia de correlación de fotones usando un Malvern Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd, Reino Unido). Para cada muestra se prepararon 3-5 mg de polvo secado por pulverización mediante suspensión de las partículas en agua filtrada (filtro de 0,2 μm), agitación en vórtex y/o sonicación durante 2 minutos,
15 en caso necesario. Cada muestra se midió por triplicado.

2.2.3 Potencial zeta

El potencial zeta de las partículas se midió usando el Zetasizer Nano ZS
20 (Malvern Instruments Ltd, Reino Unido). Para ello, una muestra de 3 mg de las nanopartículas secadas por pulverización se suspendió en 1-2 ml de agua desionizada y después se sometió a agitación en vórtex o sonicación antes de la medición. Cada medición se realizó por triplicado.

2.2.4 Microscopia electrónica de barrido

La morfología superficial de las nanopartículas secadas por pulverización se visualizó mediante microscopia electrónica de barrido (LEO
5 1525 Field Emission SEM.). Una pequeña cantidad de polvo de nanopartículas se montó en un porta de latón usando una cinta adhesiva por ambas caras y revestida al vacío con una capa fina de oro mediante bombardeo iónico.

2.2.5 Incorporación del fármaco

10

La cantidad del fármaco hidrófilo isoniazida atrapado en el polvo de partículas tras el procedimiento de nanoencapsulación se midió por triplicado usando un procedimiento espectrofotométrico (UV-Vis, Thermo Spectronic Helios α). La eficiencia de encapsulación de INH en nanopartículas se
15 determinó como la proporción en masa de INH encapsulada y la cantidad teórica de INH usada en la preparación. Para ello, 50 mg de las partículas precipitadas se resuspendieron en 20 ml de agua desionizada, se centrifugaron (10.000 rpm/10C/5 min) para eliminar el fármaco no encapsulado y el sobrenadante se sometió a espectrofotómetro UV-VIS, se leyó a $\lambda = 262$ nm
20 para la evaluación de INH. La cantidad encapsulada de INH se determinó restando la INH en el sobrenadante de la cantidad inicial total de INH.

25 Evaluación de la estabilidad de INH usando HPLC

La estabilidad de los polvos de INH secados por pulverización se evaluó mediante análisis- cromatografía de líquidos de alto rendimiento y fase inversa (RP-HPLC)- usando la máquina Shimadzu suministrada con detector de matriz
5 de fotodiodos (PDA).

Se aplicaron las características siguientes: una columna Phenomenex [(C18 (5 μ m); (250 x 4,6mm DI)], una fase móvil de 5% (v/v) de acetonitrilo con 95% (v/v) de tampón NaH₂PO₄ (pH 6,8), a un caudal de 1 ml/min y a una
10 temperatura de 30 °C. La detección se realizó usando PDA a λ = 259 nm, en un volumen de inyección total de 20 μ l.

3. Resultados y discusión

15 Todos los ciclos de secado por pulverización produjeron nanopartículas con un tamaño que varía de aproximadamente 220 a 800 nm. La concentración del alimento líquido no mostró ninguna influencia sobre el tamaño de las partículas, tal como se ilustra con las muestras en las que la concentración de PVA se cambió de 1 a 2%. Sólo la adición de lactosa y Surfynol 104 PG-50 TM
20 demostró un impacto significativo sobre el tamaño y la morfología de las nanopartículas. Es interesante el hecho de que sólo una gota del tensioactivo Gemini añadido a la fase oleosa reducía espectacularmente el tamaño y la distribución del tamaño del producto, con independencia del tipo de disolvente orgánico o de la concentración de PVA.

25

Durante todos estos lotes de experimentos, además de la temperatura todos los demás parámetros del secador por pulverización se mantuvieron constantes. La proporción en masa de PLGA: INH (2:1) tampoco se cambió. La adición de lactosa mejoró de forma significativa la forma de las nanopartículas.

5 Este efecto fue más pronunciado cuando se usó diclorometano como disolvente orgánico.

Los rendimientos del polvo para todas las formulaciones investigadas se encontraban en el intervalo de 40-70%.

El contenido en agua residual de muestras seleccionadas, determinado

10 mediante análisis térmico, mostró un nivel muy bajo de humedad ((~3%).

Los resultados obtenidos de la HPLC indicaron la degradación de INH, posiblemente debido a la interacción con lactosa. Este reto se superó protegiendo los grupos funcionales de lactosa con chitosán antes de su incorporación en la formulación.

15 La eficiencia de la encapsulación de INH es de aproximadamente 60%.

3.1 Efecto del disolvente sobre el tamaño y la morfología de las partículas

Los disolventes orgánicos más comunes en la técnica de la emulsión

20 doble son diclorometano (DCM) y acetato de etilo (EA).-{}-

Por tanto, los inventores decidieron monitorizar el tamaño y la morfología de las nanopartículas variando el disolvente orgánico. En todos los casos, cuando se usó acetato de etilo como disolvente orgánico, la primera emulsión obtenida presentó un aspecto de emulsión estable transitoria, basándose esta

25 observación en el aspecto menos lechoso de la emulsión cuando se comparó

con la obtenida con DCM.

Las muestras con EA produjeron una morfología de superficie muy irregular en comparación con las muestras con DCM. Las partículas de EA presentaban concavidades y arrugas antes de la adición de lactosa. También
5 se observaron partículas con forma de toroide.

3.2 Efecto de los aditivos

3.2.1 Efecto de la lactosa sobre el tamaño y la morfología de las partículas

10

La composición de las fases afectó fuertemente al tamaño y la forma, así como a la morfología, de la superficie de las nanopartículas. Dado que la concentración inicial de lactosa se incrementó del 5 al 10% p/v, las partículas pasaron de esferas muy arrugadas a casi lisas. La fracción de partículas con
15 forma de toroide disminuyó sensiblemente, con independencia del tipo de disolvente usado, tal como se representa en las imágenes de SEM de las figuras 1C y D. No obstante, se han observado superficies mucho más lisas con DCM en la escala de observación.

20

El tamaño de partícula disminuyó en comparación con las formulaciones sin adición de lactosa, con independencia del tipo de disolvente orgánico usado. El descenso fue mucho más pronunciado en el caso del DCM, tal como ilustran los resultados presentados en la Figura 2: el tamaño medio z de las partículas disminuyó de más de 1200 nm a 450 nm cuando se añadió lactosa a
25 la formulación.

Los potenciales zeta estaban en el intervalo positivo por la presencia de chitosán en la formulación. Su concentración inicial se varió entre 0,05, 0,1 y 0,3· (p/v) y la optimización de la formulación se realizó con chitosán al 0,3%, lo
5 que tuvo como resultado un potencial zeta positivo alto ~ +45 mV.

3.2.2 Efecto de Surfynol 104 PG-50TM sobre el tamaño y el rendimiento de partículas

10 Los tensioactivos no iónicos, basados en la química de diol acetilénico, representan una clase única de tensioactivos que proporcionan una baja tensión superficial y buenas características de des-espumamiento y de humectación superficial.

15 Al contrario que la mayoría de los tensioactivos que se orientan verticalmente en la interfaz agua/aire, los tensioactivos de diol acetilénico se orientan horizontalmente debido a su estructura molecular. Una molécula compacta de este tensioactivo puede migrar con mucha rapidez a la región interfacial y proporcionar valores bajos de tensión superficial dinámica (TSD).
20 Se ha informado de que para una concentración en masa de Surfynol 104 PG-50TM de $2 \cdot 10^{-6}$ mol cm^{-3} , la TSD descendió alrededor de 35 dinas. cm^{-1} .

De hecho, es esta propiedad específica de disminuir significativamente la tensión superficial lo que motivó a los inventores a seleccionarlo como co-tensioactivo en sus formulaciones.

25 Surfynol 104 PG-50TM se añadió a la fase de aceite interna antes de la

introducción de la fase acuosa de fármaco. El producto obtenido se caracterizó por un tamaño de partícula muy pequeño de 230 nm y los resultados experimentales fueron reproducibles.

La distribución del tamaño fue igualmente muy pequeña (índice de polidispersidad (IPD) $\sim 0,1$) debido, posiblemente, a la capacidad de Surfynol 104 PG-50™ para evitar la agregación.

3.2.3 Efecto de PEG y ácido esteárico sobre la morfología

10 Está bien establecido que el polietilenglicol (PEG) se usa ampliamente en las estrategias de administración de fármaco con el fin de generar entidades que los macrófagos reconozcan con mucha menor facilidad y, por tanto, que exhiban tiempos de circulación en sangre prolongados. A nivel biológico, el recubrimiento de nanopartículas con PEG impide estéricamente las
15 interacciones de los componentes de la sangre con su superficie y reduce la unión de las proteínas plasmáticas con las nanopartículas PEGiladas. Esto impide la interacción del transportador del fármaco con las opsoninas y retrasa su captura por los sistemas reticuloendoteliales (SRE).

El PEG se introdujo junto con PVA en la fase externa a una
20 concentración inicial de 0,5% p/v, disuelto en agua desionizada.

Dado que los inventores combinan la presencia de 5 ml de PEG (0,5% p/v) en la fase acuosa externa y 2 ml de ácido esteárico (0,2% p/v) añadidos en la fase oleosa del polímero, como co-tensioactivo junto con Surfynol 104 PG-50™, se observó una mejora significativa de la morfología de la superficie,
25 como se representa en la figura 3. La lectura en Zetasizer proporcionó tamaños

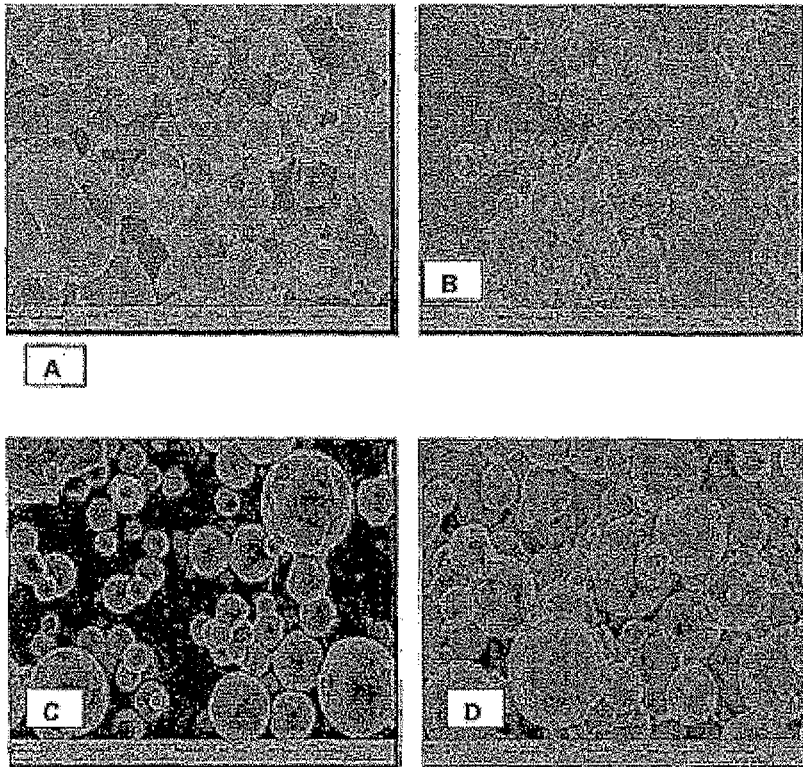
de partícula más pequeños de aproximadamente 270 nm con una distribución muy pequeña (PDI ~ 0,2).

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para la producción de transportadores de nanopartículas para la administración de fármacos, en el que dichas nanopartículas se producen mediante:
 - 5 - preparación de una emulsión doble de agua-aceite-agua, que incluye uno o más polímeros que forma la base del transportador de nanopartículas;
 - mezcla del fármaco que se va a administrar en una de las fases de emulsión;
 - 10 - dopaje de la fase de aceite o de la fase de agua externa con un hidrato de carbono;
 - dopaje de la fase de aceite o de la fase de agua con un tensioactivo; y
 - secar mediante pulverización la emulsión para formar nanopartículas de una pequeña distribución de tamaños de partículas de 100 nm a 1000
15 nm.
2. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que las nanopartículas producidas de este modo son nanopartículas multifuncionales.
3. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación
20 2, en el que el hidrato de carbono es un sacárido.
4. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 3, en el que el sacárido es un disacárido.
5. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 4, en el que el
disacárido se selecciona del grupo que incluye lactosa, mactosa,
25 isomaltosa, manobiosa, trehalosa y celobiosa.

6. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 5, en el que el sacárido se combina con un polisacárido mucoadhesivo catiónico biodegradable.
7. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 6, en el que el
5 polisacárido es chitosán y/o derivados del mismo.
8. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el tensioactivo es un tensioactivo no iónico.
9. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, en el que el tensioactivo está basado en la química del diol acetilénico.
10. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el
10 tensioactivo es un tensioactivo polimérico no iónico.
11. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 10, en el que el tensioactivo polimérico no iónico en la fase de agua es PVA.
12. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones
15 precedentes, en el que un polímero está presente en la fase de aceite de la emulsión.
13. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 12, en el que el polímero en la fase de aceite es PLGA (ácido poli(láctico-co-glicólico)).
14. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones
20 precedentes, en el que los polímeros están presentes en la fase de aceite y la fase de agua.
15. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el fármaco se añade a la fase de aceite.
16. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 15, en el que el
25 fármaco es un fármaco hidrófilo que se añade a la fase de agua interna.

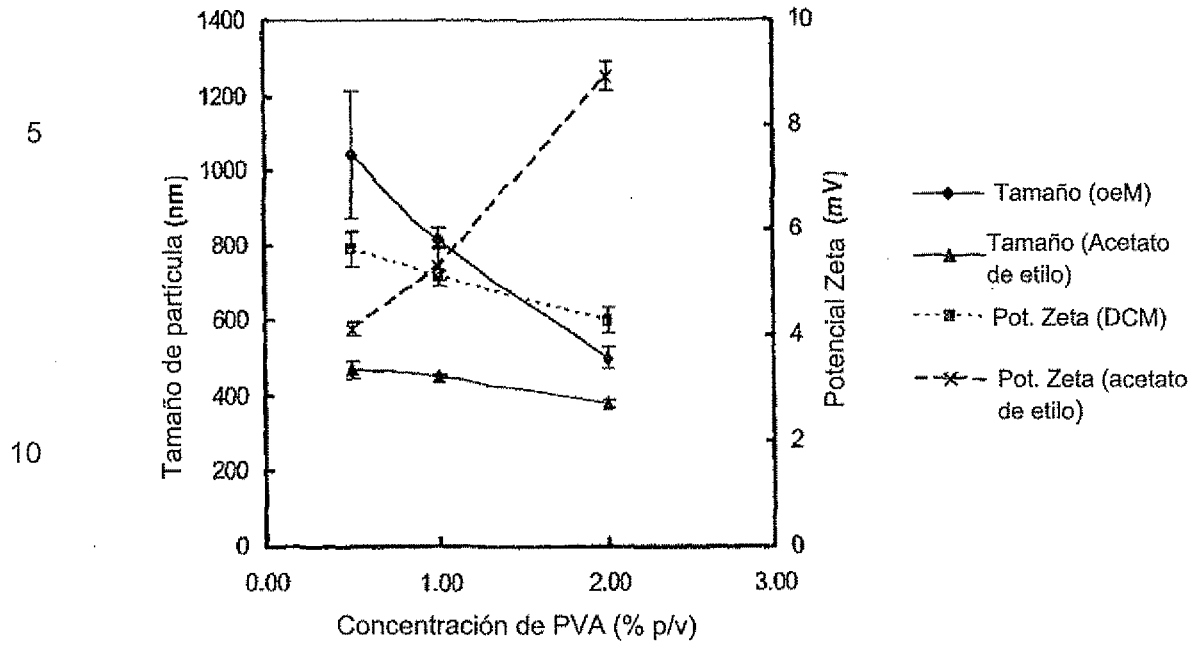
17. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 15 o la reivindicación 16, en el que fármaco es hidrófobo.
18. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el fármaco se selecciona de rifampicina, isoniazida, etambutol o pirazinamida.
- 5
19. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la fase de agua externa de la emulsión incluye polietilenglicol (PEG).
20. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la fase de aceite incluye ácido esteárico.
- 10
21. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que las nanopartículas formadas de este modo son esféricas.
22. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 21, en el que la distribución de tamaños de partícula de las nanopartículas es de 180 nm a 250 nm de diámetro.
- 15



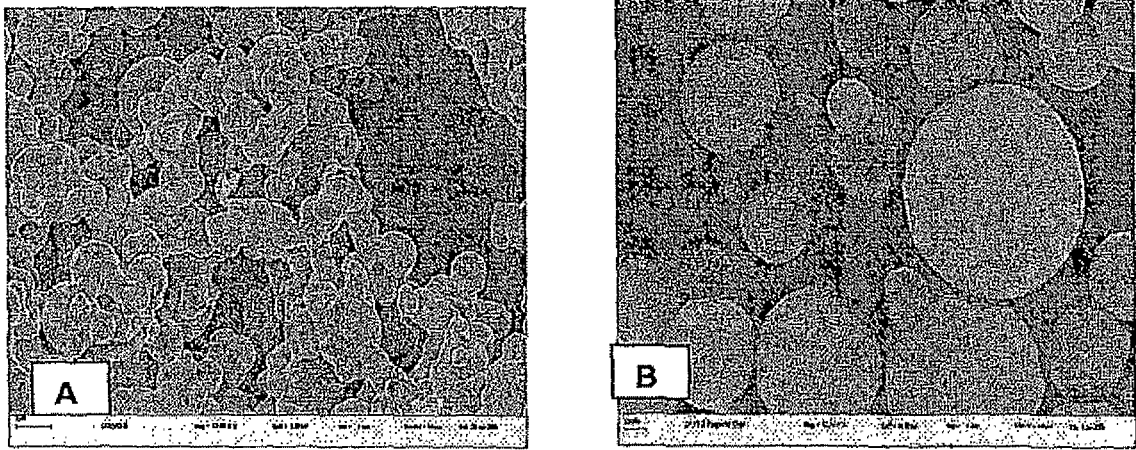
20

Figura 1. Micrografías SEM de nanopartículas de PLGA cargadas con INH secadas por pulverización: A. usando DCM; B. usando EA; C. DCM + 10% (p/v) lactosa y D. EA + 10% (p/v) lactosa.

25



15 **Figura 2.** Tamaño y potencial zeta frente a la concentración de PVA para formulaciones en las que se usó lactosa sin Surfynol104 PG-50™ y PEG.



5

Figura 3. Fotos SEM de nanopartículas de PLGA cargadas con INH secadas por pulverización. A. Formulación sin ácido esteárico y PEG, y B. Formulación con ácido esteárico y PEG (las barras de medición representan 100 nm).



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201090058

②② Fecha de presentación de la solicitud: 18.02.2008

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: **A61K9/51** (2006.01)
B82Y5/00 (2011.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	WO 03099626 A1 (KRKA TOVARNA ZDRAVIL, D.D., NOVO MESTO) 04.12.2003, página 5, línea 21 – página 8, línea 27; reivindicaciones 2,5-11,13.	1-22
A	EP 1595549 A1 (TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED) 16.11.2005, párrafos [0007],[0008],[0083],[0086],[0087],[0089].	1-22

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

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

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

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

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

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
25.01.2013

Examinador
N. Vera Gutiérrez

Página
1/4

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

A61K, B82Y

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

INVENES, EPODOC

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 25.01.2013

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-22	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 1-22	SI
	Reivindicaciones	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	WO 03099626 A1 (KRKA TOVARNA ZDRAVIL, D.D., NOVO MESTO)	04.12.2003

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La invención se refiere a un procedimiento para la producción de transportadores de nanopartículas para la administración de fármacos, en el que dichas nanopartículas se producen mediante: preparación de una emulsión doble de agua-aceite-agua, que incluye uno o más polímeros; mezcla del fármaco en una de las fases de emulsión; dopaje de la fase de aceite o de la fase de agua externa con un hidrato de carbono; dopaje de la fase de aceite o de la fase de agua externa con un tensioactivo; y secado de la emulsión mediante pulverización para formar nanopartículas con un tamaño de partícula entre 100 y 1000 nm.

El documento D01 divulga un proceso para la producción de nanopartículas biodegradables de copolímeros de ácido láctico-ácido glicólico, que llevan encapsuladas una o más sustancias activas, por el método de doble emulsión agua/aceite/agua con agitación simultánea y sonicación. Las nanopartículas obtenidas presentan un tamaño entre 100 y 800 nm. El proceso comprende: I) disolución del polímero en un disolvente orgánico (por ejemplo, diclorometano o acetato de etilo); II) emulsificación de la sustancia activa que previamente ha sido disuelta en un disolvente acuoso adecuado. Esta primera emulsión se somete a emulsificación en una solución acuosa (por ejemplo, de alcohol de polivinilo) para obtener una emulsión del tipo agua/aceite/agua; y III) aislamiento y secado por pulverización. La composición puede incorporar agentes para controlar la estabilidad, tales como hidratos de carbono (por ejemplo, sacarosa o trehalosa) (ver páginas 5-8).

A la vista del documento D01, se considera que la invención recogida en las reivindicaciones 1-22 de la solicitud es nueva e implica actividad inventiva (Artículos 6.1 y 8.1 L.P.).