



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 341 165**

⑫ Número de solicitud: 200803135

⑮ Int. Cl.:
A61K 9/51 (2006.01)
A61K 47/36 (2006.01)
A61K 47/18 (2006.01)

⑫

SOLICITUD DE PATENTE

A1

⑫ Fecha de presentación: **28.10.2008**

⑬ Fecha de publicación de la solicitud: **15.06.2010**

⑭ Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
15.06.2010

⑰ Solicitante/s:
Universidade de Santiago de Compostela
Edificio CACTUS-Campus Sur
15782 Santiago de Compostela, A Coruña, ES

⑱ Inventor/es: **Paolicelli, Patrizia;**
Konat Zorzi, Giovanni;
Seijo Rey, Begoña;
Párraga Meneses, Jenny y
Sánchez Barreiro, Alejandro

⑲ Agente: **No consta**

⑳ Título: **Nanopartículas de ácido colomínico y derivados.**

㉑ Resumen:

Nanopartículas de ácido colomínico y derivados.
La presente invención se refiere nanopartículas constituidas por a) ácido colomínico o derivados y b) una molécula policatiónica o polianiónica o mezcla de estas moléculas, de bajo peso molecular, capaces de actuar como reticulantes iónicos del colomínico o sus derivados estableciendo interacciones de tipo electrostático. Adicionalmente, la invención se refiere a composiciones farmacéuticas, cosméticas, de higiene personal y nutricionales que comprenden dicho sistema de nanopartículas, así como a procedimientos para su preparación y usos del mismo.

ES 2 341 165 A1

DESCRIPCIÓN

Nanopartículas de ácido colomínico y derivados.

5 **Sector de la técnica**

La presente invención se refiere a sistemas nanoparticulares que pueden ser empleados para la administración de ingredientes activos, las composiciones de dichos sistemas y un procedimiento para su elaboración.

10 **Antecedentes**

Los sistemas nanoparticulares, presentan un enorme potencial claramente reconocido en numerosos campos, habiendo despertado un gran interés sobre todo en el campo biomédico (U.S. Food and Drug Administration. Nanotechnology, A Report of the U.S. Food and Drug Administration Nanotechnology Task Forcé, FDA Ed., Rockville, MD, July 2007), (OMS, Initiative for Vaccine Research of the Department of Immunization, Vaccines and Biologicals, *WHO/IVB/06.03*, WHO Ed., Geneva, Switzerland, April 2006). A pesar de ello, los sistemas nanoparticulares desarrollados hasta la fecha presentan una serie de limitaciones que inducen a la idea general de que es necesario el desarrollo de nuevos sistemas capaces de alcanzar el reto que supone el adecuado aprovechamiento de su reconocido potencial (M. Friede and M.T. Aguado, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57, 2005, 325-31); (T.G. Park, J.H. Jeong, S.W. Kim, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58, 2006, 467-486).

Las causas de dichas limitaciones son diversas.

Considerando el caso concreto de las nanopartículas a base de quitosano, polímero citado ampliamente en la literatura como indispensable para la formación de las mismas por reticulación iónica, recientemente se ha señalado la citotoxicidad asociada a dichas nanopartículas de quitosano, que se ha relacionado directamente con la carga eléctrica superficial de estos sistemas (B. Loretz and A. Bernkop-Schnürch, *Nanotoxicology*, 1, 2007, 139-148). Este tipo de resultados de toxicidad preocupan especialmente a agencias regulatorias como la FDA, la cual cree importante no perder de vista aspectos como la importante carga positiva asociada a algunos sistemas nanoparticulares (U.S. Food and Drug Administration. Nanotechnology, A Report of the U.S. Food and Drug Administration Nanotechnology Task Forcé, FDA Ed., Rockville, MD, July 2007).

Por otro lado, en el caso de nanosistemas destinados a administración sistémica, los problemas de toxicidad y/o efectos adversos o no deseados asociados a la carga superficial o las características propias de los materiales empleados hasta ahora en su desarrollo, cobran especial importancia. De hecho, aunque un sistema con carga neta positiva pueda resultar de gran interés como vehículo de administración tópica, esa carga positiva también puede suponer un problema cuando dichos sistemas llegan a nivel sistémico o bien en el caso de que se administren directamente por vía sistémica ya que, sin duda, dará lugar a hemoaglutinación y otros efectos adversos relacionados con su interacción con componentes naturales del organismo (Kainthan *et al.*, *Biomaterials* 27, 2006, 5377-5390).

Consideraciones como las anteriormente expuestas han llevado recientemente a sugerir el interés de investigar la aplicación de nanotecnologías a nuevos materiales y desarrollar, de este modo, nuevos sistemas nanoparticulares (U.S. Food and Drug Administration, FDA Consumer magazine, FDA Ed., November-December 2005 Issue, 2005).

45 **Descripción de la invención**

En la presente invención se entiende por “nanopartícula” un sistema estable y de características homogéneas, reproducibles y modulables, perfectamente diferenciables de sistemas autoensamblados o complejos, que se forman como resultado de un proceso controlado de entrecruzamiento ionotrópico de ácido colomínico o sus derivados con moléculas polianiónicas o policationónicas capaces de actuar como reticulantes de los componentes anteriores estableciendo interacciones de tipo electrostático. Fruto de dicho proceso controlado se obtienen nanopartículas de tamaño y carga superficial predeterminadas, homogéneas, ajustables y reproducibles, que pueden comprender además uno o varios ingredientes activos o un elemento o un compuesto adicional.

En la presente invención se entiende por “ingrediente activo” 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.

En un aspecto, la presente invención se dirige a nanopartículas que comprenden a) ácido colomínico o derivados, y b) una molécula policationónica o polianiónica o mezcla de estas moléculas, de bajo peso molecular, capaces de actuar como reticulantes de los componentes anteriores estableciendo interacciones de tipo electrostático.

Opcionalmente comprenden además uno o varios polímeros dotados de carga eléctrica, seleccionados entre polianiones o policationes, con la intención de modular la composición o carga eléctrica superficial de las nanopartículas. Dependiendo de la relación de cargas de la composición final se seleccionará como agente reticulante una molécula o mezcla de moléculas de naturaleza catiónica o aniónica.

En un aspecto particular, las nanopartículas tienen un tamaño inferior a 1 micrómetro.

En un aspecto particular, los reticulantes policationicos se seleccionan preferentemente entre aminos de bajo peso molecular, espermina, espermidina, o sus sales. En otro aspecto particular, los reticulantes polianiónicos se seleccionan preferentemente entre sales de citrato, tripolifosfato o sulfato.

En otro aspecto particular, los polímeros dotados de carga se seleccionan preferentemente entre sulfatos de dextranos, dextranos cationizados, carragenina, glucomanano, glicosaminoglicanos como hialurónico, heparina o condroitina y sus sales, poliaminoácidos como la polilisina o la poliarginina, proteínas modificadas como gelatina cationizada o gelatina recombinante, atelocolágeno y atelocolágeno cationizado.

En otro aspecto, la invención se dirige hacia las nanopartículas previamente descritas que comprenden además uno o varios ingredientes activos.

Dichos ingredientes activos se seleccionan entre péptidos, proteínas, compuestos lipídicos, compuestos sacarídicos, compuestos lipofílicos, compuestos de ácidos nucleicos o nucleótidos o sus derivados o bien combinaciones de las moléculas citadas.

En otro aspecto, la invención se dirige hacia las nanopartículas previamente descritas que comprenden además un elemento o compuesto destinado a facilitar el seguimiento de dichas nanopartículas tras su aplicación a un ser vivo; asimismo se dirige a nanopartículas que comprenden además un componente con capacidad de interacción específica con determinados componentes biológicos, como un anticuerpo, un aptámero o un compuesto con especial afinidad por algún tipo de receptor existente en los seres vivos o que haga posible, propicie, facilite o refuerce un efecto biológico, como un adyuvante, un inmunomodulador (inmunosupresor o inmunoestimulador).

En otro aspecto particular, las nanopartículas comprenden adicionalmente un elemento o compuesto estabilizante, de tipo lipídico, graso u oleoso, lipofílico, sacarídico, derivado de óxido de etileno o compuesto tipo morfolino.

En otro aspecto, la presente invención se dirige a un procedimiento de reticulación iónica para la obtención de dichas nanopartículas que comprende:

a) preparar una disolución acuosa de ácido colomínico o sus derivados,

b) preparar una disolución de una molécula policationica o polianiónica o mezcla de estas moléculas, de bajo peso molecular dotadas de carga eléctrica, capaces de actuar como reticulantes iónicos del colomínico o sus derivados estableciendo interacciones de tipo electrostático,

c) mezclar las disoluciones de las etapas a y b, y opcionalmente adicionar una disolución de uno o varios polímeros dotados de carga eléctrica con la intención de modular la composición y/o carga eléctrica superficial de las nanopartículas. Dichos polímeros son adicionados a la disolución a) o b), dependiendo de la naturaleza catiónica o aniónica de los mismos, o bien, si tienen carga eléctrica opuesta a la de a) y b), se adicionan a la mezcla resultante de la etapa c).

Dependiendo de la relación de cargas de la composición final se selecciona como agente reticulante una molécula o mezcla de moléculas de naturaleza catiónica o aniónica.

En un aspecto particular, este procedimiento se dirige a la preparación de nanopartículas que comprenden además uno o varios ingredientes activos, que comprende una etapa de adición de una disolución de un ingrediente activo en la etapa a), b) o c) o bien a la nanopartícula resultante del procedimiento.

En otro aspecto, la invención se refiere al uso de nanopartículas, como se describen en la memoria, en la preparación de un medicamento.

En un aspecto particular, dicho medicamento es para terapia génica, silenciamiento o interferencia genética, o vacunación genética.

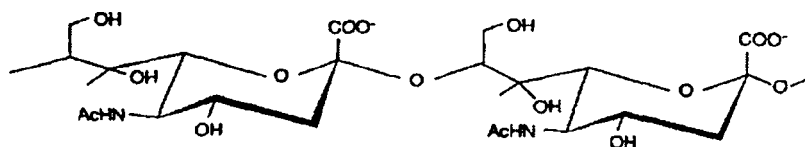
En otro aspecto, la invención se refiere a una composición farmacéutica, que comprende las nanopartículas anteriores, y que opcionalmente pueden además comprender uno o más ingredientes activos.

En un aspecto particular, dichas composiciones farmacéuticas son de aplicación en cosmética, higiene, limpieza, estética, o bien de interés en terapia celular o ingeniería de tejidos, así como de aplicación para tratar, acondicionar, modificar o restablecer las características de agua, alimentos o suplementos nutricionales.

Descripción detallada de la invención

El material empleado en los sistemas nanoparticulares de la presente invención es el ácido colomínico y sus derivados. El ácido colomínico es un polímero perteneciente a la familia de los ácidos polisíálicos, polímeros naturales de origen bacteriano. Es un polímero lineal constituido por residuos de ácido N-acetilneuramínico (Neu5Ac; también conocido como ácido siálico), un constituyente natural de células y tejidos, unidos por enlaces glicosídicos α -(2→8).

Cada residuo de ácido N-acetilneuramínico posee un grupo carboxilo, responsable de la carga negativa del ácido colomínico. Se trata de un material de indudable interés en el campo farmacéutico y cosmético, por ser biocompatible y biodegradable, no inmunogénico, cuyos productos de degradación no son tóxicos (Gregoriadis G *et al.* Cell. Mol. Life Sci. 2000, 57, 1964-1969). Por otro lado, los ácidos polisialícos están caracterizados por tener, entre otras propiedades, una semivida plasmática muy larga, por lo que han sido propuestos como alternativa a los derivados de polietilenglicol para prolongar el tiempo de permanencia en el plasma de fármacos y sistemas de liberación de moléculas bioactivas, como los liposomas. De hecho, en la patente "WO/2008/033253 - Liposome complexes containing pharmaceutical agents and methods" se recurre a su empleo para modificar en superficie liposomas preformados. Por último, teniendo en cuenta sus características estructurales, este material ofrece la posibilidad de su modificación, por ejemplo de la introducción de grupos amino y consiguiente cationización.



Estructura del ácido colomínico

Para la preparación de las nanopartículas de ácido colomínico se ha recurrido a una de las técnicas empleadas en la preparación de nanopartículas, denominada reticulación iónica, o también gelificación iónica o ionotrópica. De modo tradicional esta técnica ha sido desarrollada para moléculas dotadas de carga eléctrica que, en presencia de agentes reticulantes de tipo iónico, dan lugar a la formación de sistemas que, a diferencia de los complejos, se caracterizan por ser estructuras matriciales en las que la molécula bioactiva asociada se encuentra total o parcialmente atrapada en el seno de la matriz polimérica constitutiva de las mismas y generada en el proceso de entrecruzamiento ionotrópico. Esta matriz polimérica se obtiene como resultado de uniones iónicas inter- e intra-moleculares entre el reticulante iónico y la macromolécula con carga eléctrica, que gelifica espontáneamente bajo forma nanoparticular. Este mecanismo de formación aporta, como valor añadido con respecto a los complejos, una protección de la molécula bioactiva frente al medio externo que no pueden aportar en igual medida aquellos. Consecuentemente, se trata de una técnica suave, rápida, económica, fácilmente reproducible y escalable y que requiere de una tecnología muy simple, aspectos todos ellos de indudable interés para la industria.

En un modo, la presente invención proporciona un procedimiento optimizado y adaptado que permite preparar nanopartículas basadas en ácido colomínico o derivados que se forman mediante la incorporación de una molécula polianiónica o policationica o una mezcla de estas moléculas, de bajo peso molecular, capaces de actuar como reticulantes.

En la composición de las nanopartículas objeto de la presente invención opcionalmente pueden formar parte polímeros polianiónicos o policationicos con la finalidad de modular las características de las mismas. De modo más específico, mediante una adecuada selección de la composición y de los parámetros de formulación es posible modular las características de las nanopartículas que más importancia presentan en su interacción con los medios biológicos, como son tamaño de partícula, carga eléctrica superficial y composición. Por consiguiente, la presente invención se refiere al desarrollo de nanopartículas de una gran versatilidad.

Dependiendo de la mezcla de polímeros seleccionada y de la proporción de los mismos en dicha mezcla, se selecciona un agente reticulante de tipo aniónico o catiónico para conseguir el entrecruzamiento ionotrópico adecuado.

El procedimiento de reticulación iónica que proporciona la presente invención para la obtención de dichas nanopartículas es una técnica rápida, económica, fácilmente reproducible y escalable y que requiere de una tecnología muy simple, aspectos todos ellos de indudable interés para la industria. Este procedimiento evita el empleo de disolventes orgánicos y de agentes reticulantes de tipo químico, así como de condiciones físico-químicas drásticas, no siendo necesario tampoco llevar a cabo ningún tipo de reacción química para la obtención de las nanopartículas, de modo que se obtienen de forma espontánea en una única etapa de simple mezcla de componentes.

En un modo particular, la presente invención se dirige a un procedimiento que comprende además una etapa de adición de una disolución de uno o varios ingredientes activos, tal y como se describió anteriormente.

En un modo particular, la presente invención se dirige a un procedimiento que comprende además una etapa de adición de una disolución de uno o varios elementos o compuestos destinados a facilitar el seguimiento de las nanopartículas tras su aplicación a un ser vivo, o que haga posible, propicie, facilite o refuerce su efecto, como un adyuvante, un inmunomodulador (inmunosupresor o inmunostimulador).

En un modo particular, la presente invención se dirige a un procedimiento que comprende además una etapa de adición de uno o varios elementos o compuestos que tengan capacidad de interacción específica con determinados componentes biológicos, como un anticuerpo, un aptámero o un compuesto con especial afinidad por algún tipo de receptor existente en los seres vivos.

En un modo particular, la presente invención se dirige a un procedimiento que comprende además una etapa de adición de uno o varios elementos o compuestos estabilizantes, de tipo lipídico, graso u oleoso, sacarídico, un derivado de aminoácido o proteico, un derivado de óxido de etileno o un compuesto de tipo morfolino.

5 Todos los compuestos que pueden ser incorporados al sistema de nanopartículas de la invención mencionados anteriormente, se pueden adicionar a las soluciones de los polímeros constituyentes de las nanopartículas previamente a la formación de las mismas o bien pueden ser adicionados a las nanopartículas una vez formadas.

10 En un modo más particular, la presente invención se dirige a un procedimiento que comprende además una etapa de adición de ingredientes lipofílicos. Estos ingredientes lipofílicos son disueltos en primer lugar en un pequeño volumen de un disolvente orgánico, de un aceite o compuesto lipídico o lipofílico, o de una mezcla de agua y los compuestos anteriormente mencionados, el cual seguidamente se adicionará a una de las disoluciones acuosas mencionadas con anterioridad, de forma que la concentración en peso del disolvente orgánico, aceite o compuesto lipídico o lipofílico, en la disolución final sea siempre menor al 95%.

15 En otro modo, el procedimiento de elaboración de las nanopartículas mencionadas puede incluir una etapa adicional de liofilización, con el fin de preservarlas durante su almacenamiento para que conserven sus características iniciales. Por otra parte, el grado de reticulación de las nanopartículas puede aumentar con este proceso, ya que puede tener lugar una aproximación entre las cadenas poliméricas, lo que facilita que aumente el grado de entrecruzamiento polimérico, así como que se potencie el efecto del agente reticulante. Para la liofilización de las nanopartículas puede ser únicamente necesaria la adición de pequeñas cantidades de azúcares u otras moléculas que actúen como crioprotectores o lioprotectores. En un modo particular, las nanopartículas liofilizadas pueden regenerarse en una etapa adicional del procedimiento.

25 En un aspecto adicional, la presente invención se dirige a una composición farmacéutica que comprende el sistema de nanopartículas previamente descrito.

30 Las composiciones farmacéuticas según la invención, incluyen cualquier composición líquida (es decir, suspensión o dispersión de las nanopartículas de la invención) para aplicación por vía oral, bucal, sublingual, tópica, ocular, nasal, pulmonar, ótica, vaginal, intrauterina, rectal, entérica o parenteral, o cualquier composición en la forma de gel, pomada, crema o bálsamo para su administración por vía tópica, ocular, nasal, vaginal o rectal.

35 En una realización particular, la composición se administra por vía oral. En este caso, las nanopartículas presentan la ventaja adicional de ser estables en los fluidos gastrointestinales, por lo que pueden alcanzar el tejido epitelial intestinal sin sufrir degradación alguna y liberar allí el principio activo.

40 Debido a sus buenas propiedades para la administración sobre o a través de la piel, y a su estabilidad duradera, el sistema de nanopartículas de la invención también es adecuado para aplicaciones cosméticas. Por lo tanto, en otro aspecto, la invención se dirige a una composición cosmética que comprende el sistema de nanopartículas previamente descrito. Las composiciones cosméticas según la invención incluyen cualquier composición líquida (suspensión o dispersión de nanopartículas) o cualquier composición que comprenda el sistema de la invención y que esté en la forma de gel, crema, pomada o bálsamo para su administración por vía tópica.

45 Dicha composición cosmética puede ser aplicada a diversas partes superficiales del cuerpo humano o animal tal como la piel, sistema piloso y capilar, uñas, labios y órganos genitales externos, y a dientes o mucosas del cuerpo humano o animal.

50 En una realización particular de la invención, la composición que comprenda el sistema de la invención tiene una finalidad de higiene personal, o tiene el fin de perfumar, modificar el aspecto de la superficie corporal y/o corregir olores corporales y/o protegerla o mantenerla en buen estado.

55 En una variante de la invención, la composición cosmética o de higiene personal también puede incorporar moléculas activas de naturaleza lipófila e hidrófila que, aunque no tengan ningún efecto terapéutico, tienen propiedades como agente cosmético o de higiene personal. Entre las moléculas activas que pueden incorporarse en las nanopartículas pueden citarse agentes emolientes, conservantes, sustancias de fragancia, agentes antiacné, agentes antifúngicos, anti-oxidantes, desodorantes, antitranspirantes, agentes contra la caspa, despigmentantes, agentes blanqueadores, agentes antiseborreicos, tintes, bronceadores, absorbentes de luz UV, enzimas, entre otros.

60 En otro aspecto, la invención se refiere a una composición nutricional que comprende el sistema de nanopartículas previamente descrito. Dicha composición nutricional puede ser un alimento, un suplemento dietético o un suplemento nutricional. Las composiciones nutricionales pueden incluir leche, yogures, zumos de fruta y de vegetales, postres, productos infantiles o productos deshidratados. La adición de las nanopartículas a la composición nutricional se realiza mediante mezcla y homogenización según el procedimiento técnico para elaborar cada producto. Adicionalmente, otros componentes tales como las vitaminas pueden añadirse a la composición nutricional. Ejemplos de estos compuestos son vitaminas del grupo A, B, C, D, E, ácido fólico o mezcla de los mismos.

Debido al potencial de las nanopartículas de la presente invención *per se* o bien las nanopartículas con uno o varios ingredientes activos asociados, resultan adecuadas para:

- la preparación un medicamento destinado al tratamiento o prevención de enfermedades en seres humanos o animales o que pueda usarse en o administrarse por cualquier vía a seres humanos o animales con el fin de restablecer, corregir o modificar las funciones fisiológicas ejerciendo una acción farmacológica, inmunológica, metabólica, o de modificar la expresión de genes, o de establecer un diagnóstico médico o veterinario.
- la preparación un medicamento para transferir, *in vivo* o *ex vivo*, un gen profiláctico, de diagnóstico o terapéutico, tal y como un fragmento de ácido nucleico, a células humanas/animales o a cultivos celulares primarios o modificados.
- la manipulación o alteración de las características biológicas de cultivos celulares, incluyendo dicha manipulación la expansión o activación de poblaciones celulares y la adaptación de células para su asociación efectiva a productos sanitarios tales como micropartículas o microcápsulas, matrices y andamiajes intrínsecos, biodegradables o no biodegradables, así como el posterior empleo de dichas células o grupos celulares para obtener un efecto terapéutico, diagnóstico, preventivo, o con fines regenerativos, o bien para modificar la producción de compuestos por células con fin de producción biotecnológica.
- la preparación de un medicamento, un producto cosmético o de higiene personal o un alimento con el fin de modificar, corregir o introducir nuevas propiedades organolépticas o mejorar su estabilidad.
- el acondicionamiento, modificación o restablecimiento de las características de agua, alimentos o suplementos nutricionales, así como para modificar, corregir o introducir nuevas propiedades organolépticas o mejorar la estabilidad de los mismos y para facilitar o hacer posible la administración de alimentos o nutrientes a seres vivos.
- el acondicionamiento, preservación, protección o modificación de las características de productos industriales, así como para modificar, corregir o introducir nuevas propiedades en los mismos o mejorar su estabilidad.

La composición, tamaño y carga superficial de las nanopartículas puede ser modulada mediante una adecuada selección de los componentes que las constituyen. Dicha modulación permite desarrollar sistemas muy versátiles, puesto que aquellos que posean una carga positiva presentan una interacción favorable con las superficies biológicas del organismo, por encontrarse estas últimas cargadas negativamente. Por otro lado, las nanopartículas de carga superficial negativa se muestran especialmente adecuadas cuando se pretende que lleguen a nivel sistémico, ya que no darán lugar a fenómenos de hemoaglutinación ni otros efectos adversos relacionados con su interacción con componentes naturales del organismo sino que, por el contrario, se benefician del prolongado tiempo de permanencia en fluidos biológicos como el plasma descrita para el colomínico.

Explicación de las figuras

La Figura 1 muestra las Imágenes de TEM de sistemas nanoparticulares asociando material genético elaboradas a base de ácido colomínico (A y B). En dichas imágenes puede comprobarse que los sistemas nanoparticulares presentan una forma regular esférica y un tamaño de partícula homogéneo.

La Figura 2. muestra las Imágenes de TEM de sistemas nanoparticulares asociando material genético elaboradas a base de ácido colomínico y poliarginina en una relación 3/1 (C y D). En dichas imágenes puede comprobarse que los sistemas nanoparticulares presentan una forma regular esférica y un tamaño de partícula homogéneo.

Figura 3. Imágenes de gel de electroforesis correspondiente a los sistemas nanoparticulares asociando material genético elaboradas a base de ácido colomínico/gelatina cationizada con etilendiamina en distintas relaciones (Líneas B, C, D, E). El patrón de migración del plásmido libre se muestra en la línea A.

Figura 4. Imágenes de gel de electroforesis correspondiente a los sistemas nanoparticulares asociando material genético elaboradas a base de ácido colomínico/gelatina cationizada (GC) con espermina de diferente peso molecular (MW) y punto isoeléctrico (PI) (GC 1: MW 238 - P.I. 10.9; GC 2: MW 137 - P.I. 10.82; GC 3: MW 238 - P.I. 10.13; GC 4: MW 137 - P.I. 10.36), en distintas relaciones (Líneas C, D, E, F, G). El patrón de migración del marcador de peso molecular y del plásmido libre se muestran en las líneas A y B, respectivamente.

A continuación, para una mayor comprensión de las características y ventajas de la presente invención, se hace referencia a una serie de ejemplos que de forma explicativa completan la descripción anterior, sin suponer en modo alguno que ésta se vea limitada a los mismos.

Durante la exposición de algunos de los siguientes ejemplos se hace referencia a resultados obtenidos mediante las siguientes técnicas:

El tamaño de partícula ha sido determinado mediante la técnica de espectroscopia de correlación fotónica (PCS) y haciendo uso, para ello, de una Zeta Sizer (Zeta Sizer, Nano series, Nano-ZS, Malvern Instruments, UK) obteniendo el tamaño medio de la población y el índice de polidispersión de la misma. Para ello las muestras fueron convenientemente diluidas en agua mili-Q.

El potencial Zeta partícula ha sido determinado mediante la técnica de anemometría por dispersión de láser (LDA) y haciendo uso, para ello, de una Zeta Sizer (Zeta Sizer, Nano series, Nano-ZS, Malvern Instruments, UK). Para ello las muestras fueron convenientemente diluidas en una disolución milimolar de KCl.

La eficiencia de asociación de material genético a las nanopartículas ha sido determinada mediante la técnica de electroforesis en gel de agarosa. Para ello se preparó un gel de agarosa al 1% en tampón TAE (Tris-Acetato-EDTA, Tris 40 mM, Ácido acético 1%, EDTA 1 mM) pH 8 con bromuro de etidio (10 mg/mL, 5 μ L) y se utilizó un tampón de carga y marcador de migración compuesto de glicerina (30%), azul de bromofenol (0.25%) y xileno cianol (0.25%). Se aplicó una diferencia de potencial de 100 mV durante 30 minutos y se empleó material genético libre como control.

Ejemplo 1

Preparación de nanopartículas elaboradas a base de ácido colomínico y asociación a las mismas de un ingrediente activo

Se prepararon nanopartículas de ácido colomínico según el procedimiento previamente descrito. Se procedió a la asociación a las mismas de una macromolécula hidrofílica bioactiva en su composición, seleccionando para tal fin material genético, concretamente un plásmido, el pEGFP. Se trata de una macromolécula bioactiva cargada negativamente, por lo que se incorporó junto al ácido colomínico, para evitar la aparición de interacciones previas a la formación de las partículas.

Para ello se preparó una disolución acuosa de ácido colomínico (1 mg/mL) en agua mili-Q. Como agente reticulantes se empleó una solución acuosa de espermina (1.5 mg/mL) en agua mili-Q. El correspondiente material genético se incorporó a la disolución de ácido colomínico en una proporción del 5% en peso con respecto a las moléculas citadas. Tras mezclar las disoluciones mencionadas se obtuvieron nanopartículas con un tamaño medio de partícula de 702 ± 20 nm (índice de polidispersión de 0.30) y una carga eléctrica superficial negativa de -11.0 ± 0.3 mV.

Ejemplo 2

Caracterización morfológica de nanopartículas elaboradas a base de ácido colomínico conteniendo un ingrediente activo

Se prepararon nanopartículas a partir de ácido colomínico según el procedimiento previamente descrito, conteniendo material genético en forma plasmídica, pEGFP, (carga de 2.5%). Los sistemas fueron caracterizadas morfológicamente mediante microscopía de transmisión (TEM) (CM12, Philips, Eindhoven, The Netherlands), utilizando ácido fosfotúngstico 1% como agente de contraste. La Figura 1. muestra las correspondientes imágenes. En dichas imágenes puede comprobarse que los sistemas nanoparticulares presentan una forma regular esférica y un tamaño de partícula homogéneo.

Ejemplo 3

Preparación de nanopartículas elaboradas a base de ácido colomínico de carga eléctrica superficial modulable mediante incorporación de poliarginina. Asociación a las mismas de un ingrediente activo

Se prepararon nanopartículas de ácido colomínico incorporando poliarginina, según el procedimiento previamente descrito. La carga opuesta de dichos polímeros se aprovechó para modular la carga eléctrica neta final de los sistemas elaborados a partir de mezclas de los mismos. Se procedió a la incorporación de una macromolécula hidrofílica bioactiva en su composición, seleccionando para tal fin material genético, concretamente un plásmido, el pEGFP. Se trata de una macromolécula bioactiva cargada negativamente, por lo que se incorporó junto al ácido colomínico o el agente reticulante tripolifosfato, de cargas también negativas, para evitar la aparición de interacciones previas a la formación de las partículas.

Para ello se prepararon disoluciones acuosas de ácido colomínico (0.1-1 mg/mL) y poliarginina (1-2 mg/mL) en agua mili-Q. Como agente reticulante se empleó tripolifosfato (TPP) en solución acuosa (0.0625-1 mg/mL) (agua mili-Q). El correspondiente material genético se incorporó en una proporción entre 2.5-5% en peso con respecto a los componentes anteriores. La molécula bioactiva se asoció a la disolución del ácido colomínico y el reticulante tripolifosfato y la disolución resultante se mezcló con la disolución de poliarginina, bajo agitación magnética, la cual se mantuvo durante media hora, permitiendo la completa evolución del sistema hacia una forma nanoparticular estable. Las relaciones entre los diversos componentes de los sistemas se muestran en la Tabla 1 Asimismo, dicha Tabla 1 muestra el diámetro medio y carga eléctrica superficial (potencial zeta) de los sistemas obtenidos. Tal y como puede apreciarse, ha sido posible modular la composición de las nanopartículas y sus propiedades fisicoquímicas. De este modo, aunque las nanopartículas elaboradas empleando sólo colomínico presentan carga eléctrica superficial negativa, el empleo de poliarginina en diversas proporciones con respecto al colomínico permite modular el valor de dicha carga, tanto en signo (sistemas de carga positiva o negativa) como en valor absoluto.

ES 2 341 165 A1

TABLA 1

Características físico-químicas de nanopartículas asociando material genético de carga superficial modulable elaboradas a base de ácido colomínico (CA) mediante incorporación de poliarginina (PA)

Relación de CA:PA:agente reticulante	Agente reticulante empleado	Contenido pDNA	Tamaño (nm)	Polid.	Potencial Z (mV)
3/2/0.75	tripolifosfato	5 %	146 ± 1	0.108	-16.6 ± 0.3
1.5/1/0.25	tripolifosfato	2.5 %	144 ± 5	0.145	-18.8 ± 3.3
1.5/1/0.125	tripolifosfato	2.5 %	169 ± 29	0.053	-9.8 ± 0.1
1.5/1/0.0625	tripolifosfato	2.5 %	140 ± 1.3	0.058	-14.4 ± 0.6
1/2/0.25	tripolifosfato	5 %	157 ± 11	0.247	+44.8 ± 1.8
1/2/0.75	tripolifosfato	5 %	149 ± 1	0.151	+27.8 ± 1.3
1/2/1	tripolifosfato	5 %	180 ± 4	0.179	+42.0 ± 1.4
0.75/2/0.25	tripolifosfato	5 %	120 ± 2	0.216	+25.4 ± 0.9
0.75/2/0.5	tripolifosfato	5 %	147 ± 2	0.215	+34.8 ± 1.1
0.75/2/0.75	tripolifosfato	5 %	143 ± 2	0.159	+26.5 ± 4.7
0.75/2/1	tripolifosfato	5 %	149 ± 4	0.187	+38.3 ± 2.0
0.5/2/0.25	tripolifosfato	5 %	110 ± 4	0.253	+25.0 ± 6.6
0.5/2/0.5	tripolifosfato	5 %	134 ± 4	0.240	+36.0 ± 0.9
0.5/2/0.75	tripolifosfato	5 %	177 ± 13	0.302	+35.1 ± 1.3
0.5/2/1	tripolifosfato	5 %	195 ± 4	0.299	+36.1 ± 0.2
0.25/2/0.25	tripolifosfato	5 %	123 ± 2	0.185	+22.7 ± 1.8
0.25/2/0.5	tripolifosfato	5 %	160 ± 4	0.263	+34.1 ± 2.3
0.25/2/0.75	tripolifosfato	5 %	200 ± 3	0.328	+53.1 ± 0.1
0.25/2/1	tripolifosfato	5 %	240 ± 16	0.363	+47.8 ± 0.4

Ejemplo 4

Caracterización morfológica de nanopartículas de carga superficial modulable elaboradas a base de ácido colomínico (CA) y poliarginina (PA) asociando un ingrediente activo

Se prepararon nanopartículas a partir de ácido colomínico y poliarginina según el procedimiento previamente descrito, conteniendo material genético en forma plasmídica, pEGFP, (carga de 2.5%). Los sistemas fueron caracterizadas morfológicamente mediante microscopía de transmisión (TEM) (CM12, Philips, Eindhoven, The Netherlands), utilizando ácido fosfotúngstico 1% como agente de contraste. La Figura 2 muestra las correspondientes imágenes. En dichas imágenes puede comprobarse que los sistemas nanoparticulares presentan una forma regular esférica y un tamaño de partícula homogéneo.

Ejemplo 5

Preparación de nanopartículas elaboradas a base de ácido colomínico de carga eléctrica superficial modulable mediante incorporación de gelatina cationizada con espermina. Asociación a las mismas de un ingrediente activo

Se prepararon nanopartículas de ácido colomínico, incorporando gelatina cationizada con espermina, según el procedimiento previamente descrito. La carga opuesta de dichos polímeros se aprovechó para modular la carga eléctrica neta final de los sistemas elaborados a partir de mezclas de los mismos. Se procedió a la asociación de una macromolécula hidrofílica bioactiva en su composición, seleccionando para tal fin material genético, concretamente un plásmido, el pEGFP. Se trata de una macromolécula bioactiva cargada negativamente, por lo que se incorporó junto al ácido colomínico o el agente reticulante tripolifosfato, de cargas también negativas, para evitar la aparición de interacciones previas a la formación de las partículas.

Para ello se prepararon disoluciones acuosas de ácido colomínico (0.5-1 mg/mL) y gelatina cationizada con espermina (2 mg/mL) en agua mili-Q. Como agentes reticulantes se emplearon soluciones acuosas del polianión tripolifosfato (TPP) (3 mg/mL) en agua mili-Q. El correspondiente material genético se incorporó en una proporción del 5% en peso con respecto a los componentes anteriores. La molécula bioactiva se incorporó a la disolución del ácido colomínico y reticulante tripolifosfato y la disolución resultante se mezcló con la disolución de gelatina cationizada con espermina, bajo agitación magnética, la cual se mantuvo durante media hora, permitiendo la completa evolución del sistema hacia una forma nanoparticular estable. Las relaciones entre los diversos componentes de los sistemas se muestran en la Tabla 2. Asimismo, dicha Tabla 2. muestra el diámetro medio y carga eléctrica superficial (potencial zeta) de los sistemas obtenidos. Tal y como puede apreciarse, ha sido posible modular la composición de las nanopartículas y sus propiedades fisicoquímicas. De este modo, aunque las nanopartículas elaboradas empleando sólo colomínico presentan carga eléctrica superficial negativa, el empleo de gelatina cationizada con espermina en diversas proporciones con respecto al colomínico permite modular el valor de dicha carga, tanto en signo (sistemas de carga positiva o negativa) como en valor absoluto.

(Tabla pasa a página siguiente)

ES 2 341 165 A1

TABLA 2

Características físico-químicas de nanopartículas asociando material genético de carga superficial modulable elaboradas a base de ácido colomínico (CA) mediante incorporación de gelatina cationizada con espermina A (GC). (MW y P.I.: Peso molecular y punto isoeléctrico, respectivamente, de la gelatina empleada)

Relación de CA:GC: agente reticulante	Gelatina cationizada empleada	Agente reticulante empleado	Tamaño (nm)	Polid.	Potencial Z (mV)
6:1:0.25	MW = 137 P.I. = 10,82	tripolifosfato	233 ± 35	0,144	+36,9 ± 3,8
6:1.5:0.25	MW = 238 P.I. = 10,9	tripolifosfato	300 ± 17	0,135	+41,8 ± 2,4
6:1.5:0.25	MW = 137 P.I. = 10,82	tripolifosfato	223 ± 20	0,134	+36,2 ± 1,5
6:1.5:0.25	MW = 238 P.I. = 10,13	tripolifosfato	166 ± 38	0,127	-17,6 ± 1,5
6:1.5:0.25	MW = 137 P.I. = 10,36	tripolifosfato	218 ± 29	0,074	-17,7 ± 4,2
6:2:0.25	MW = 238 P.I. = 10,9	tripolifosfato	233 ± 25	0,119	+37,1 ± 0,1

Ejemplo 6

Determinación de la capacidad de asociación de material genético a nanopartículas elaboradas a base de ácido colomínico

Se prepararon nanopartículas a partir de ácido colomínico/gelatina cationizada con etilendiamina o espermina según el procedimiento previamente descrito conteniendo material genético en forma plasmídica, pEGFP (carga de 2.5 y 5%). Las Figuras 3 y 4 muestran las correspondientes imágenes de los correspondientes geles de electroforesis. En dichas imágenes no se observan bandas de material genético libre, pudiendo comprobarse que las bandas correspondientes al dicho material genético se mantienen en los pocillos de salida asociadas a los sistemas nanoparticulares. En consecuencia, los sistemas nanoparticulares elaborados son capaces de asociar eficazmente material genético.

REIVINDICACIONES

1. Nanopartículas que comprenden a) ácido colomínico o derivados, y b) una molécula policationica o polianiónica o mezcla de estas moléculas, de bajo peso molecular, capaces de actuar como reticulantes iónicos del colomínico o sus derivados estableciendo interacciones de tipo electrostático.

2. Nanopartículas según la reivindicación 1, que comprenden además uno o varios polímeros dotados de carga eléctrica, seleccionados entre polianiones o policationes.

3. Nanopartículas según las reivindicaciones 1 y 2, donde el tamaño es inferior a 1 micrómetro.

4. Nanopartículas según las reivindicaciones anteriores, donde los reticulantes policationicos se seleccionan preferentemente entre aminas de bajo peso molecular, espermina, espermidina, o sus sales.

5. Nanopartículas según las reivindicaciones de 1 a 3, donde los reticulantes polianiónicos se seleccionan preferentemente entre sales de citrato, tripolifosfato o sulfato.

6. Nanopartículas según las reivindicaciones de 2 a 5, donde los polímeros dotados de carga que se pueden incorporar opcionalmente, se seleccionan preferentemente entre sulfatos de dextranos, dextranos cationizados, carragenina, glucomanano, glicosaminoglicanos como hialurónico, heparina o condroitina y sus sales, poliaminoácidos como la polilisina o la poliarginina, proteínas modificadas como gelatina cationizada o gelatina recombinante, atelocolágeno y atelocolágeno cationizado.

7. Nanopartículas según las reivindicaciones anteriores, que comprenden además uno o varios ingredientes activos.

8. Nanopartículas según la reivindicación 7, donde los ingredientes activos se seleccionan entre péptidos, proteínas, compuestos lipídicos, compuestos sacarídicos, compuestos lipofílicos, compuestos de ácidos nucleicos o nucleótidos o sus derivados o bien combinaciones de las moléculas citadas.

9. Nanopartículas según las reivindicaciones anteriores, que comprenden además un elemento o compuesto destinado a facilitar el seguimiento de dichas nanopartículas tras su aplicación a un ser vivo.

10. Nanopartículas según las reivindicaciones anteriores, que comprenden además un componente con capacidad de interacción específica con determinados componentes biológicos, como un anticuerpo, un aptámero o un compuesto con especial afinidad por algún tipo de receptor existente en los seres vivos o que haga posible, propicie, facilite o refuerce un efecto biológico, como un adyuvante, un inmunomodulador (inmunosupresor o inmunoestimulador).

11. Nanopartículas según las reivindicaciones anteriores, que comprenden además un elemento o compuesto estabilizante, de tipo lipídico, graso u oleoso, sacarídico, un derivado de aminoácido o proteico, un derivado de óxido de etileno o un compuesto de tipo morfolino.

12. Nanopartículas según la reivindicación 11, donde el elemento que se incorpora es preferentemente de tipo lipídico, graso u oleoso o lipofílico.

13. Nanopartículas según las reivindicaciones anteriores, **caracterizadas** porque están en forma liofilizada.

14. Procedimiento de reticulación iónica para la obtención de las nanopartículas según las reivindicaciones de 1 a 13, que comprende:

a) preparar una disolución de ácido colomínico o sus derivados,

b) preparar una disolución de una molécula policationica o polianiónica o mezcla de estas moléculas, de bajo peso molecular, capaces de actuar como reticulantes iónicos del colomínico o sus derivados estableciendo interacciones de tipo electrostático,

c) mezclar las disoluciones de las etapas a y b, y

opcionalmente, adicionar una disolución de uno o varios polímeros dotados de carga eléctrica, seleccionados entre polianiones o policationes en la etapa a) o b) o en la mezcla resultante de la etapa c).

15. Procedimiento de reticulación iónica según la reivindicación 14, que comprende además la adición de una disolución de uno o varios ingredientes activos en la etapa a), b) o c) o bien a la nanopartícula resultante del procedimiento.

16. Procedimiento de reticulación iónica según las reivindicaciones 14 y 15, que comprende además una etapa de adición de una disolución de uno o varios elementos o compuestos en la etapa a), b) o c) o bien a la nanopartícula resultante del procedimiento, destinados a facilitar el seguimiento de las nanopartículas tras su aplicación a un ser

ES 2 341 165 A1

- vivo, o que haga posible, propicie, facilite o refuerce un efecto biológico, como un adyuvante, un inmunomodulador (inmunosupresor o inmunoestimulador) o que tenga capacidad de interacción específica con determinados componentes biológicos, como un anticuerpo, un aptámero o un compuesto con especial afinidad por algún tipo de receptor existente en los seres vivos o compuestos estabilizantes, de tipo sacarídico, de tipo lipofílico, derivado de óxido de etileno o compuesto tipo morfolino.
17. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 14 a 16, **caracterizado** porque comprende una etapa adicional en la que se liofilizan las nanopartículas.
18. Procedimiento según la reivindicación 17, **caracterizado** porque comprende una etapa adicional en la que se regeneran las nanopartículas liofilizadas.
19. Una composición farmacéutica **caracterizada** porque comprende nanopartículas según las reivindicaciones 1 a 13.
20. Composición según la reivindicación 19, para la administración por vía oral, bucal, sublingual, tópica, ocular, nasal, pulmonar, ótica, vaginal, intrauterina, rectal, entérica o parenteral.
21. Una composición cosmética o de higiene personal que comprende un sistema como se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13.
22. Composición según reivindicación 21, para la administración sobre piel, sistema piloso y capilar, uñas, labios, órganos genitales externos, dientes o mucosas.
23. Composición según las reivindicaciones 21 y 22, que comprende además agentes emolientes, conservantes, sustancias de fragancia, agentes antiacné, agentes antifúngicos, antioxidantes, desodorantes, antitranspirantes, agentes contra la caspa, despigmentantes, agentes blanqueadores, agentes antiseborreicos, tintes, bronceadores, absorbentes de luz UV, o enzimas.
24. Una composición nutricional que comprende un sistema como se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13.
25. Uso de nanopartículas como se definen en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 en la preparación de un medicamento.
26. Uso según reivindicación 25, donde el medicamento es para terapia génica, silenciamiento o interferencia genética, o vacunación genética.
27. Uso de las nanopartículas según las reivindicaciones 1 a 13 para preparar un medicamento destinado al tratamiento o prevención de enfermedades en seres humanos o animales con el fin de restablecer, corregir o modificar las funciones fisiológicas ejerciendo una acción farmacológica, inmunológica o metabólica.
28. Uso de las composiciones según las reivindicaciones 21 a 23 con la finalidad de higiene y limpieza o de estética, o con el fin de perfumar, modificar el aspecto de la superficie corporal o corregir olores corporales o protegerla o mantenerla en buen estado.
29. Uso de las nanopartículas según las reivindicaciones 1 a 13 para preparar un medicamento para transferir, *in vivo* o *ex vivo*, un gen profiláctico, de diagnóstico o terapéutico, tal y como un fragmento de ácido nucleico, a células humanas o animales o a cultivos celulares primarios o modificados.
30. Uso de las nanopartículas según las reivindicaciones 1 a 13 para preparar una composición para manipular o alterar las características biológicas de cultivos celulares, incluyendo dicha manipulación la expansión o activación de poblaciones celulares y la adaptación de células para su asociación efectiva a productos sanitarios tales como micropartículas o microcápsulas, matrices y andamiajes intrínsecos, biodegradables o no biodegradables, así como el posterior empleo de dichas células o grupos celulares para obtener un efecto terapéutico, diagnóstico, preventivo, o con fines regenerativos, o bien para modificar la producción de compuestos por células con fin de producción biotecnológica.
31. Uso de las nanopartículas según las reivindicaciones 1 a 13 para acondicionar, modificar o restablecer las características de agua, alimentos o suplementos nutricionales, así como para modificar, corregir o introducir nuevas propiedades organolépticas o mejorar la estabilidad de los mismos y para facilitar o hacer posible la administración de alimentos o nutrientes a seres vivos.
32. Uso de las nanopartículas según las reivindicaciones 1 a 13 para acondicionar, preservar, proteger o modificar las características de productos industriales, así como para modificar, corregir o introducir nuevas propiedades en los mismos o mejorar su estabilidad.

Figura 1.

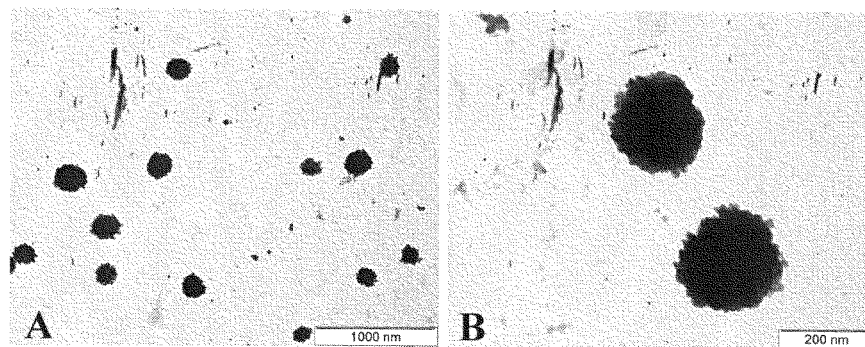


Figura 2.

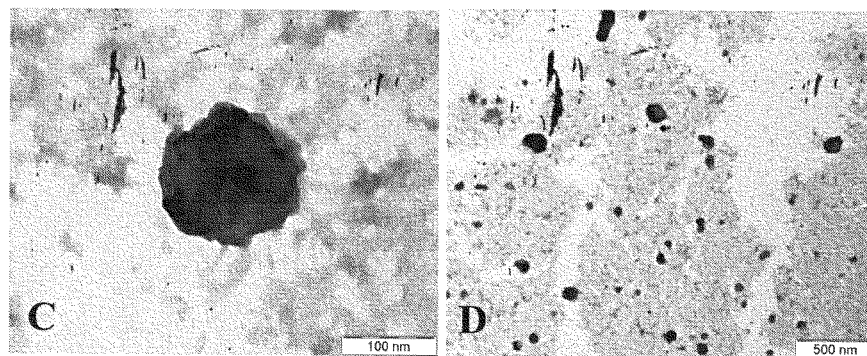


Figura 3.

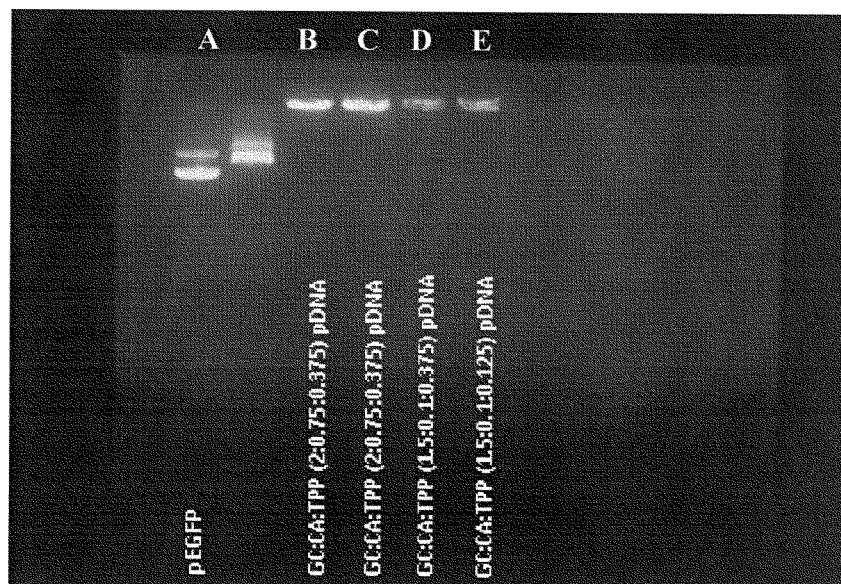
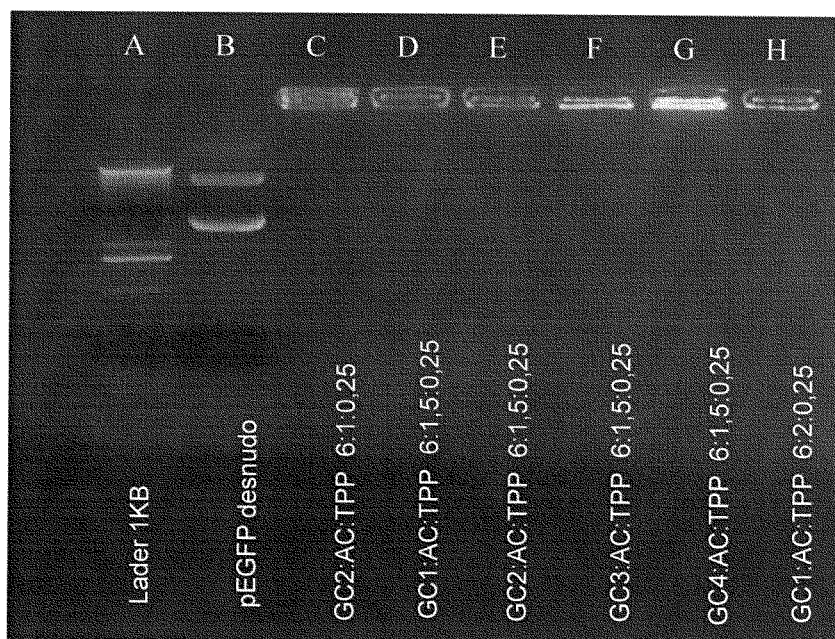


Figura 4.





OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ ES 2 341 165

⑫ Nº de solicitud: 200803135

⑬ Fecha de presentación de la solicitud: 28.10.2008

⑭ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑮ Int. Cl.: Ver hoja adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑯ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	US 2008213349 A1 (THAKKER et al.) 04.09.2008; párrafos [0005]-[0018]; ejemplo 3.	1-32
A	US 2005008572 A1 (PROKOP et al.) 13.01.2005; párrafos [0019]-[0044], [0063]-[0083]; ejemplo 8.	1-32
A	WO 9918934 A1 (VANDERBILT UNIVERSITY) 22.04.1999; página 4, línea 21 - página 6, línea 27; ejemplos 2-6; tabla I.	1-32
A	US 6383478 B1 (PROKOP et al.) 07.05.2002; columna 4, línea 35 - columna 7, línea 16; ejemplo 4.	1-32
A	US 2008254078 A1 (KAUPER et al.) 16.10.2008; párrafos [0019]-[0032], [0041]-[0045], [0053]-[0058]; ejemplos 1-3.	1-32
A	TIYABOONCHAI, WARE et al.; Formulation and characterization of amphotericin B-chitosan-dextran sulfate nanoparticles; International Journal of Pharmaceutics 329 (2007) páginas 142-149; ISSN 0378-5173.	1-32

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

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

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

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

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

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe

31.05.2010

Examinador

N. Vera Gutiérrez

Página

1/4

CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

A61K 9/51 (2006.01)

A61K 47/36 (2006.01)

A61K 47/18 (2006.01)

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

A61K

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

INVENES, EPODOC, WPI, CAS, EMBASE, BIOSIS, MEDLINE

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 31.05.2010

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	1-32	SÍ
	Reivindicaciones		NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	1-32	SÍ
	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 ha sido publicada.

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	US 2008213349 A1	04-09-2008
D02	US 2005008572 A1	13-01-2005

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 nanopartículas que comprenden: a) ácido colomínico y b) una molécula policatiónica o polianiónica de bajo peso molecular que actúa como reticulante del ácido colomínico, así como a su procedimiento de obtención y a su uso en el ámbito farmacéutico, cosmético, nutricional o de diagnóstico.

En el documento D01 se describen complejos de liposomas para la liberación de agentes terapéuticos o de diagnóstico en el lugar apropiado. Los complejos incluyen un liposoma con una superficie exterior y un compartimiento interior, un agente farmacéutico asociado al liposoma, una molécula que contiene ácido siálico asociada al liposoma y un agente diana (párrafo [0008]). En el ejemplo 3 se preparan liposomas que contienen ácido colomínico y anticuerpos conjugados con DNA.

El documento D02 divulga una composición de nanopartículas que comprenden un núcleo con al menos un polímero polianiónico y un principio activo, y una corona rodeando el núcleo que comprende al menos un polímero catiónico y un ligando diana (párrafo [0072]). Pueden incluir también un agente bioluminiscente o un agente de contraste (párrafo [0073]). Entre los polímeros aniónicos figuran sulfato de heparina, carragenina, sulfato de condroitina, y entre los compuestos catiónicos, hidrocloreuro de espermina (párrafo [0034]). En el párrafo [0035] se citan algunos de los principios activos que pueden ser incluidos en la composición, entre ellos, genes o péptidos. En el ejemplo 8 se prepara una composición de nanopartículas mediante la mezcla de dos corrientes poliméricas, una aniónica, con sulfato de condroitina y sulfato de heparina, y otra catiónica con hidrocloreuro de espermina.

No se ha encontrado ningún documento que divulgue nanopartículas que comprendan ácido colomínico con un reticulante polianiónico o policatiónico de bajo peso molecular. Además, no se considera obvio que un experto en la materia conciba nanopartículas con esas características a partir de lo divulgado en el estado de la técnica.

Por tanto, la invención recogida en las reivindicaciones 1-32 de la solicitud cumple los requisitos de novedad y actividad inventiva según lo establecido en los Artículos 6.1 y 8.1 de la Ley de Patentes.