

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 371 898**

21 Número de solicitud: 201131575

51 Int. Cl.:

C08B 37/16 (2006.01)

A61K 47/40 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN PREVIO

B2

22 Fecha de presentación: **29.09.2011**

43 Fecha de publicación de la solicitud: **11.01.2012**

Fecha de la concesión: **01.06.2012**

45 Fecha de anuncio de la concesión: **13.06.2012**

45 Fecha de publicación del folleto de la patente:
13.06.2012

73 Titular/es:

**Universidade de Santiago de Compostela
Edificio Emprendia, Campus Vida
15782 Santiago de Compostela, A Coruña, ES**

72 Inventor/es:

**ALVAREZ LORENZO, Carmen;
CONCHEIRO NINE, Angel;
MOYA ORTEGA, M^a Dolores y
LOFTSSON, Throsteinn**

74 Agente/Representante:

Torrente Vilasánchez, Susana

54 Título: **NANOGELES DE CICLODEXTRINA.**

57 Resumen:

Nanogeles de ciclodextrinas y procedimiento de obtención de nanogeles por reticulación/emulsificación/evaporación de la fase orgánica de ciclodextrinas o sus derivados, o ciclodextrinas o sus derivados y polímeros hidrosolubles o sus derivados; utilizando como agente reticulante moléculas que contienen dos o más grupos glicidiléter en su estructura; las composiciones obtenidas capaces de incorporar fármacos y sustancias activas, que forman complejos de inclusión con ciclodextrinas; su uso como componentes de dispositivos de liberación controlada, tales como formas farmacéuticas transdérmicas, formas transmucosales bucales, orales, rectales, oculares, óticas o vaginales, e implantes parenterales, destinadas a administrar fármacos o sustancias activas a humanos, animales o plantas, o como componentes de preparados cosméticos; y el uso de las composiciones como secuestrantes, en la extracción de moléculas tóxicas o biológicas en organismos vivos o de sustancias contaminantes en aguas.

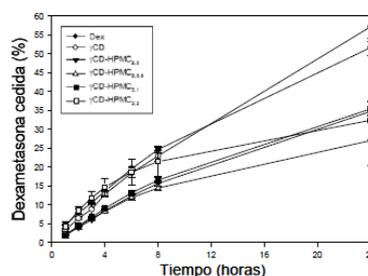


Figura 5

ES 2 371 898 B2

DESCRIPCIÓN

Nanogeles de ciclodextrinas.

5 **Sector de la técnica**

La presente invención se refiere al desarrollo de hidrogeles, más en concreto se refiere al desarrollo de hidrogeles de tamaño nanométrico.

10

Estado de la técnica

Las ciclodextrinas son oligómeros cíclicos constituidos por unidades de α -D-glucosa en un número variable, en general 6 (α -), 7 (β -), ó 8 (γ -ciclodextrina). Las ciclodextrinas tienen una estructura toroidal con una superficie interna hidrofóbica y una cara externa hidrofílica (Düchene y Wouessidjewe, *Pharm. Technol.* 14: 22-30, 1990). Esta conformación las dota de capacidad para formar complejos con sustancias de naturaleza diversa (Uekama, *Chem. Pharm. Bull.* 52: 900-915, 2004). La formación de complejos se viene utilizando desde hace décadas para modificar la solubilidad, la estabilidad y la volatilidad de fármacos y moléculas activas. Más recientemente la capacidad de las ciclodextrinas para formar complejos se ha utilizado en la preparación de hidrogeles con capacidad de carga y control de la cesión de moléculas activas mejoradas (Frank van de Manakker, Tina Vermonden, Cornelus F. van Nostrum, and Wim E. Hennink, *Biomacromolecules* 10: 3157-31 75, 2009).

Esta capacidad para incorporar moléculas activas y controlar su cesión, hace que las ciclodextrinas sean un material de interés en la preparación de sistemas de liberación de fármacos. Dentro de estos sistemas se encuentran los hidrogeles que se caracterizan por su capacidad para incorporar agua.

En el estado del arte son conocidos hidrogeles constituidos por ciclodextrinas para cuya preparación que se han puesto a punto procedimientos que implican a) la formación previa de un derivado acrílico o vinílico de ciclodextrina susceptible de reaccionar con otros monómeros acrílicos o vinílicos (Siemoneit, U., Schmitt, C., Alvarez-Lorenzo, C., Luzardo, A., Otero-Espinar, F., Concheiro, A., Blanco-Mendez, J. Acrylic/cyclodextrin hydrogels with enhanced drug loading and sustained release capability. *Int. J. Pharm.* 312, 66-74, 2006); o b) la reticulación directa de las ciclodextrinas utilizando moléculas capaces de reaccionar simultaneamente con grupos hidroxilo de varias ciclodextrinas (Rodríguez-Tenreiro, C., Alvarez-Lorenzo, C., Rodríguez-Perez, A., Concheiro, A., Torres-Labandeira, J.J. Estradiol sustained release from high affinity cyclodextrin hydrogels. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 66, 55-62, 2007).

Con el fin de implementar procedimientos sencillos y compatibles con el medio ambiente, se ha propuesto la reticulación directa de ciclodextrinas, en medio acuoso y condiciones suaves, utilizando como agentes reticulantes moléculas que contienen dos o más grupos glicidiléter en su estructura. En la solicitud de patente WO2006/089993 A2 se describe un procedimiento de obtención de hidrogeles de ciclodextrinas o sus derivados y éteres de celulosa hidrosolubles o sus derivados hidrosolubles, o ciclodextrinas o sus derivados y gomas guar o sus derivados, utilizando como agente reticulante moléculas que contienen dos o más grupos glicidiléter en su estructura. En el procedimiento según la solicitud de patente WO2006/089993 A2, la disolución de ciclodextrina con el agente reticulante “se transfiere a un molde adecuado” y tras la reticulación, “los hidrogeles se dividen en porciones de forma y tamaño adecuados y se utilizan tal como se encuentran al extraerlos del líquido de lavado o después de someterlos a desecación”.

Para ciertas aplicaciones farmacéuticas y en particular cuando se requiere una vectorización hacia tejidos o células concretas, la utilización de los hidrogeles como vehículos de fármacos sólo es posible si se presentan como sistemas multiparticulares constituidos por nanogeles de tamaño inferior a 200 nm (Raemdonck, K; Demeester, J; De Smedt, S. *Advanced nanogel engineering for drug delivery*, *SOFT MATTER* 5, 707-715, 2009; Jung Kwon Oha, Ray Drumright, Daniel J. Siegwart, Krzysztof Matyjaszewski. *The development of microgels/nanogels for drug delivery applications*. *Prog. Polym. Sci.* 33 (2008) 448-477). Los nanogeles se podrían obtener a partir de estructuras monolíticas, por pulverización o trituración, pero este procedimiento (“top-bottom” approach) es difícil de implementar en la práctica y las partículas resultantes presentan formas irregulares y su dispersión de tamaños es amplia. Los procedimientos que permiten formar los nanogeles directamente a partir de sus constituyentes (“bottom-up” approach) resultan más adecuados para nanogeles de tamaño controlado y forma principalmente esférica (Jung Kwon Oha, Ray Drumright, Daniel J. Siegwart, Krzysztof Matyjaszewski. *The development of microgels/nanogels for drug delivery applications*. *Prog. Polym. Sci.* 33 (2008) 448-477).

Un procedimiento recientemente publicado se refiere a la síntesis de nanogeles mediante polimerización-precipitación de monómeros vinílicos de ciclodextrina junto con otros comonómeros acrílicos o vinílicos en agua a 70°C y ultrafiltración (Markus J. Kettel, Fiete Dierkes, Karola Schaefer, Martin Moeller, Andrij Pich. *Aqueous nanogels modified with cyclodextrin*. *Polymer* 52 (2011) 1917-1924). Este procedimiento requiere en una primera etapa la preparación previa de derivados vinílicos de ciclodextrina, seguida, en una segunda etapa, de la copolimerización con otros monómeros acrílicos o vinílicos.

65

Descripción de la invención

Los autores de la invención han desarrollado geles de tamaño nanométrico, que solucionan las limitaciones de los correspondientes hidrogeles monolíticos, ya que son útiles para aplicaciones para las que los monolíticos no se pueden emplear. De este modo, la invención proporciona geles nanométricos que poseen propiedades bien diferenciadas de los correspondientes hidrogeles monolíticos. El tamaño de los geles de la invención proporciona una superficie específica elevada lo que facilita los intercambios de materia con el medio en el que se encuentren y hace posible que atraviesen membranas celulares por endocitosis y que eludan el reconocimiento por el sistema fagocítico mononuclear.

Así, en un aspecto la invención se dirige a un hidrogel caracterizado por un diámetro hidrodinámico medio inferior a 1 micrómetro, que comprende una matriz de ciclodextrinas, donde las ciclodextrinas están unidas entre sí a través de un espaciador al que se unen mediante un grupo éter o amino.

Una realización particular de la invención se refiere a un hidrogel como se ha definido anteriormente que adicionalmente comprende un polímero hidrosoluble.

Las ciclodextrinas que constituyen el hidrogel de la invención les confieren una alta capacidad de incorporación de fármacos, sustancias activas y moléculas biológicas o tóxicas con estructuras y propiedades físico-químicas muy diversas. Así, el hidrogel como se ha definido anteriormente puede comprender además un ingrediente activo, una molécula biológica, o una molécula tóxica.

En otro aspecto la invención se dirige a una composición farmacéutica que comprende el hidrogel como se ha definido anteriormente y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En otro aspecto la invención se dirige a una composición cosmética que comprende el hidrogel como se ha definido anteriormente.

En otro aspecto la invención se dirige a una composición fitosanitaria que comprende el hidrogel como se ha definido anteriormente.

La invención además proporciona un procedimiento adecuado para la preparación de los nanogeles de la invención que se basa en una aproximación a partir de los materiales que los constituyen, y no en una trituración de los hidrogeles monolíticos correspondientes. Este procedimiento presenta la ventaja de preparar los nanogeles en un único paso, integrando la fase de reticulación y emulsificación, y además permite el control de la estructura y morfología de los nanogeles.

Por lo que en otro aspecto, la invención se refiere a un procedimiento para la preparación del hidrogel como se ha definido anteriormente que comprende:

a) preparar una disolución acuosa que comprende una o varias ciclodextrinas, un agente reticulante que poseen dos ó más grupos funcionales que son capaces de reaccionar con los grupos hidroxilo de las ciclodextrinas para formar grupos éter o bien con grupos amino de las ciclodextrinas para formar grupos amino, y una sustancia de carácter ácido o básico, y opcionalmente un polímero hidrosoluble,

b) preparar una disolución orgánica que comprende un disolvente orgánico, y opcionalmente un agente tensioactivo,

c) mezclar bajo agitación las disoluciones preparadas en las etapas a) y b),

d) mezclar la emulsión obtenida en la etapa c) con agua.

En una realización particular, el procedimiento comprende además añadir un ingrediente activo o una molécula biológica.

En otro aspecto, la invención se refiere al uso del hidrogel como se ha definido anteriormente para preparar un medicamento.

En otro aspecto, la invención se refiere al uso del hidrogel como se ha definido anteriormente, en sistemas capaces de secuestrar sustancias tóxicas, moléculas producidas por organismos vivos, agentes contaminantes o residuos líquidos.

Descripción de las figuras

Figura 1. Microfotografía de microscopía de transmisión electrónica de nanogeles de γ -ciclodextrina antes de someterse al proceso de liofilización.

Figura 2. Microfotografía de microscopía de transmisión electrónica de nanogeles de γ -ciclodextrina e hidroxipropilmetilcelulosa antes de someterse al proceso de liofilización.

Figura 3. Espectros de infrarrojo de γ CD (1), HP β CD (2), HPMC (3), agar-agar (4), γ CD_{0,0,5} (5), γ CD-HPMC_{2,1} (6), HP β CD_{0,0,5} (7) y HP β CD-agar_{1,0,5} (8) en la región 1600-800 cm⁻¹.

Figura 4. Perfiles de difusión de 3-MBA a partir de una disolución sin nanogeles o de dispersiones de nanogeles de γ -ciclodextrina o de γ -ciclodextrina e hidroxipropilmetilcelulosa.

Figura 5. Perfiles de cesión de dexametasona obtenidos a partir de una disolución de dexametasona (código Dex), de una disolución de dexametasona a la que se le incorporó γ -ciclodextrina libre (código γ CD), y de nanogeles de γ -ciclodextrina y HPMC preparados con distintas proporciones de Span 80 en la fase orgánica (0%, código γ CD-HPMC_{2,0}; 0.5%, código γ CD-HPMC_{2,0,5}; 1.0%, código γ CD-HPMC_{2,1}; 2.0%, código γ CD-HPMC_{2,2}).

15 Descripción detallada de la invención

Para los fines de la presente invención el término “hidrogel” hace referencia a un entramado de cadenas de polímeros hidrofílicos, que pueden estar reticuladas por distintos métodos, y que contiene una elevada proporción de agua. Los hidrogeles se pueden presentar en forma macroscópica o confinados en dimensiones más pequeñas. Se entiende por nanogel, un hidrogel de tamaño submicrométrico (Jung Kwon Oha, Ray Drumright, Daniel J. Siegwart, Krzysztof Matyjaszewski. The development of microgels/nanogels for drug delivery applications. Prog. Polym. Sci. 33 (2008) 448-477). Como se describió anteriormente, la presente invención se dirige a un hidrogel caracterizado por un diámetro hidrodinámico medio inferior a 1 micrómetro, que comprende una matriz de ciclodextrinas, donde las ciclodextrinas están unidas entre sí a través de un espaciador al que se unen mediante un grupo éter o amino. Los nanogeles de la invención son capaces de incorporar elevadas proporciones de agua sin disolverse.

Uno de los objetivos de la invención es proporcionar nanogeles útiles en el transporte y liberación de fármacos y que además sean capaces de dirigirse hacia tejidos o células concretas. Así, en una realización particular, el hidrogel como se ha descrito anteriormente presenta un diámetro hidrodinámico medio comprendido entre 1 nm y 400 nm. En una realización más particular, el nanogel de la invención posee un diámetro hidrodinámico medio comprendido entre 1 nm y 200 nm.

Para la mejor comprensión de la invención es importante diferenciar los hidrogeles de tamaño nanométrico de otros sistemas de tamaño nanométrico como pueden ser las nanopartículas. Las nanopartículas son partículas sólidas de tamaño comprendido entre 1 y 1000 nm (Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, J. Swarbrick y J.C. Boylan. Vol. 10. Marcel Dekker Inc., New York, p. 165) que dependiendo de su estructura interna se diferencian en dos grupos: nanocápsulas y nanoesferas. Las nanocápsulas constan de una cavidad rodeada por una capa de polímero; y las nanoesferas son sistemas matriciales continuos (F. Rocha Formiga, E. Ansorena, A. Estella-Hermoso De Mendoza, E. Imbuluzqueta, D. González, M. J. Blanco Prieto. Nanosistemas a base de poliésteres. Monografía XXVIII de la Real Academia Nacional de Farmacia, Madrid 2009, p.41).

En comparación a los liposomas y las nanocápsulas, los nanogeles son físicamente más estables; y las nanopartículas no poseen la capacidad de incorporar elevadas cantidades de agua sin disgregarse, característica de los geles.

Ciclodextrinas reticuladas

El término “ciclodextrinas” en la presente invención se refiere a ciclodextrinas naturales, ciclodextrinas sintéticas y semisintéticas, de manera que este término incluye por ejemplo, sin que esto suponga una limitación, ciclodextrinas de 6, 7, y 8 miembros (conocidas como alfa-beta y gamma, respectivamente), ciclodextrinas de más de 8 miembros (conocidas como grandes ciclodextrinas) y derivados de ciclodextrinas. Se entiende por derivados de ciclodextrinas, las ciclodextrinas sustituidas en algunos de sus grupos hidroxilo por grupos funcionales, por ejemplo los que se recogen en la siguiente tabla:

Tipo de derivado	α -Ciclodextrina	β -Ciclodextrina	γ -Ciclodextrina
Alquilado	Metil- Butil-	Metil- Etil- Butil-	Metil- Butil- Pentil-
Amino	Mono-6-amino-6-deoxi-	Mono-6-amino-6-deoxi-	Mono-6-amino-6-deoxi-
Hidroxialquilado	2-hidroxipropil-	Hidroxietyl- 2-hidroxipropil- 2-hidroxietyl-	Hidroxietyl- 2-hidroxipropil-
Esterificado	Acetyl- Succinil-	Acetyl- Propionil- Butiril- Succinil- Benzoil- Palmitil- Toluensulfonil-	Acetyl- Succinil-
Esterificado y alquilado		Acetyl metil- Acetyl butil-	
Ramificado	Glucosil- Maltosil-	Glucosil- Maltosil-	Glucosil- Maltosil-
Iónico Carb	oximetil eter- Fosfato éster-	Carboximetil eter- Carboximetil etil- Fosfato éster- 3-trimetilamonium- 2-hidroxietyl eter- Sulfobutil éter-	Carboximetil eter- Fosfato éster-
Polimerizado	Polímeros simples Carboximetil-	Polímeros simples Carboximetil-	Polímeros simples Carboximetil-

Los derivados de ciclodextrina también incluyen sus sales farmacéuticamente aceptables.

Los derivados amino de ciclodextrinas pueden obtenerse mediante el procedimiento descrito en *Nature Protocols*, 2008, 3, 691-697.

En el nanogel de la invención las ciclodextrinas se encuentran reticuladas, de manera que una ciclodextrina está unida a uno o más espaciadores a los que a su vez están unidas otras ciclodextrinas, formando así una matriz. Las ciclodextrinas y el espaciador están unidos covalentemente a través de un grupo éter o amino.

En una realización particular, el espaciador comprende una estructura carbonada que se selecciona de entre cadenas de alquilo, arilo, arilalquilo y poliéter, lineales o ramificadas, opcionalmente sustituidas. En una realización particular, el espaciador es un poliéter.

“Alquilo” se refiere a una cadena hidrocarbonada lineal o ramificada, cíclica o acíclica formada por átomos de carbono e hidrógeno, sin insaturaciones, de 1 a 12, preferiblemente de uno a ocho, más preferiblemente de uno a cuatro átomos de carbono, opcionalmente sustituida.

“Arilo” se refiere a un hidrocarburo aromático de 6 a 10 átomos de carbono, tal como fenilo o naftilo, opcionalmente sustituido por un grupo alquilo u oxialquilo, que pueden estar a su vez sustituidos.

“Arilalquilo” se refiere a uno o varios grupos arilo unidos al resto de la molécula mediante un radical alquilo, por ejemplo, bencil, 3-(fenil)-propil, etc.

“Poliéter” se refiere a una cadena con uno o más grupos éter. En una realización particular, el poliéter es un alquilo sin insaturaciones, o un arilalquilo, en el que se intercalan uno o más grupos éter en la cadena alquílica, y que está opcionalmente sustituido por un grupo funcional seleccionado entre hidroxilo, alquilo C1-C6, hidroxialquilo C1-C6, alquilo alquilo C1-C6, y OR₃, donde R₃ es un alquilo C1-C4 opcionalmente sustituido por hidroxilo, alquilo C1-C6, hidroxialquilo C1-C6 o glicidiléter.

En una realización particular, el poliéter presenta la fórmula $-(CHR_1-CHR_2O)_n-$, donde n tiene un valor de entre 1 y 100, preferiblemente entre 1 y 50, más preferiblemente entre 1 y 10, R_1 y R_2 pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan de entre el grupo constituido por hidrógeno, hidroxilo, alquilo C1-C6, hidroxialquilo C1-C6, alquiloxi alquilo C1-C6, y OR_3 , donde R_3 es un alquilo C1-C4 opcionalmente sustituido por hidroxilo, alquilo C1-C6, hidroxialquilo C1-C6 o glicidiléter.

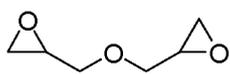
Los espaciadores del nanogel de la invención, como se ha descrito anteriormente, proceden de agentes reticulantes que poseen dos ó más grupos funcionales que son capaces de reaccionar con los grupos hidroxilo de las ciclodextrinas para formar grupos éter o bien con grupos amino de las ciclodextrinas para formar grupos amino. Dichos grupos funcionales son conocidos por el experto en la materia y algunos ejemplos, sin limitarse a ellos, son los siguientes: grupo 1,2-epoxietano, glicidiléter, haluro de alquilo primario, tosilato de alquilo primario, etc. En una realización más particular, el grupo capaz de reaccionar con los grupos hidroxilo o amino de las ciclodextrinas es un grupo glicidiléter.

En una realización particular, el agente reticulante comprende un poliéter, opcionalmente sustituido, y dos o más grupos glicidiléter.

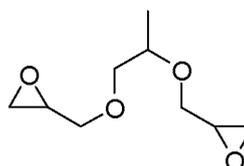
Los glicidiléteres cuentan con la ventaja de que presentan una toxicidad muy baja. Sus amplios márgenes de seguridad, junto con la ausencia de efectos a nivel reproductivo y endocrino y de efectos carcinogénicos, los hacen adecuados como componentes de envases que se mantiene en contacto prolongado con alimentos (Poole *et al.*, *Food Additives & Contaminants* 21: 905-919, 2004). Los agentes reticulantes con grupos glicidiléter (conocidos también por epóxidos, oxiranos u óxidos de alqueno; Allinger *et al.*, *Química Orgánica*, 2ª Ed. Reverté SA, Barcelona, 1988, p. 639), permiten además obtener hidrogeles de polisacáridos hidrosolubles sin necesidad de formar previamente derivados de estos polímeros para introducir grupos polimerizables ni de modificar previamente su estructura (Rodríguez *et al.*, *op. cited* 2003).

En una realización más particular, los agentes reticulantes se seleccionan de entre diglicidileter, etilenglicoldiglicidileter, dietilenglicoldiglicidileter, polietilenglicoldiglicidileter, poliglicerolpoliglicidileter, propilenglicoldiglicidileter, gliceroldiglicidileter, gliceroltriglicidileter, o bisfenol A diglicidileter.

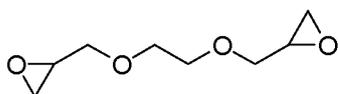
En una realización particular, la proporción en peso seco de ciclodextrina está comprendida entre el 1 y el 95%, y la proporción en peso seco del agente reticulante está comprendida entre el 99% y el 5% del peso total del hidrogel seco de la invención como se ha descrito anteriormente. En una realización más particular, la proporción en peso seco de ciclodextrina está comprendida entre el 4 y el 70%, y la proporción en peso seco del agente reticulante está comprendida entre el 96% y el 30% del peso total del hidrogel seco.



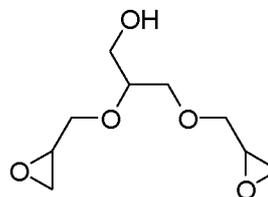
Diglicidiléter



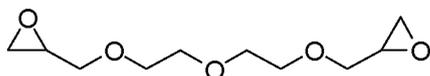
Propilenglicol diglicidiléter



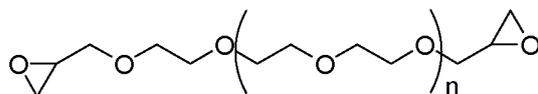
Etilenglicol diglicidiléter



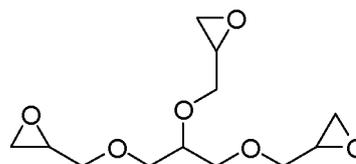
Glicerol diglicidiléter



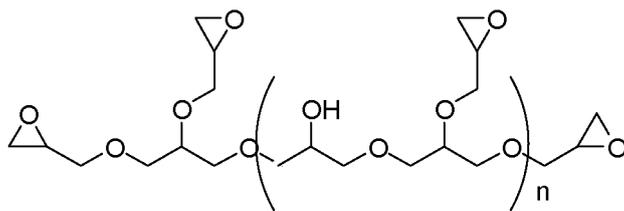
Dietilenglicol diglicidiléter



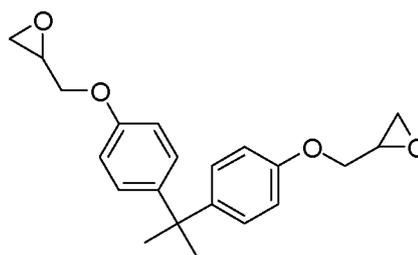
Polietilenglicol diglicidiléter



Glicerol triglicidiléter



Poliglicerol poliglicidiléter



Bisfenol A diglicidiléter

15 *Polímero hidrosoluble*

Como se ha descrito anteriormente, los nanogeles de la invención pueden incorporar polímeros hidrosolubles. Por “polímero hidrosoluble” se entiende cualquier macromolécula natural, semisintética o sintética que se pueda dispersar en medio acuoso formando disoluciones o sistemas coloidales.

Con el fin de modular las propiedades de los hidrogeles de la invención los autores encontraron que los polisacáridos hidrosolubles son adecuados para modular la afinidad de los nanogeles por los fármacos y para modular los perfiles de cesión. Los polisacáridos están constituidos por glúcidos que presentan grupos hidroxilo reactivos similares a los de las ciclodextrinas, por lo que comparativamente a otros polímeros, tienen la ventaja de poder reaccionar con el agente reticulante de manera similar a como lo hacen las ciclodextrinas, lo que facilita la obtención de entramados homogéneos.

En una realización particular, el polímero hidrosoluble es un polisacárido hidrosoluble o sus derivados. Se entiende por derivados de un polisacárido hidrosoluble, sus sales farmacéuticamente aceptadas, y los polisacáridos hidrosolubles resultantes de la sustitución en algunos de sus grupos hidroxilo con grupos funcionales, como por ejemplo, alquilo, arilo, arilalquilo, alquilcarbonilo, alcoxicarbonilo, etc.

En una realización más particular, el polisacárido hidrosoluble se selecciona de entre el grupo constituido por dextranos, alginatos, almidón, glucógeno, quitosano, gomas guar, agar-agar, gomas garrafina y éteres de celulosa solubles en agua, y sus sales farmacéuticamente aceptables.

En una realización particular, los éteres de celulosa solubles en agua se seleccionan de entre metilcelulosa (MC), hidroxietilmetilcelulosa (HEMC), hidroxipropilcelulosa (HPC), hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), hidroxietilcelulosa (HEC), etilhidroxietilcelulosa (EHEC), carboximetilcelulosa sódica (CMCNa), sales de amonio cuaternario de hidroxietilcelulosa con sustituyente trimetilamonio (Polyquaternium 10), y copolímeros de hidroxietil celulosa y cloruro de dimetil dialil amonio (Polyquaternium 4).

Son ejemplos de derivados de goma guar, sus éteres hidroxipropilados o carboxihidroxipropilados, sus derivados catiónicos (Ecopol) y los productos resultantes de la depolimerización de las gomas guar.

En una realización particular, el polímero hidrosoluble es un polímero acrílico de carácter neutro o ionizable con la condición de ser soluble en medio acuoso. El polímero acrílico queda interpenetrado en el entramado de ciclodextrinas, no está unido covalentemente a las ciclodextrinas ni a los espaciadores.

En una realización más particular, el polímero acrílico soluble en agua se selecciona de entre el grupo constituido por ácido poliacrílico, poli-N-isopropilacrilamida, copolímeros de ácido metacrílico y etil acrilato, copolímeros de ácido metacrílico, metil acrilato y metil metacrilato, y copolímeros de dimetilaminoetil metacrilato, butil metacrilato y metil metacrilato.

En una realización particular, la proporción en peso seco de ciclodextrina está comprendida entre el 1% y el 95%; la proporción en peso seco de polímero hidrosoluble está comprendida entre el 0.05% y el 95%; y la proporción en peso seco del agente reticulante está comprendida entre 98.95% y el 4% del peso total del hidrogel seco de la invención como se ha descrito anteriormente. En una realización más particular, la proporción en peso seco de ciclodextrina está comprendida entre el 4 y el 70%, la proporción en peso seco de polímero hidrosoluble está comprendida entre el 0.1% y el 20%; y la proporción en peso seco del agente reticulante está comprendida entre el 96% y el 30% del peso total del hidrogel seco.

65 *Ingrediente activo y moléculas biológicas*

Los nanogeles objeto de la presente invención son adecuados para asociar ingredientes activos o moléculas biológicas independientemente de las características de solubilidad de los mismos. La capacidad de asociación dependerá de la molécula correspondiente.

El término “ingrediente activo” se refiere a cualquier sustancia que se utiliza en el tratamiento, cura, prevención o diagnóstico de una enfermedad o que se utiliza para mejorar el bienestar físico y mental de seres humanos y animales, así como aquel compuesto que se destina a destruir, impedir la acción, contrarrestar o neutralizar, cualquier organismo nocivo, o bien cualquier sustancia que se utiliza como cosmético o de higiene, así como aquel compuesto que se destina a regenerar tejidos o en ingeniería de tejidos.

Por “moléculas biológicas” se entiende cualquier molécula sintetizada en un organismo vivo, como por ejemplo, proteínas, carbohidratos, lípidos, ácidos nucleicos, aminoácidos, etc.. En una realización particular, la molécula biológica se selecciona entre péptidos, proteínas, compuestos lipídicos o lipofílicos, compuestos sacarídicos, compuestos de ácidos nucleicos o nucleótidos como oligonucleótidos, polinucleótidos o bien combinaciones de las moléculas citadas.

En una realización particular de la invención, el ingrediente activo o la molécula biológica poseen actividad anti-fúngica, antiséptica o antiinflamatoria, o bien es una molécula de interés en ingeniería de tejidos, medicina regenerativa, cosmética o de higiene. En una realización particular, el ingrediente activo es un antiinflamatorio. En una realización más particular el ingrediente activo es un antiinflamatorio esteroideo.

La proporción de ingrediente activo o molécula biológica incorporado dependerá en cada caso de la naturaleza del ingrediente activo o molécula biológica que va a incorporarse, la indicación para la que se utiliza y la eficiencia de administración.

Según otra realización particular, el nanogel de la invención se encuentra en forma liofilizada.

Dadas las características de las ciclodextrinas, que presentan compatibilidad ocular, los nanogeles de la invención son adecuados como sistemas de liberación de ingredientes activos o moléculas biológicas para tratamientos oftálmicos.

En una realización particular, el nanogel de la invención se usa en la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades oftálmicas.

Los nanogeles de la invención, con o sin ingrediente activo o moléculas biológicas incorporadas, se pueden usar como tales o como componentes base de formas farmacéuticas, medicamentos y productos fitosanitarios para el tratamiento de estados patológicos o fisiológicos en humanos, animales y plantas.

En una realización particular, las composiciones farmacéuticas según la invención son adecuadas para la administración transdérmica, bucal, oral, rectal, ocular, nasal, ótica, vaginal, o implante parenteral.

También se pueden utilizar como agentes secuestrantes de sustancias biológicas o tóxicas en organismos vivos, por ejemplo colesterol, glucosa o ácidos biliares, o en el medio ambiente.

Los nanogeles de la invención son también muy adecuados para controlar la cesión de fármacos o de sustancias activas, incorporadas a los nanogeles. Las composiciones proporcionan diferentes velocidades de cesión dependiendo de su composición cuali- y cuantitativa, y de las propiedades fisicoquímicas del fármaco, especialmente de su hidrosolubilidad y de su afinidad por la cavidad de la ciclodextrina.

También pueden servir para dirigir fármacos hacia zonas específicas en seres vivos, mediante cambios asociados a las condiciones del entorno, en el grado de hinchamiento del nanogel o en la afinidad del fármaco por los componentes del nanogel.

50 *Procedimiento de preparación*

El procedimiento de la invención transcurre en condiciones suaves, se evitan temperaturas elevadas y condiciones drásticas, y de manera que es posible incorporar ingredientes activos o moléculas biológicas sin dañar su integridad y sin peligro de degradación.

El procedimiento de la invención tiene la ventaja de que no requiere la modificación previa de la estructura de la ciclodextrina ni del polímero hidrosoluble, ni la utilización de un molde para formar el nanogel. Además, el procedimiento de la invención permite modular el tamaño y forma del nanogel mediante el control del proceso de formación de las gotículas de la emulsión de la etapa c) y mediante la proporción de componentes del sistema.

Como se describió anteriormente, la invención también se refiere a un procedimiento para la preparación del hidrogel como se ha definido anteriormente que comprende:

a) preparar una disolución acuosa que comprende una o varias ciclodextrinas, un agente reticulante que posee dos ó más grupos funcionales que son capaces de reaccionar con los grupos hidroxilo de las ciclodextrinas para formar grupos éter o bien con grupos amino de las ciclodextrinas para formar grupos amino, y una sustancia de carácter ácido o básico, y opcionalmente un polímero hidrosoluble,

b) preparar una disolución orgánica que comprende un disolvente orgánico, y opcionalmente un agente tensioactivo,

c) mezclar bajo agitación las disoluciones preparadas en las etapas a) y b),

d) mezclar la emulsión obtenida en la etapa c) con agua.

La preparación de la disolución acuosa de la etapa a) es posible llevarla a cabo de varias maneras sin que existan variaciones en el resultado obtenido. Así es posible añadir en primer lugar, la ciclodextrina en agua y después una sustancia de carácter ácido o básico con el fin de modificar el pH para ajustarlo para que transcurra la reticulación, o disolver la ciclodextrina directamente en un medio con el pH adecuado. En los casos en los que se incorpora un polímero hidrosoluble, la adición de dicho polímero al agua se puede hacer antes o después de disolver la ciclodextrina. Y por último, a la disolución resultante se le añade el agente reticulante en estado sólido, líquido o en disolución acuosa.

La sustancia de carácter ácido puede ser un ácido orgánico o inorgánico, por ejemplo ácido triluoroacético, ácido p-toluensulfónico, ácido camforsulfónico, ácido acético, resina ácida de intercambio iónico, ácido de Lewis, etc. La sustancia de carácter básico incluye bases orgánicas e inorgánicas por ejemplo carbonato potásico o sódico, cianuros, hidruros, aminas primarias, secundarias, metóxido sódico o potásico, etóxido sódico o potásico, etc.

En una realización particular, la disolución acuosa preparada en la etapa a) se incuba durante un periodo de tiempo de entre 1 y 60 minutos, más preferiblemente entre 5 y 45 minutos. En una realización particular, la incubación de la disolución acuosa preparada en la etapa a) se lleva a cabo a una temperatura controlada comprendida entre 5°C y 80°C, más preferiblemente entre 20°C y 60°C. En la etapa a) se inicia la reticulación pero sin dar lugar a un incremento de viscosidad que impida la emulsificación posterior con la fase orgánica.

En la etapa b) se prepara una disolución orgánica. Son ejemplos de fases orgánicas, aunque la invención no se limita a éstas, el clorobenceno, cloroformo, ciclohexano, diclorometano, hexano, tetrahidrofurano, tolueno, octanol, heptanol.

Opcionalmente es posible añadir un agente tensoactivo a la disolución orgánica. El término "agente tensoactivo" se refiere a molécula compuesta de una parte hidrófoba y un resto hidrófilo. Estas moléculas presentan, por tanto, propiedades anfifílicas, lo que hace que en una mezcla agua/disolvente orgánico, éstas migren hacia la superficie entre el agua y el disolvente orgánico. Así, la cabeza hidrofílica se mantiene en la fase acuosa y la cola hidrófoba interacciona con el disolvente orgánico alterando las propiedades superficiales de la interfaz agua/disolvente y permitiendo la formación de una emulsión, así como su estabilización.

En una realización particular, el agente tensoactivo se selecciona de entre el grupo consistente en derivados hidroxílicos de cadena larga de 8 a 18 átomos de carbono (alcoholes grasos), ácidos carboxílicos etoxilados, amidas etoxiladas, glicéridos etoxilados, ésteres de glicol y derivados, monoglicéridos, poligliceril ésteres, ésteres y éteres de polialcoholes, ésteres de sorbitán/sorbitol, triésteres del ácido fosfórico, derivados etoxilados de los alcoholes grasos y éteres de polietilenglicol. En una realización más particular, el agente tensoactivo es un éster de sorbitan. En una realización particular, el éster de sorbitan se selecciona de entre el grupo consistente en mono-, di-, tri- o sesqui-oleato de sorbitán, mono-, di-, tri- o sesqui-laurato de sorbitán, mono-, di-, tri- o sesqui-palmitato de sorbitán, mono-, di-, tri- o sesqui-estearato de sorbitán y mono-, di-, tri- o sesqui-isoestearato de sorbitán, así como, combinaciones de los anteriores.

En una realización particular, la proporción en peso de agente tensoactivo que se añade en la etapa b) está comprendido entre 0% y 5%, preferiblemente entre 0% y 3%.

En una realización particular, en la etapa c) la mezcla se homogeneiza durante un tiempo comprendido entre 1 segundo y 2 minutos, preferiblemente entre 30 y 60 segundos. Esta homogeneización puede realizarse mediante agitación enérgica, por ejemplo, empleando un agitador homogeneizador de alto rendimiento.

En una realización particular, el volumen de la fase orgánica de la etapa b) es igual o mayor al volumen de fase acuosa resultante de la etapa a).

En una realización particular, la mezcla de la etapa c) se agita durante un periodo de tiempo de entre 5 minutos y 5 horas, preferiblemente entre 10 minutos y 50 minutos. En una realización particular, dicha agitación se realiza a una temperatura controlada de entre 5°C y 80°C, preferiblemente de entre 40°C y 70°C.

En una realización particular, en la etapa d) la emulsión obtenida en la etapa c) se diluye con un volumen de agua comprendido entre un volumen igual y hasta 10 veces mayor que el de la mezcla de la etapa a). En una realización particular, la mezcla de la dilución se incuba de entre 10 minutos a 10 horas, preferiblemente de entre 1 hora a 5 horas. En una realización particular, dicha incubación se realiza bajo temperatura controlada de entre 5°C y 80°C. Mediante este proceso finaliza la reticulación y es posible evaporar el disolvente orgánico.

En una realización particular, el procedimiento comprende además añadir un ingrediente activo o una molécula biológica.

En una realización particular de la invención, la incorporación del ingrediente activo o de la molécula biológica se puede llevar a cabo mediante uno de los siguientes procesos: i) inmersión directa de un hidrogel de la invención, según se describió anteriormente, en una disolución o en una suspensión del ingrediente activo o de la molécula biológica, a una temperatura comprendida entre 0 y 100°C y a presión atmosférica, opcionalmente empleando ultrasonidos, ii) en autoclave a temperatura comprendida entre 100 y 130°C, o, iii) adición del ingrediente activo o de la molécula biológica a la fase acuosa a).

En una realización más particular, el procedimiento comprende además una etapa e) posterior a la etapa d) que comprende la dialización de la mezcla.

En una realización más particular, el procedimiento comprende además una etapa f) posterior a la etapa e) que comprende la liofilización de la mezcla.

En una realización más particular, el procedimiento comprende además una etapa g) posterior a la etapa f) que comprende la rehidratación de los nanogeles.

En otro aspecto, la invención se refiere a un nanogel obtenible mediante el procedimiento descrito anteriormente.

La estructura del nanogel obtenible mediante el procedimiento descrito anteriormente, se pone de relevancia en las pruebas realizadas como se recoge en los ejemplos de la presente memoria. Estos nanogeles presentan una alta capacidad de incorporación de fármacos, sustancias activas, moléculas biológicas o tóxicas con estructuras y propiedades físico-químicas muy diversas que forman complejos de inclusión con las ciclodextrinas de los nanogeles. Los nanogeles forman sistemas coloidales estables: dispersos en medio acuoso, presentan una elevada estabilidad física, resistiendo la centrifugación a 5000 rpm durante 10 min sin precipitar.

El tamaño y la forma de los nanogeles se pueden modular controlando el proceso de formación de las gotículas de la emulsión. La forma de los nanogeles de la invención es esférica y la distribución de tamaños de los nanogeles en el sistema coloidal es estrecha.

Todas estas características se pueden modular a través de una adecuada selección de la variedad y/o de la proporción de ciclodextrina/s y de los polímeros hidrosolubles o sus derivados que la/s acompañe/n. La baja o nula toxicidad de las ciclodextrinas, los polímeros hidrosolubles y sus derivados, y los agentes reticulantes glicidiléter hacen que las composiciones resultantes puedan ser utilizadas como componentes de formas farmacéuticas, de preparados cosméticos o sistemas "trampa" para captar moléculas de organismos vivos o del ambiente, sin plantear problemas de biocompatibilidad o de impacto ambiental.

40 Ejemplos de la invención

A continuación, se incluyen algunos ejemplos que muestran la obtención de nanogeles utilizando ciclodextrinas o sus derivados, o ciclodextrinas o sus derivados y polímeros hidrosolubles. También se incluyen ejemplos de la preparación de composiciones que incorporan sustancias activas y controlan su cesión.

Materiales y métodos

50 γ -Ciclodextrina (γ CD, W8) y 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD, W7 HP, Mw 1309.24 Da) fueron de Wacker (Barcelona, España), hidroxipropil metilcelulosa (HPMC, Methocel K4M Premium EP) de Colorcon Iberica S.L. (Barcelona, España), agar-agar de Guinama (Valencia, España), etilenglicol diglicidil eter (EGDE, 50% p/p en agua) de Fluka (St. Louis, IL, USA), diclorometano de Normasolv, Scharlau, S.A. (Barcelona, España), monooleato sorbitan (Span 80) de Fluka (Schnelldorf, Alemania), ácido 3-metil benzoico (3-MBA) de Merck (Darmstadt, Alemania). Agua purificada por ósmosis inversa (MilliQ[®], Millipore, España). Los restantes reactivos fueron de calidad analítica.

Ejemplo 1

60 *Procedimiento de obtención de nanogeles a base de γ -ciclodextrina o de HP β CD*

Se preparó una disolución de γ -ciclodextrina o HP β CD, al 20% (p/p), en NaOH 0.2M. A continuación, a 10 mL de disolución se le adicionaron 4 mL de una disolución de etilenglicoldiglicidil eter al 50% (p/p) en agua, de manera que la concentración final de agente reticulante fue del 14.28%. La disolución se sometió a agitación durante 25 minutos a 60°C para iniciar la reacción de reticulación.

Separadamente se preparó la fase orgánica consistente en una disolución de Span 80 al 2% (p/p) en diclorometano a 20°C.

La disolución acuosa de ciclodextrina- etilenglicoldiglicidileter se adicionó a 20 ml de la fase orgánica y el conjunto se sometió a la acción de un agitador homogeneizador de alto rendimiento (8000 rev./min; Ultra-Turrax T25, Janke & Kunkel, INK-Labortechnik, Alemania) durante 30 segundos. A continuación, la emulsión se mantuvo en agitación (agitador magnético 300 rev./min) durante 30 min en un baño termostatzado a 60°C. Seguidamente, la emulsión se vertió en 100 ml de agua destilada y se mantuvo en agitación (agitador magnético 300 rev./min) durante 210 min en un baño termostatzado a 60°C, para completar la formación de los nanogeles.

Se tomaron 50 ml del sistema coloidal conteniendo los nanogeles y se dializaron durante 72 horas utilizando tubos de diálisis de 12-14 kDa. Tras la diálisis, el sistema coloidal conteniendo los nanogeles se desecó por liofilización (VirTis Genesis freeze-dryer, USA). Una vez liofilizados, los nanogeles se redispersaron con facilidad en agua dando lugar a un sistema coloidal con tamaño de partícula similar al registrado antes de la liofilización (40-500 nm).

La figura 1 muestra la microfotografía de microscopía de transmisión electrónica (Philips CM-12 TEM apparatus, FEI Company, The Netherlands) de los nanogeles antes de someterse al proceso de liofilización. Los tamaños de los nanogeles se determinaron utilizando un equipo de dynamic light scattering usando un sistema óptico ALV-5000 F equipado con un laser de Nd:YAG (400 mW) conectado a una bomba de diodo CW (400 mW) operado a 532 nm (Coherent Inc., Santa Clara, CA, USA). El tamaño medio resultó ser de 151.36 nm.

Ejemplo 2

Procedimiento de obtención de nanogeles a base de γ -ciclodextrina e hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC)

Se preparó una disolución de HPMC K4M al 1% (p/p) en NaOH 0.2M. A continuación, a 10 mL de esta disolución se le adicionaron 2 gramos de γ -ciclodextrina o HP β CD y, tras homogeneización, 4 mL de una disolución de etilenglicoldiglicidileter al 50% (p/p) en agua. La disolución se sometió a agitación durante 25 minutos a 60°C para iniciar la reacción de reticulación.

Separadamente se preparó la fase orgánica consistente en una disolución de Span 80 al 1% (p/p) en diclorometano a 20°C.

La disolución acuosa de HPMA-ciclodextrina-etilenglicoldiglicidileter se adicionó a 20 ml de la fase orgánica y el conjunto se sometió a la acción de un agitador homogeneizador de alto rendimiento (8000 rev./min; Ultra-Turrax T25, Janke & Kunkel, INK-Labortechnik, Alemania) durante 30 segundos. A continuación, la emulsión se mantuvo en agitación (agitador magnético 300 rev./min) durante 30 min en un baño termostatzado a 60°C. Seguidamente, la emulsión se vertió en 100 ml de agua destilada y se mantuvo en agitación (agitador magnético 300 rev./min) durante 210 min en un baño termostatzado a 60°C, para completar la formación de los nanogeles.

Se tomaron 50 ml del sistema coloidal conteniendo los nanogeles y se dializaron durante 72 horas utilizando tubos de diálisis de 12-14 kDa. Tras la diálisis, el sistema coloidal conteniendo los nanogeles se desecó por liofilización. Una vez liofilizados, los nanogeles se redispersaron con facilidad en agua dando lugar a un sistema coloidal con tamaño de partícula similar al registrado antes de la liofilización (40-500 nm).

La figura 2 muestra la microfotografía de microscopía de transmisión electrónica (Philips CM-12 TEM apparatus, FEI Company, The Netherlands) de los nanogeles antes de someterse al proceso de liofilización. Los tamaños de los nanogeles se determinaron utilizando un equipo de dynamic light scattering usando un sistema óptico ALV-5000 F equipado con un laser de Nd:YAG (400 mW) conectado a una bomba de diodo CW (400 mW) operado a 532 nm (Coherent Inc., Santa Clara, CA, USA). El tamaño medio resultó ser de 93.68 nm.

Siguiendo los procedimientos de los ejemplos 1 y 2 y variando las proporciones de agente tensioactivo y la proporción de polisacárido se obtuvieron diferentes nanogeles según se recoge en la tabla 1.

Las formulaciones de los nanogeles obtenidos se identifican usando el código ciclodextrina-polisacárido_{x,y} donde la ciclodextrina es γ -CD o HP β CD, el polisacárido es HPMC o agar, "x" es la concentración de HPMC o agar (0%, 1% ó 2%) en la fase acuosa y "y" es la concentración de Span 80 en la fase orgánica (0%, 0.5% ó 2%) según se emplearon en la preparación del hidrogel como se describió en los ejemplos 1 y 2.

Tabla 1. Se recogen los datos de la concentración del surfactante, rendimiento del proceso de preparación (Rto), resultados del análisis de dynamic light scattering (DLS) de la suspensión de los nanogeles, área de cada pico, radio hidrodinámico, y distribución de masa.

Nanogel	Span 80 (%)	Rto (%)	Pico	Area	r_h (nm)	M (%)
γ CD _{0,0}	0.3	44.1	6.14	4.15	100	
γ CD _{0,0.5}	0.5	34.6	1 2	15.22 46.39	10.82 93.68	99.53 0.47
γ CD _{0,1}	1	26.0	1 2	17.74 883.35	73.71 395.06	75.57 24.43
γ CD _{0,2}	2	26.2	1 2	0.68 293.79	13.75 151.36	75.62 24.38
γ CD _{0,4}	4	45	7	-	-	-
γ CD-HPMC _{1,0.5}	0.5	28.0	1	58.16	8.51	100
γ CD-HPMC _{1,1}	1	18.7	1 2 3	0.22 0.52 128.59	2.02 13.75 119.08	98.99 0.73 0.28
γ CD-HPMC _{1,2}	2	19.1	1 2 3	0.05 0.73 134.91	3.26 22.22 93.68	86.95 3.78 9.27
γ CD-HPMC _{2,0}	0.1	1.8	1	57.118	5.1	100
γ CD-HPMC _{2,0.5}	0.5	29.3	1	167.092	2.22	100
γ CD-HPMC _{2,1}	1	24.6	1 2	1.23 104.10	6.70 93.68	96.99 3.01
γ CD-HPMC _{2,2}	2	28.6	1 2	0.19 171.78	10.82 119.08	59.82 40.18
HP β CD _{0,0.5}	0.5	35.7	1 2	1.67 90.76	2.02 57.99	99.77 0.23
HP β CD _{0,1}	1	30.4	1 2 3 4	0.07 0.53 5.90 144.03	2.57 10.82 55.62 244.53	89.39 9.05 1.34 0.21
HP β CD-Agar _{1,0.5}	0.5	26.5	1 2	6.10 124.55	3.26 73.71	99.85 0.15
HP β CD-Agar _{1,1}	1	11.7	1 2	1.81 330.67	3.26 119.08	99.63 0.37

Mediante cromatografía de gases (Finnigan Trace GC ultra Thermo, USA)-mass spectrometry (Finnigan Trace DSQ Thermo, USA) se determinó la cantidad residual de cloruro de metileno de los nanogeles liofilizados, que fue en todos los casos cercana al límite de cuantificación: 1 ppm.

5 También se estudió la estabilidad de los nanogeles obtenidos como dispersiones acuosas, tras centrifugación a 5000 r.p.m. durante 10 minutos ó 10000 r.p.m. durante 30 minutos para evaluar la tendencia de los nanogeles a precipitar, simulando así un proceso de envejecimiento durante el almacenamiento. Se observó que la centrifugación a 5000 r.p.m. durante 10 minutos no causó precipitación de los nanogeles. Mientras que la centrifugación a 10000 r.p.m. durante 30 minutos condujo a pequeñas cantidades precipitadas que fueron más intensas en los nanogeles a los que se les incorporó HPMC que en el caso de los nanogeles constituidos únicamente por ciclodextrinas. En todos los casos, tras agitar el precipitado, éste se redispersó de nuevo.

15 Se tomaron espectros de infrarrojo de los nanogeles de γ -CD en una rango de entre 400 y 4000 cm^{-1} , en un espectrofotómetro Bruker IFS 66V FT-IR (empleando la técnica de bromuro potásico). Estos espectros se muestran en la figura 3. La formación de grupos éter entre el agente reticulante y las ciclodextrinas se pone en evidencia en los espectros de infrarrojo (IR) al comparar las especies de partida frente a las ciclodextrinas reticuladas.

Ejemplo 3

20 *Control de la cesión del ácido 3-metilbenzoico (3-MBA) a partir de nanogeles de γ -ciclodextrina y de nanogeles de γ -ciclodextrina e hidroxipropilmetilcelulosa*

25 Nanogeles liofilizados se dispersaron en disoluciones de 3-MBA (0.08 mg/ml) para obtener una dispersión de nanogeles al 2% p/v, que se mantuvo a 20°C durante 60 horas. La cesión de 3-MBA a partir de las dispersiones de nanogeles se evaluó utilizando células de difusión verticales, utilizando membrana de celofán (MWCO 3500, 0.785 cm^2) como barrera de separación entre el compartimento dador y el compartimento receptor. Los ensayos se llevaron a cabo a 37°C utilizando 2 ml de dispersión de nanogeles y 5.5 ml de agua purificada, sometida a agitación magnética a 300 rpm, como medio receptor. También se ensayó, en las mismas condiciones, una disolución de 3-MBA (0.08 mg/ml) sin nanogeles. A intervalos de tiempo preestablecidos se tomaron muestras de 750 μl del medio receptor y se reemplazaron por medio fresco. La concentración de 3-MBA en el medio receptor se determinó por espectrofotometría UV a 281 nm. En la Figura 4 se muestran los perfiles de cesión obtenidos.

35 Ejemplo 4

Control de la cesión de dexametasona a partir de nanogeles de γ -ciclodextrina y de nanogeles de γ -ciclodextrina e hidroxipropilmetilcelulosa

40 Nanogeles liofilizados se dispersaron en disoluciones saturadas de dexametasona (0.14-0.16 mg/ml) para obtener una dispersión de nanogeles al 2% p/v, que se mantuvo a 20°C durante 16 horas o 7 días. La cesión de dexametasona a partir de las dispersiones de nanogeles se evaluó utilizando células de difusión verticales, utilizando membrana de celofán (MWCO 12-14 kDa, 1.77 cm^2) como barrera de separación entre el compartimento dador y el compartimento receptor. Los ensayos se llevaron a cabo a 37°C utilizando 2 ml de dispersión de nanogeles y 12 ml de agua purificada, sometida a agitación magnética a 300 rpm, como medio receptor. También se ensayó, en las mismas condiciones, la disolución saturada de dexametasona sin nanogeles. A intervalos de tiempo preestablecidos se tomaron muestras de 150 μl del medio receptor y se reemplazaron por medio fresco. La concentración de dexametasona en el medio receptor se determinó por HPLC. En la Figura 5 se muestran los perfiles de cesión obtenidos a partir de la disolución de dexametasona (código Dex), de una disolución de dexametasona a la que se le incorporó γ -ciclodextrina libre (código γ CD), o de nanogeles de γ -ciclodextrina y HPMC preparados con distintas proporciones de Span 80 en la fase orgánica (0%, código γ CD-HPMC_{2,0}; 0.5%, código γ CD-HPMC_{2,0,5}; 1.0%, código γ CD-HPMC_{2,1}; 2.0%, código γ CD-HPMC_{2,2}).

55

60

65

REIVINDICACIONES

- 5 1. Hidrogel **caracterizado** por un diámetro hidrodinámico medio inferior a 1 micrómetro, que comprende una matriz de ciclodextrinas, donde las ciclodextrinas están unidas entre sí a través de un espaciador al que se unen mediante un grupo éter o amino.
- 10 2. Hidrogel según la reivindicación 1, donde el diámetro hidrodinámico medio está comprendido entre 1 nm y 400 nm.
- 15 3. Hidrogel según la reivindicación 2, donde el diámetro hidrodinámico medio está comprendido entre 1 nm y 200 nm.
- 20 4. Hidrogel según la reivindicación 1, donde el espaciador procede de un agente reticulante que posee dos ó más grupos funcionales que son capaces de reaccionar con los grupos hidroxilo de las ciclodextrinas para formar grupos éter o bien con grupos amino de las ciclodextrinas para formar grupos amino.
- 25 5. Hidrogel según la reivindicación 4, donde el agente reticulante comprende un poliéter, opcionalmente sustituido, y dos o más grupos glicidiléter.
- 30 6. Hidrogel como se ha definido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que además comprende un polímero hidrosoluble.
- 35 7. Hidrogel según la reivindicación 6, donde el polímero hidrosoluble es un polisacárido hidrosoluble o sus derivados.
- 40 8. Hidrogel según la reivindicación 6, donde el polímero hidrosoluble es un polímero acrílico de carácter neutro o ionizable con la condición de ser soluble en medio acuoso.
- 45 9. Hidrogel como se ha definido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que además comprende un ingrediente activo, una molécula biológica, o una molécula tóxica.
- 50 10. Hidrogel según la reivindicación 9, donde el ingrediente activo o la molécula biológica poseen actividad anti-fúngica, antiséptica o antiinflamatoria, o bien es una molécula de interés en ingeniería de tejidos, medicina regenerativa, cosmética o de higiene.
- 55 11. Hidrogel según la reivindicación 10, donde el ingrediente activo es un antiinflamatorio esteroideo.
- 60 12. Hidrogel como se ha definido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, donde el hidrogel se encuentra en forma liofilizada.
- 65 13. Composición farmacéutica que comprende el hidrogel como se ha definido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 70 14. Composición farmacéutica según la reivindicación 13, para la administración transdérmica, bucal, oral, rectal, ocular, nasal, ótica, vaginal, o implante parenteral.
- 75 15. Composición cosmética que comprende el hidrogel como se ha definido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11.
- 80 16. Composición fitosanitaria que comprende el hidrogel como se ha definido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11.
- 85 17. Procedimiento para la preparación del hidrogel como se ha definido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, que comprende:
- 90 a) preparar una disolución acuosa que comprende una o varias ciclodextrinas, un agente reticulante que posee dos ó más grupos funcionales que son capaces de reaccionar con los grupos hidroxilo de las ciclodextrinas para formar grupos éter o bien con grupos amino de las ciclodextrinas para formar grupos amino, y una sustancia de carácter ácido o básico, y opcionalmente un polímero hidrosoluble,
- 95 b) preparar una disolución orgánica que comprende un disolvente orgánico, y opcionalmente un agente tensioactivo,
- 100 c) mezclar bajo agitación las disoluciones preparadas en las etapas a) y b),
- 105 d) mezclar la emulsión obtenida en la etapa c) con agua.

18. Procedimiento según la reivindicación 17, donde el agente tensoactivo se selecciona de entre el grupo consistente en derivados hidroxílicos de cadena larga de 8 a 18 átomos de carbono (alcoholes grasos), ácidos carboxílicos etoxilados, amidas etoxiladas, glicéridos etoxilados, ésteres de glicol y derivados, monoglicéridos, poligliceril ésteres, ésteres y éteres de polialcoholes, ésteres de sorbitán/sorbitol, triésteres del ácido fosfórico, derivados etoxilados de los alcoholes grasos y éteres de polietilenglicol.

19. Procedimiento según la reivindicación 18, donde el agente tensoactivo es un éster de sorbitan.

20. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 17 a 19 que comprende además añadir un ingrediente activo o una molécula biológica.

21. Procedimiento según la reivindicación 20, donde la incorporación del ingrediente activo o de la molécula biológica se lleva a cabo mediante uno de los siguientes procesos:

i) inmersión directa de un hidrogel de la invención, según se describió anteriormente, en una disolución o en una suspensión del ingrediente activo o de la molécula biológica, a una temperatura comprendida entre 0 y 100°C y a presión atmosférica, opcionalmente empleando ultrasonidos,

ii) en autoclave a temperatura comprendida entre 100 y 130°C, o,

iii) adición del ingrediente activo o de la molécula biológica a la fase acuosa a).

22. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 17 a 21, que comprende además una etapa e) posterior a la etapa d) que comprende la dialización de la mezcla.

23. Procedimiento según la reivindicación 22, que comprende además una etapa f) posterior a la etapa e) que comprende la liofilización de la mezcla.

24. Procedimiento según la reivindicación 23, que comprende además una etapa g) posterior a la etapa f) que comprende la rehidratación de los nanogeles.

25. Uso del hidrogel como se ha definido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, para preparar un medicamento.

26. Uso del hidrogel según la reivindicación 25, donde el medicamento es para el tratamiento de enfermedades oftálmicas.

27. Uso del hidrogel como se ha definido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en sistemas capaces de secuestrar sustancias tóxicas, moléculas producidas por organismos vivos, agentes contaminantes o residuos líquidos.

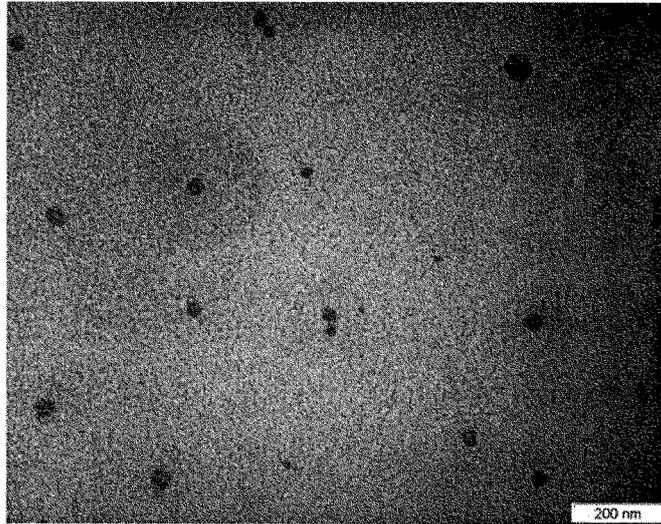


Figura 1.

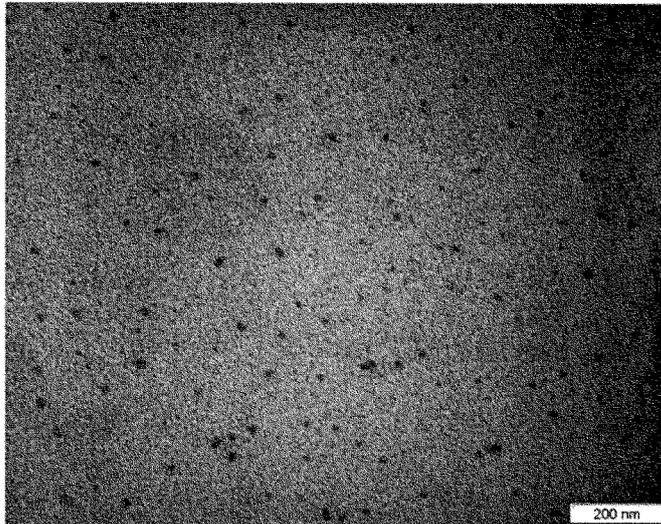


Figura 2.

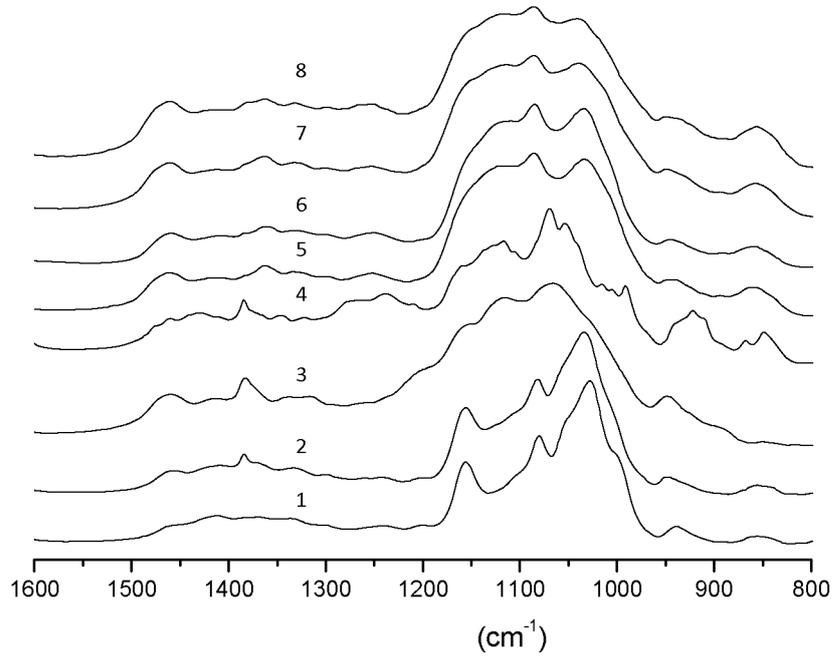


Figura 3

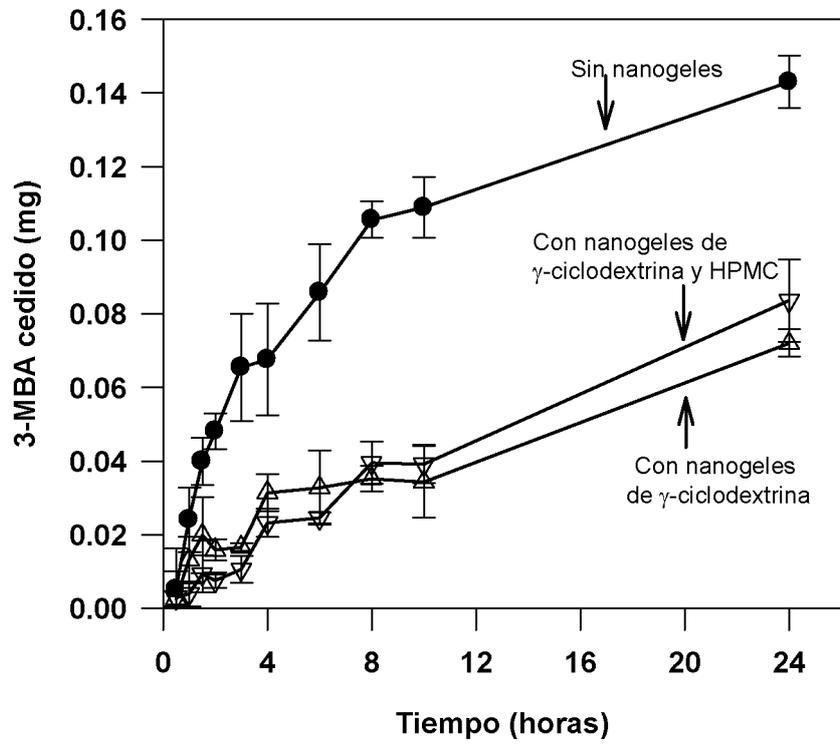


Figura 4

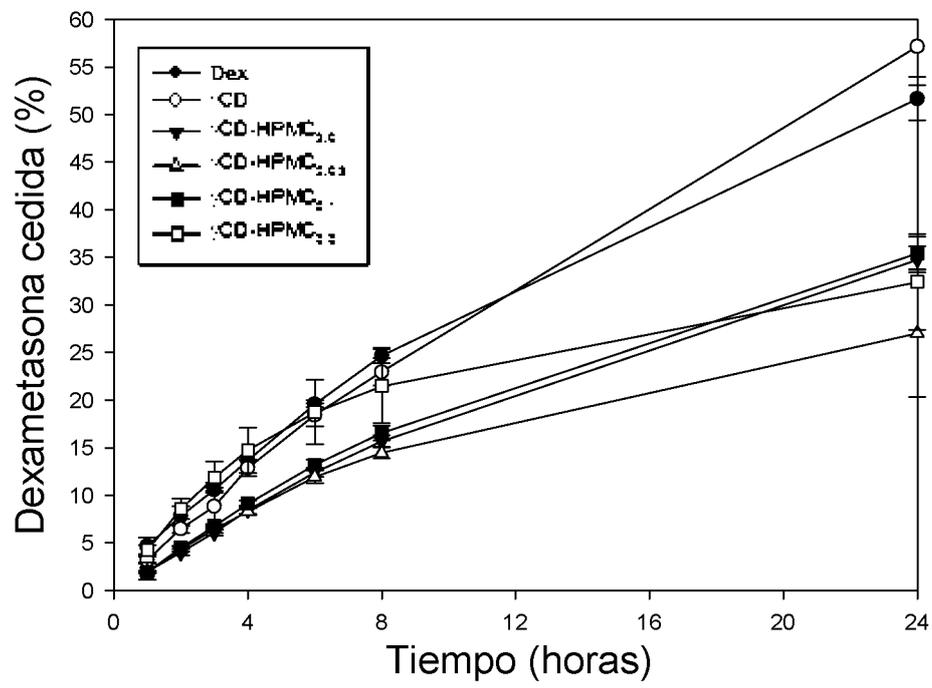


Figura 5



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②¹ N.º solicitud: 201131575

②² Fecha de presentación de la solicitud: 29.09.2011

③² Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤¹ Int. Cl.: **C08B37/16** (2006.01)
A61K47/40 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	ES 2310948 A1 (UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA) 16.01.2009, página 6, línea 34 – página 9, línea 24; ejemplos.	1-27
A	RODRÍGUEZ-TENREIRO, C. et al.; Estradiol sustained release from high affinity cyclodextrin hydrogels; European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 2007, volumen 66, páginas 55-62; ISSN 0939-6411.	1-27
A	RODRÍGUEZ-TENREIRO, Carmen et al.; New cyclodextrin hydrogels cross-linked with diglycidylethers with a high drug loading and controlled release ability; Pharmaceutical Research enero 2006, volumen 23, número 1, páginas 121-130; ISSN 1573-904X.	1-27
A	US 6048736 A1 (KOSAK) 11.04.2000, columna 1, líneas 11-18; columna 15, líneas 16-21; ejemplos.	1-27
A	US 4596795 A1 (PITHA) 24.06.1986, columna 1, líneas 6-9; columna 2, líneas 14-25.	1-27
A	US 4535152 A1 (SZEJTLI et al.) 13.08.1985, columnas 3,4.	1-24

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
19.12.2011

Examinador
N. Vera Gutiérrez

Página
1/4

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

C08B, 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, CAS, WPI, EMBASE, BIOSIS, MEDLINE, NPL

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 16.12.2011

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-27	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 1-27	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	ES 2310948 A1	16.01.2009
D02	RODRÍGUEZ-TENREIRO, C. et al.; European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 2007, volumen 66, páginas 55-62; ISSN 0939-6411.	2007
D03	RODRÍGUEZ-TENREIRO, Carmen et al.; Pharmaceutical Research enero 2006, volumen 23, número 1, páginas 121-130; ISSN 1573-904X.	2006
D04	US 6048736 A1	11.04.2000
D05	US 4596795 A1	24.06.1986
D06	US 4535152 A1	13.08.1985

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 hidrogel caracterizado por un diámetro hidrodinámico medio inferior a 1 micrómetro, que comprende una matriz de ciclodextrinas, donde las ciclodextrinas están unidas entre sí a través de un espaciador al que se unen mediante un grupo éter o amino. Se refiere también al procedimiento de preparación del hidrogel y al uso del mismo para preparar un medicamento o en sistemas para secuestrar sustancias tóxicas.

En los documentos D01-D06 se describen hidrogeles de ciclodextrinas en cuya preparación se han empleado moléculas que contienen grupos glicidiléteres como agente reticulante. Pueden incorporarse también otros polímeros del tipo éteres de celulosa o goma guar. Los procedimientos de obtención recogidos en estos documentos consisten en la mezcla de un agente reticulante con una solución de ciclodextrinas y un agente acidificante o alcalinizante. La mezcla obtenida se homogeneiza y se transfiere a un molde donde se deja en reposo hasta que se completa la reticulación. Las composiciones obtenidas se utilizan en sistemas de liberación de fármacos y como agentes secuestrantes de sustancias biológicas o tóxicas.

Ninguno de los documentos citados divulga hidrogeles que comprendan una matriz de ciclodextrinas, donde las ciclodextrinas estén unidas entre sí a través de un espaciador al que se unen mediante un grupo éter o amino, que posean un diámetro hidrodinámico medio inferior a 1 micrómetro y que hayan sido obtenidos por el procedimiento detallado en la reivindicación 17.

Por ello, se considera que la invención recogida en las reivindicaciones 1-27 de la solicitud es nueva e implica actividad inventiva (Artículos 6.1 y 8.1 L.P.).