

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 804 466**

51 Int. Cl.:

A61K 31/166 (2006.01)

A61K 31/167 (2006.01)

A61K 47/30 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 9/51 (2006.01)

A61K 9/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.03.2008 PCT/BR2008/000070**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.09.2008 WO08113144**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.03.2008 E 08714517 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.05.2020 EP 2134334**

54 Título: **Composición anestésica de uso tópico en forma de nanopartículas**

30 Prioridad:

16.03.2007 BR PI0700832

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
08.02.2021

73 Titular/es:

**BIOLAB SANUS FARMACÊUTICA LTDA. (50.0%)
Av. Paul Ayres, 280 Vila Iasi
06767-220, Taboão da Serra - SP, BR y
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO
SUL - UFRGS (50.0%)**

72 Inventor/es:

**JUNIOR, DANTE ALÁRIO;
GUTERRES, SILVIA STANISÇUASKI;
POHLMANN, ADRIANA RAFFIN y
ZANCAN, LALI RONSONI**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 804 466 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composición anestésica de uso tópico en forma de nanopartículas

5 ÁMBITO DE LA PRESENTE INVENCION

La presente invención se refiere a una composición anestésica que contiene una combinación de lidocaína y prilocaína en nanopartículas poliméricas, y al empleo de dicha composición anestésica para su aplicación tópica a la piel o a las mucosas.

10

ANTECEDENTES DE LA PRESENTE INVENCION

Los anestésicos locales son fármacos que disminuyen la sensibilidad y/o las funciones motoras en la zona del cuerpo donde se aplican, bloqueando la conducción nerviosa. Idealmente un anestésico local no debe irritar ni dañar el tejido nervioso ni otros tejidos cercanos a la zona de aplicación. Asimismo es conveniente que su acción quede limitada a la zona de aplicación, a fin de evitar la anestesia de otras zonas y efectos sistémicos indeseables. Además es deseable que la acción analgésica sea prolongada, para permitir la realización de una actividad cuya duración supere la del estímulo del dolor (p.ej. el tiempo de una intervención quirúrgica).

15

20

Con la intención de aumentar la potencia y el tiempo de actividad, y también de reducir los posibles efectos adversos, se han intentado varios métodos de producción de anestésicos locales. Estos incluyen: el uso combinado de agentes vasoconstrictores (p.ej. epinefrina), el desarrollo de moléculas anestésicas que tienen mayor afinidad por los tejidos nerviosos (p.ej. bupivacaína, ropivacaína), el uso de formulaciones en forma de liposomas (p.ej. lidocaína liposomal - Elamax®). Sin embargo estos métodos tienen las desventajas de sus efectos colaterales locales (p.ej. necrosis tisular debida a la vasoconstricción prolongada) o sistémicos (p.ej. el riesgo de padecer arritmias cardíacas y otros problemas cardiovasculares).

25

Otro método empleado es la producción de formulaciones de micropartículas de liberación prolongada, con tamaños superiores a 1 micrómetro, basadas en el uso de polímeros biodegradables tales como los presentados en las patentes WO 95/09613, WO 97/49391, EP 1 132 080, WO 02/58670, WO 06/013309, WO 06/047279 y en una serie de artículos científicos.

30

Sin embargo la mayor parte de estas formulaciones anestésicas locales tienen la desventaja de requerir una inyección para lograr una eficiencia óptima.

35

En el caso de las formulaciones inyectables debe señalarse que, además de la necesidad de usar formulaciones y dispositivos de administración estériles, el proceso de inyección de anestésicos es doloroso y causa molestias, sobre todo cuando se trata de niños o pacientes con aversión a las inyecciones.

40

En este contexto la aplicación tópica de anestésicos sobre la piel es una alternativa interesante para la administración de anestésicos locales. Sin embargo su aplicación está limitada por la baja permeabilidad de la piel y por el tiempo de acción limitado de estas formulaciones.

45

La baja permeabilidad de la piel es debida entre otros factores a la barrera creada por la capa corneal, formada por corneocitos, la cual tiene una bicapa lipídica que aumenta la resistencia a las sustancias ionizadas o poco liposolubles. Por lo tanto el flujo a través de la piel depende de las características químicas de las sustancias. Por regla general los fármacos lipídicos se absorben a través de la capa corneal, con coeficientes de permeación variables, y los fármacos hidrófilos se absorben casi exclusivamente por vía paracelular, con coeficientes de permeación casi constantes. Como resulta difícil controlar la penetración de la piel por los fármacos, actualmente se están estudiando agentes químicos y físicos, así como sistemas de vehículos, para superar tales carencias. Los productos anestésicos de referencia para uso tópico sobre la piel, como por ejemplo la crema EMLA® (una crema de AstraZeneca do Brasil Ltda. que contiene 2,5% de lidocaína y 2,5% de prilocaína), además de ofrecer una eficiencia anestésica inferior en comparación con los anestésicos inyectables, requieren tiempos de 1 a 2 horas para producir una anestesia satisfactoria en una piel sana, dependiendo del tipo de procedimiento, con un tiempo de acción inicial que varía según las distintas zonas del cuerpo (piel o mucosas) y los diferentes estados de la piel (con lesiones, sana o gruesa).

50

55

Por lo tanto los productos utilizados como anestésicos locales, conocidos y comercializados en el estado actual de la técnica, presentan inconvenientes. En el caso de los productos inyectables estos inconvenientes están relacionados con la forma de administración, ya que el proceso de inyección es doloroso y causa molestias. Por otra parte, en el caso de los productos de aplicación tópica sobre la piel, las desventajas están relacionadas con su baja absorción a través de la piel, con el tiempo de acción y con una eficiencia anestésica inferior.

60

Por tanto, con la intención de obtener productos anestésicos locales con perfiles apropiados de seguridad y eficiencia, cuya administración no requiera inyección y con menor tiempo de acción inicial, la presente invención es el resultado de una investigación sobre la eficacia de las formulaciones anestésicas cuyo agente anestésico local está contenido en nanopartículas poliméricas, cuando se aplican tópicamente.

65

A pesar de la existencia de informes relativos a la producción de nanopartículas de agente anestésico en la literatura científica (p.ej. Gorner T. y col. "Lidocaine-loaded biodegradable nanospheres I. Optimization of the drug incorporation into the polymer matrix [*Nanoesferas biodegradables cargadas de lidocaína I. Optimización de la incorporación del fármaco a la matriz polimérica*]"). Journal of Controlled Release 57 (1999) 259-268; Polakovic M. y col. "Lidocaine loaded biodegradable nanospheres II. Modelling of drug release [*Nanoesferas biodegradables cargadas de lidocaína II. Modelado de la liberación del fármaco*]"). Journal of Controlled Release 60 (1999) 169-177; Chung, T. y col. "Effects of solvent evaporation rate on the properties of protein-loaded PLLA and PDLLA microspheres fabricated by emulsion-solvent evaporation process [Efectos de la velocidad de evaporación del disolvente en las propiedades de microesferas de PLLA y PDLLA cargadas de proteínas y fabricadas mediante el proceso de emulsión-evaporación de disolvente]". J Microencapsul. 19 (2002) 463-71; Schwarz C y Mehnert W; "Freeze-drying of drug-free and drug-loaded solid lipid nanoparticles (SLN) [*Liofilización de nanopartículas de lípidos sólidos (SLN) exentas de fármacos y cargadas de fármacos*]" INT. J. PHARM (1997), V157, P 171-9.; Govender T y col.; "Defining the drug incorporation properties of PLA-PEG nanoparticles [Definición de las propiedades de incorporación de fármacos en las nanopartículas de PLA-PEG]". INT. J. PHARM (2000), V199, p 95-110; y en las patentes (p.ej. WO 06/056064, que describe una formulación nanoparticulada para administración inyectable, principalmente por vía intravenosa), según el leal saber y entender de los presentes inventores, en el estado técnico actual no existe ninguna referencia relacionada con la eficiencia de un producto anestésico local de aplicación tópica sobre la piel o las mucosas que contenga un agente anestésico en nanopartículas poliméricas o ninguna referencia al hecho de que dicha formulación pueda tener una eficacia superior a las formulaciones anestésicas no nanoparticuladas de uso tópico. En el mismo contexto, no hay ninguna referencia al hecho sorprendente, confirmado por los presentes inventores, de que la formulación de agentes anestésicos en nanopartículas poliméricas pueda aumentar el tiempo de anestesia y definir mejor el efecto anestésico en comparación con las formulaciones no nanoparticuladas.

En este contexto debe destacarse que la patente US 6 203 802 describe métodos para el tratamiento de las capas superficiales de la epidermis basados en la aplicación tópica sobre la piel de nanopartículas poliméricas en las cuales hay al menos un ingrediente activo encapsulado, aunque no hace ninguna referencia a nanopartículas poliméricas para transportar agentes anestésicos locales ni ninguna referencia al uso de dicha formulación para producir anestesia local, cuya acción tiene lugar en la dermis.

La patente WO 2006/091719 A2 se refiere a una formulación de uso tópico que contiene un ingrediente activo, al menos un potenciador de permeación y un hidrogel polimérico.

La patente WO 2006/002365 A2 se refiere a micropartículas que contienen un agente bioactivo, p.ej. lidocaína, y al uso de poli(ϵ -caprolactona) en las mismas.

La patente US 2006/188583 A1 se refiere a microesferas mezcladas con un hidrogel sensible a la temperatura para la liberación controlada a largo plazo del fármaco por inyección en un cuerpo humano con una jeringa.

La patente WO 99/01114 A1 se refiere a microemulsiones que contienen una combinación de lidocaína y prilocaína para inyección intraarterial.

Sintov AC y otros, en "New microemulsion vehicle facilitates percutaneous penetration in vitro and cutaneous drug bioavailability in vivo [*Nuevo vehículo en forma de microemulsión que facilita la penetración percutánea in vitro y la biodisponibilidad cutánea del fármaco in vivo*]", Journal of Controlled Release (2004), Vol 95 (2), páginas 173-183, se refieren a microemulsiones para liberación local vivo, que contienen lidocaína.

Kreilgaard M, en "Dermal pharmacokinetics of microemulsion formulations determined by in vivo microdialysis [*Farmacocinética dérmica de formulaciones en microemulsión, determinada por microdiálisis in vivo*]", Pharmaceutical Research (2001), vol. 18 (3), páginas 367-373, se refiere a una microemulsión que contiene anestésicos tales como prilocaína y lidocaína, y a investigaciones por microdiálisis in vivo.

Sadurni N. y otros, en "Studies on the formation of O/W nanoemulsions, by low-energy emulsification methods, suitable for pharmaceutical applications [*Estudios sobre la formación de nanoemulsiones O/W por métodos de emulsión de baja energía adecuados para aplicaciones farmacéuticas*]", European Journal of Pharmaceutical Sciences (2005), vol. 26 (5), páginas 438-445, se refieren a una nanoemulsión O/W que contiene lidocaína.

El "Austria-Codex 2004/2005", vol. 59 (1), páginas 2038-2041, se refiere a la crema comercial EMLA que contiene lidocaína.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS.

- Figura 1: porcentaje de anestesia promovida por los hidrogeles G5-PCL-TWE, G5-EUD-EPK, G3-PCL-TWE, G5-PCL-TWE 0,75% y por la crema EMLA®, comercialmente disponible, 20 minutos después de la administración tópica a las colas de ratas (n = 11/grupo).
- Figura 2: porcentaje de anestesia promovida por los hidrogeles G5-PCL-TWE, G5-EUD-EPK, G3-PCL-TWE, G5-

PCL-TWE 0,75% y la crema EMLA®, comercialmente disponible, 10 minutos después de la administración tópica a las colas de ratas (n = 11/grupo).

DESCRIPCIÓN DE LA PRESENTE INVENCIÓN

La presente invención se refiere a una composición anestésica en forma de un hidrogel que contiene (i) una suspensión de nanocápsulas poliméricas que comprende (a) poli(ϵ -caprolactona), (b) una combinación de lidocaína y prilocaína, (c) al menos un tensoactivo, que es polisorbato 80 (TWEEN 80), (d) agua; y (ii) al menos un agente potenciador de la viscosidad, que es carboxipolimetileno.

La presente invención también se refiere al uso de dicha composición anestésica para aplicación tópica sobre la piel o mucosas/membranas mucosas.

El término nanopartículas poliméricas se refiere a un sistema transportador de fármacos, cuyos tamaños de partícula son inferiores a 1 μm y en ellas el ingrediente activo está retenido, encapsulado o adsorbido. El término nanopartículas poliméricas se puede usar para indicar nanoesferas y nanocápsulas. Las nanoesferas están formadas por una matriz polimérica en la cual el ingrediente activo está retenido, encapsulado o adsorbido. Las nanocápsulas están formadas por un recipiente polimérico que encierra un núcleo, de manera que el ingrediente activo puede estar disuelto, retenido o dispersado en el núcleo y/o adsorbido en la pared polimérica.

De manera general, los procesos de producción de nanopartículas poliméricas se pueden clasificar entre los métodos de polimerización in situ o los métodos que usan polímeros preconformados.

Los polímeros comúnmente utilizados en la preparación de nanopartículas son, por ejemplo, polilactidas, poli(lactida-co-glicólido), poliglicólidos, policaprolactona, poliamidas, polianhídridos, poliaminoácidos, poliésteres, poli(cianoacrilatos), polifosfazinas, polifosfoésteres, poliesteramidas, polidioxanonas, poliacetales, policetales, policarbonatos, poliortocarbonatos, poliuretanos degradables, quitinas, quitosanos, polihidroxitbutiratos, polihidroxitvaleratos, poli(ácido maleico), polialquilenoalatos, polialquileno succinatos, poli(hidroxitbutiratos-co-hidroxitvaleratos), así como copolímeros, terpolímeros, celulosa oxidada, o combinaciones o mezclas de estos materiales.

Algunos polímeros especialmente interesantes son poli(ϵ -caprolactona) (PCL; por ejemplo, poli(ϵ -caprolactona) 65 Kd - Sigma Aldrich); copolímeros de ácido metacrílico y ésteres metacrílicos o acrílicos (p.ej. Eudragits®); poli(metacrilato de alquilo); poli(metacrilato de metilo) (p.ej. PMM).

Las nanopartículas poliméricas se pueden producir, por ejemplo, mediante los métodos (i) de polimerización in situ de monómeros (látex) o dispersión de polímeros preconformados (pseudolátex o látex artificial), como se describe en De Jaeghere F y otros, *Nanopartículas*; en: Mathiowitz E, ed. *The Encyclopedia of Controlled Drug Delivery [Enciclopedia de liberación controlada de fármacos]*, Nueva York, NY, Wiley and Sons Inc; 1999: 641-664 y en Couvreur P y otros, *Controlled drug delivery with nanoparticles [Liberación controlada de fármacos con nanopartículas]*: Eur J Pharm Biopharm. 1995; 41: 2-13; (ii) el método de evaporación en emulsión para uso farmacéutico propuesto por primera vez por Gurny R, Peppas NA, Harrington DD, Banker GS. *Development of biodegradable and injectable lattices for controlled release of potent drugs [Desarrollo de látex biodegradables e inyectables para la liberación controlada de fármacos potentes]*, Drug Dev Ind Pharm. 1981; 7: 1-25 basado en la patente US4177177, con el polímero disuelto en un disolvente orgánico volátil inmiscible en agua. La solución orgánica se dispersa en una fase acuosa que contiene emulsionante y promotores de formación de emulsiones tipo aceite/agua; y (iii) el método de deposición interfásica de polímeros preconformados (nanoprecipitación), tal como lo describen Fessi y otros en la patente US 5 049 322, siendo este último un proceso particularmente interesante.

Los disolventes orgánicos utilizables para preparar nanopartículas son: alcoholes de cadena corta (metanol, etanol, isopropanol, etc.), cetonas de cadena corta (acetona, metil-etilcetona, etc.), hidrocarburos ligeros o una mezcla de hidrocarburos ligeros (hexano, éter de petróleo, etc.), hidrocarburos ligeramente clorados (cloroformo, clorhidrato de metileno, trihidrocloruro de etileno, etc.) u otros disolventes ligeros comunes, tales como acetonitrilo, dioxano, etc. La acetona es un disolvente particularmente interesante.

Los surfactantes se usan generalmente para evitar la agregación de las partículas durante el almacenamiento. Como ejemplos de surfactantes utilizables cabe citar: lecitinas, tensioactivos sintéticos aniónicos (p.ej. laurilsulfato sódico), catiónicos (p.ej. de amonio cuaternario) o no iónicos (p.ej. monoésteres de sorbitán con o sin contenido de restos de polioxietileno, éteres formados a partir de alcoholes grasos y polietilenglicol, polioxietileno-polipropilenglicol, etc.). Son especialmente interesantes las combinaciones que llevan surfactantes lipófilos con valores bajos de equilibrio hidrófilo-lipófilos (EHL) (p.ej. ésteres de sorbitán - Span 20 o Span 60) y surfactantes hidrófilos con valores elevados de EHL (ésteres de sorbitán etoxilados - Tween 80); por otra parte también sirve sencillamente un solo surfactante no iónico que tenga un alto EHL (como el Tween 80).

El término agente anestésico local se refiere a fármacos que bloquean reversiblemente la conducción nerviosa cuando se aplican a una región limitada del cuerpo. Como agente anestésico local de la presente invención se selecciona una combinación de lidocaína y prilocaína. Los agentes anestésicos adicionales descritos en la presente invención pueden

elegirse, aunque sin limitarse a ellos, del grupo formado por benzoato-ésteres o amino-ésteres, amino-amida anilidas, amino-naftoato ésteres, ácido benzoico, pramoxina, diclonina o mexiletina, entre otros; anestésicos de base libre: bupivacaína, mepivacaína, etidocaína, butanilcaína, trimecaína y, opcionalmente, tetracaína, benzocaína, ropivacaína, dibucaína, procaína, cloroprocaína, picrato de butambeno, articaína y xilocaína, y sus sales, derivados o mezclas. El anestésico local se puede usar en forma de una sal tal como, por ejemplo, clorhidrato, bromhidrato, acetato, citrato, carbonato o sulfato.

Según la presente invención, las susodichas nanopartículas que encapsulan una combinación de lidocaína y prilocaína como agentes anestésicos locales pueden tener un efecto anestésico equivalente o superior con el uso de menores proporciones de agentes anestésicos locales, además de lograrlo con un poder anestésico más predecible y duradero en comparación con las composiciones equivalentes, no particuladas, comercialmente disponibles como, por ejemplo, la EMLA®.

La concentración de al menos uno de los anestésicos debe constituir aproximadamente un 0,5 hasta un 10% de la composición. Más concretamente, la presente invención lleva una combinación de al menos dos agentes anestésicos, formada por lidocaína y prilocaína, en una proporción que constituye aproximadamente el 5% del producto anestésico, con aproximadamente un 2,5% de lidocaína y aproximadamente un 2,5% de prilocaína.

El término potenciador de la viscosidad se refiere a una sustancia capaz de subir la viscosidad de las formulaciones líquidas o semilíquidas (p.ej. de soluciones, suspensiones, emulsiones, cremas, ungüentos, geles). El potenciador de la viscosidad es carboxipolimetileno, y otros agentes potenciadores de la viscosidad descritos en la presente invención pueden elegirse, sin limitarse a ellos, del grupo formado por polímeros naturales (como p.ej. celulosa, gomas, amidas, etc.) o polímeros no naturales (como p.ej. hidroxietilcelulosa, metil- y propilcelulosa, resinas de poli(etilenglicol), de poli(vinilpirrolidona) (PVP), etc.).

Según una revelación preferente, las composiciones poseen una viscosidad suficiente para facilitar la aplicación local, sin fluir o escurrirse hacia zonas no deseadas. Más concretamente, las composiciones que constituyen la presente invención poseen una viscosidad superior a 50 cP y, preferentemente, superior a 100 cP. Las formulaciones con una viscosidad comprendida aproximadamente entre 100000 y 800000 cP son interesantes porque permiten controlar bien su extensión durante la aplicación tópica. Entre ellas, las formulaciones con una viscosidad inferior a aproximadamente 650000 cP resultan aún más interesantes en comparación con las formulaciones más viscosas, ya que proporcionan mayor poder anestésico y más tiempo de acción respecto a formulaciones con proporciones equivalentes de agentes anestésicos en nanopartículas.

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos experimentales ilustran la presente invención, pero sin limitar su alcance.

EJEMPLO 1: Producción de nanopartículas anestésicas.

Se prepararon nanopartículas anestésicas según la composición de las fases indicadas en la tabla 1.

En primer lugar se preparó la fase orgánica disolviendo en acetona el polímero (poli(ε-caprolactona), Eudragit S100 o poli(metacrilato de metilo), el tensioactivo (SPAN60F o Epikuron 170) y la mezcla de principios activos (lidocaína y prilocaína). Esta fase se mantuvo en agitación, con calor moderado (30 a 40°C), hasta la completa disolución de los componentes. La fase acuosa se preparó aparte en un vaso de precipitados y estuvo compuesta por el tensioactivo (Tween 80) dispersado en agua. Tras la disolución completa de los componentes, la fase orgánica se vertió lentamente a través de un embudo sobre la fase acuosa, con agitación moderada a temperatura ambiente y luego se mantuvo en agitación durante 10 minutos más. Esta suspensión se concentró luego en un evaporador rotatorio a una presión de 3-6 bars, en un baño de agua a una temperatura de 40-45°C, hasta llegar a un volumen final aproximado de 100 ml.

Tabla 1:

Composición de las fases, usada para la producción de las nanopartículas									
Suspensiones	Lido (g)	PRL (g)	S100 (g)	PCL (g)	EPK (g)	SPA (g)	TWE (g)	H ₂ O (ml)	ACE (ml)
5-PCL-TWE	2,5	2,5		1,0			1,0	320 (40%)	480 (60%)
5-EUD-TWE	2,5	2,5	1,0				1,0		
5-EUD-EPK	2,5	2,5	1,0		0,7		0,7		
3-PCL-TWE	1,5	1,5		1,0			1,0		
3-PCL-SPA	1,5	1,5		1,0		0,7	0,7		
3-EUD-TWE	1,5	1,5	1,0				1,0		
3-EUD-SPA	1,5	1,5	1,0			0,7	0,7		
3-EUD-EPK	1,5	1,5	1,0		0,7		0,7		
LIDO: lidocaína, PRL: prilocaína, S100: Eudragit S100®, PCL: poli(ε-caprolactona) 65Kd (Sigma Aldrich), EPK: Epikuron 170®; TWE: Tween 80®, SPA: Span 60®, H ₂ O: agua, ACE: acetona.									

Las entradas 2,3, 5-8 sirven solo de referencia. De las suspensiones concentradas se midió su diámetro medio, la proporción total de lidocaína y prilocaína, y la relación de lidocaína y prilocaína incluida en las nanocápsulas (tabla 2).

5

Tabla 2:

Diámetro medio, relación de inclusión y proporción de ingredientes activos en las nanopartículas					
Suspensiones	Diámetro medio (nm)	Relación de inclusión (%)		Proporción (%)	
		Lidocaína	Prilocaína	Lidocaína	Prilocaína
5-PCL-TWE	132	86	78	96	98
5-EUD-TWE	142	75	73	98	94
5-EUD-EPK	181	87	86	103	98
3-PCL-TWE	116	88	80	101	99
3-PCL-SPA	164	91	79	89	93
3-EUD-TWE	175	87	84	100	97
3-EUD-SPA	198	83	81	86	90
3-EUD-EPK	134	77	76	98	95

10

Las entradas 2,3, 5-8 solo son de referencia. El diámetro de las partículas y su tasa de polidispersión en la suspensión se determinó por dispersión dinámica de la luz (Zetasizer® nano-ZS modelo ZEN 3600, Malvern, EUA). Las muestras se diluyeron 500 veces en agua ultrafiltrada a temperatura ambiente.

15

Con el fin de determinar la proporción total de lidocaína y prilocaína, las suspensiones se trataron con acetonitrilo para disolver todos los componentes de la formulación. Luego se transfirió una parte alícuota de la suspensión a un matraz redondo de 10 ml y el volumen se completó con acetonitrilo. La solución se filtró a través de una membrana hidrófila (Millipore, 0,45 µm) y las proporciones de lidocaína y prilocaína se determinaron luego por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC).

20

La concentración de lidocaína/prilocaína incorporada a las nanoestructuras se midió por HPLC, siendo la diferencia entre las concentraciones totales de lidocaína/prilocaína en las formulaciones y las concentraciones existentes en la fase acuosa de la suspensión. Las concentraciones totales incluidas en las nanoestructuras se midieron disolviendo las nanocápsulas en acetonitrilo, tal como se ha descrito anteriormente, para determinar la proporción total de lidocaína y prilocaína. Las concentraciones de lidocaína/prilocaína existentes en la fase acuosa se midieron por centrifugación-ultrafiltración de las suspensiones (Ultrafree®-MC Millipore 10.000 Å) durante 5 minutos a 12.000 rpm. De este modo se retuvieron las nanopartículas y nanoemulsiones poliméricas y la lidocaína/prilocaína no incluida pasó a través de la membrana y a continuación se cuantificó en el ultrafiltrado, en las mismas condiciones descritas anteriormente, para determinar la concentración total de anestésicos locales.

25

30

Además se realizaron ensayos con el uso de diferentes proporciones/cantidades de agua y acetona (agua: 533 ml / acetona: 267 ml; agua: 300 ml / acetona: 300 ml; agua: 400 ml / acetona: 400 ml); lo cual confirmó que las variaciones de las cantidades y proporciones de agua y acetona en el intervalo investigado no influyeron significativamente en el tamaño de las nanopartículas o en la tasa de inclusión de los agentes anestésicos en las nanopartículas.

35

EJEMPLO 2: Preparación de los hidrogeles que contienen las suspensiones de nanocápsulas y nanoemulsiones.

40

Los hidrogeles se prepararon incorporando Carbopol® 940 (carboxipolimetileno) a una concentración final del 0,25%, 0,75% y 1,5% a las suspensiones de nanopartículas preparadas según el ejemplo 1, y las masas finales se ajustaron añadiendo agua destilada para obtener una proporción nominal final del 5% de anestésicos en las formulaciones G 5-PCL-TWE, G 5-PCL-TWE 0,75% y G 5-EUD-EPK (preparadas respectivamente a partir de las suspensiones 5-PCL-TWE y 5-EUD-EPK concentradas, obtenidas según el ejemplo 1) y del 3% en la formulación G 3-PCL-TWE (preparada a partir de la suspensión 3-PCL-TWE concentrada, obtenida según el ejemplo 1).

45

Las propiedades reológicas de las formulaciones semisólidas se midieron usando un viscosímetro rotativo Brookfield, modelos RV DV I + y LV DVII + PRO, con husillo SC4-25, a velocidades de y 2,5 RPM (tabla 3).

Tabla 3:

Viscosidad de los hidrogeles a concentraciones del 0,25%, 0,75% y 1,5 de carboximetilcelulosa			
% de Carbopol 940	Formulación	Viscosidad (cP)	
		Velocidad 2,0 RPM	Velocidad 2,5 RPM
1,5	G 5-PCL-TWE	791000	659400
	G 3-PCL-TWE	730000	604100
	G 5-EUD-EPK	307200	251900
0,75	G 5-PCL-TWE 0,75%	640000	520200
	G 3-PCL-TWE 0,75%	366000	315400
	G 5-EUD-EPK 0,75%	102000	75400
0,25	G 5-PCL-TWE 0,25%	215000	178000
	G 3-PCL-TWE 0,25%	115000	104000

Las formulaciones G 5-EUD-EPK y G 5-EUD-EPK 0,75% solo son de referencia.

5

EJEMPLO 3: Evaluación de la actividad anestésica in vivo.

Se determinó el porcentaje de anestesia in vivo en ratones, producida por hidrogeles que contenían nanopartículas de lidocaína y prilocaína, usando la técnica "Tail Flick" (Kolesnikov Y. y col. "Evaluation of the tail formalin test in mice as a new model to assess local analgesic effects [*Evaluación del ensayo de formalina en la cola en ratones como nuevo modelo para medir los efectos analgésicos locales*]", Brain Research, v. 1029, p. 217-223, 2004) y, para comparar, el producto comercialmente disponible EMLA® (una crema que lleva 2,5% de lidocaína y 2,5% de prilocaína, producida por AstraZeneca do Brasil Ltda.).

10

El efecto anestésico se analizó en 5 grupos distintos:

15

- Grupo de control positivo (1 grupo): aplicación tópica del producto comercial EMLA®.
- Grupo de control negativo (1 grupo): hidrogel que contiene nanocápsulas sin fármacos.
- Grupos de ensayo (4 grupos): aplicación tópica de hidrogeles con nanopartículas que llevan lidocaína y prilocaína, según las proporciones de anestésico y las composiciones de nanopartículas definidas en la tabla 4.

20

Tabla 4:

Proporciones de anestésico y composiciones de nanopartículas usadas en los ensayos de efecto anestésico				
Gel	Composición de nanopartículas	% de lidocaína en el gel	% de prilocaína en el gel	% de Carbopol en el gel
G5-PCL-TWE	5-PCL-TWE	2,55	2,5	1,5
G5-EUD-EPK	5-EUD-EPK	2,45	2,38	1,5
G3-PCL-TWE	3-PCL-TWE	1,55	1,47	1,5
G5-PCL-TWE 0,75	5-PCL-TWE	2,55	2,5	0,75

La entrada 2 sirve solo de referencia. Los ensayos se llevaron a cabo con hembras adultas de ratón suizo albino, que pesaban entre 30 y 35 g. Los animales se alojaron en jaulas del bioterio que contenían no más de 5 ratones, con libre acceso a agua y comida.

25

Los animales se mantuvieron en retenedores que permitían el acceso a sus colas extendidas durante el ensayo. En primer lugar se determinó la sensibilidad de la línea base (BL) para cada animal, empleando un medidor de analgesia (medidor de analgesia Tail Flick, modelo EFF-300). Primero se sumergieron las colas de los animales en DMSO durante 2 minutos. Luego se eliminó el DMSO con una gasa esterilizada húmeda y después las colas se sumergieron cuidadosamente en tubos de tipo Eppendorf que contenían la formulación semisólida que debía ensayarse según el grupo. Transcurridos 10 y 20 minutos desde la aplicación de la formulación prevista, ésta se eliminó con una gasa esterilizada húmeda. Luego se colocó la cola del animal sobre la superficie del dispositivo provisto de un filamento de metal calentado. La analgesia se valora midiendo el tiempo de latencia (TL) hasta que se mueve la cola como reacción al estímulo inducido por calor. El tiempo máximo de exposición a la radiación fue de 6 segundos, para minimizar las lesiones tisulares en la cola del animal. Se hicieron tres mediciones del tiempo de latencia para cada animal.

30

35

Los resultados se evaluaron en relación con el porcentaje de anestesia alcanzado para cada animal de acuerdo con la siguiente ecuación:

40

$$\% \text{ de anestesia} = 100 \times (TL - BL) / (6 - BL)$$

en la cual: TL = tiempo de latencia bajo el efecto de la formulación anestésica; BL = tiempo de latencia basal; 6 = tiempo máximo de exposición a la radiación.

45

El análisis estadístico de los ensayos de evaluación de la acción anestésica se llevó a cabo según el método ANOVA (Sigma-Stat®, Jandel Scientific, EUA), utilizando la crema comercial EMLA como referencia.

5 Los resultados obtenidos confirmaron que la administración tópica de los hidrogeles G5-PCL-TWE, 5-EUD-EPK, 3-PCLTWE y G5-PCL-TWE 0,75% durante un tiempo de exposición de 20 minutos, antes de eliminar la formulación, produjo un aumento considerable del porcentaje y de la duración del efecto anestésico en comparación con la crema EMLA® comercialmente disponible y, asimismo, también demostraron que incluso el hidrogel 3-PCL-TWE, que solo contenía el 3% de anestésicos, produjo un efecto anestésico mayor que el verificado con la crema EMLA® disponible comercialmente, que contiene 5% de anestésicos (figura 1).

10 Además, también se pudo verificar que la administración tópica de los hidrogeles G5-PCL-TWE, 5-EUDEPK, 3-PCL-TWE y G5-PCL-TWE 0,75% durante un tiempo de exposición de 10 minutos, antes de eliminar la formulación, dio un perfil anestésico similar al observado en el ensayo con un tiempo de exposición de 20 minutos, pero este no fue el caso de la crema comercial EMLA®, que tras la exposición de 20 minutos produjo una anestesia mucho menos intensa que con la exposición de 10 minutos (figura 2).

15

20

REIVINDICACIONES

1. Una composición anestésica en forma de hidrogel de aplicación tópica sobre la piel o las mucosas, que lleva:
- 5 (i) una suspensión de nanocápsulas poliméricas que contiene:
- (a) una poli(ϵ -caprolactona);
 - (b) una combinación de lidocaína y prilocaína;
 - (c) al menos un tensioactivo que es polisorbato 80 (TWEEN 80);
 - (d) agua; y
- 10 (ii) al menos un potenciador de la viscosidad, que es carboxipolimetileno.
2. La composición anestésica según la reivindicación 1, cuyas nanocápsulas llevan concentraciones del 2,5% de lidocaína y 2,5% de prilocaína o del 1,5% de lidocaína y 1,5% de prilocaína.

FIG. 1

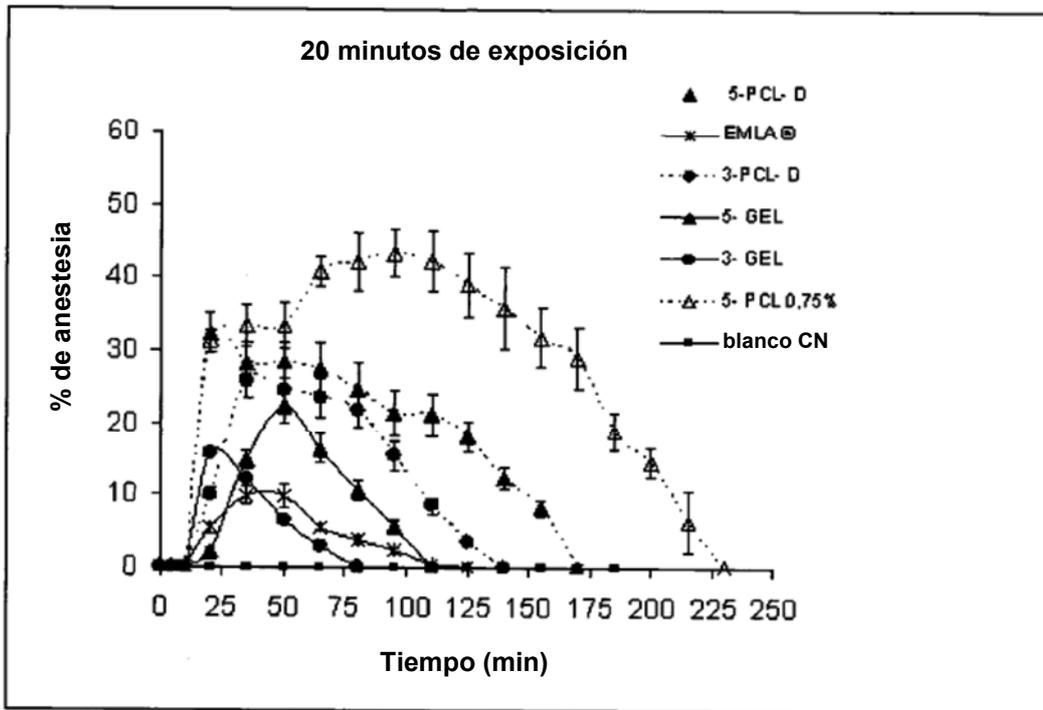


FIG. 2

