



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



① Número de publicación: **2 363 397**

② Número de solicitud: 201030041

⑤ Int. Cl.:
A61K 9/16 (2006.01)
A61K 9/50 (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)

⑫

SOLICITUD DE PATENTE

A1

② Fecha de presentación: **18.01.2010**

④ Fecha de publicación de la solicitud: **02.08.2011**

④ Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
02.08.2011

⑦ Solicitante/s: **SPHERIC NANOHEALTH, S.L.**
Vía Agusta, 13-15 - Despacho 603
08006 Barcelona, ES

⑦ Inventor/es: **Martínez Escobar, Sergio**

⑦ Agente: **Carpintero López, Mario**

⑤ Título: **Microesferas antisépticas.**

⑤ Resumen:

Microesferas antisépticas.

La presente invención describe nuevas microesferas que comprenden: (i) una capa o núcleo de un polianión, tal como alginato; (ii) un recubrimiento de un polianión, como poli-L-lisina en contacto con la parte externa de la capa o núcleo de polianión; y (iii) un recubrimiento de plata en contacto con la parte externa del recubrimiento de polianión. La plata se encuentra inicialmente como plata (0) y puede oxidarse a plata +1 para ser activa frente a procesos infecciosos. La invención describe asimismo composiciones farmacéuticas que comprenden estas microesferas, en particular, composiciones para su uso en el tratamiento y/o profilaxis de procesos infecciosos.

ES 2 363 397 A1

DESCRIPCIÓN

Microesferas antisépticas.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a una nueva composición farmacéutica para el tratamiento y/o prevención de procesos infecciosos, que comprende microesferas antimicrobianas que comprende una capa de un polianión, una capa de un polication y un recubrimiento de nanopartículas de plata y que pueden ser activadas inmediatamente antes de su administración.

Antecedentes de la invención

Es bien conocido que en lugares del organismo en los que se produce una transformación por procesos lesivos cambia el micro-medio-ambiente y se genera un entorno favorable para la infección, con pobre capacidad de difusión antibiótica. Entre estos procesos lesivos se encuentran por ejemplo, lesiones causadas por armas blancas, asta de toro, así como los tratamientos quirúrgicos en el ámbito de cirugías sucias o sucias contaminadas, tanto como aquellas que tengan elevado riesgo de sufrir complicaciones infecciosas por complicaciones en el ámbito postquirúrgico (numerosos tiempos quirúrgicos, cirugías muy prolongadas, elevado riesgo de dehiscencia de suturas, riesgo de translocación bacteriana, etc...).

En relación con los métodos quirúrgicos en el estado de la técnica, una de las medidas de prevención de la infección nosocomial del sitio quirúrgico (ISQ) es la administración profiláctica de antibióticos justificada por tratarse de cirugía limpia-contaminada. En otros procesos invasivos, dicho tratamiento antibiótico está aún más justificado si cabe, por tratarse de una cirugía abdominal sucia o sucia contaminada, por ejemplo en el caso de peritonitis fecaloidea, o en el caso de pacientes proclives a padecer infecciones tales como los pacientes trasplantados, inmunodeprimidos, pluriopatológicos, pacientes neoplásicos, o pacientes sometidos a diálisis peritoneal. Asimismo un tratamiento antibiótico puede estar indicado en procesos mórbidos cuya posible evolución implique un proceso de infección de transudados-exudados ya sean o no subsidiarios de terapéutica quirúrgica o médica.

Un aspecto problemático de los tratamientos antibióticos en general, y en particular de los tratamientos antibióticos administrados en procesos infecciosos a nivel de cavidades naturales, en procesos quirúrgicos, (antes/durante/después), u otro tipo de procesos lesivos, es la pobre difusión del tratamiento antibiótico administrado vía intravenosa u oral a las zonas donde su concentración debería ser máxima debido al cambio del micro-medio-ambiente arriba mencionado. En este sentido, cualquier antibiótico dispuesto a nivel sistémico presenta problemas de difusión sobre todo cuando se asocian proceso de hipoperfusión (inestabilidad hemodinámica) abscesificación o inflamación perilesional así como la presencia de tejidos desvitalizados.

A nivel de tratamiento local el uso de antibióticos no ha demostrado ser ventajoso respecto a su uso exclusivamente sistémico dado que la vida media del antibiótico en su disposición "*in situ*" no es lo suficientemente elevada como para controlar y erradicar un proceso infeccioso. (Este hecho es discutido únicamente en los casos de peritonitis en pacientes en diálisis peritoneal donde los antibióticos se pueden usar en perfusión continua o en múltiples dosis y sufren una rápida absorción en el peritoneo tras su administración [Piraino B *et al.* Peritoneal dialysis-related infections recommendations: 2005 update. *Perit Dial Int* 2005 Mar-Apr; 25(2): 107-31]). Además la administración a nivel local de algunos antibióticos presenta la desventaja adicional de que ocasionan procesos irritativos en la zona de administración.

La dificultad señalada para difundir el antibiótico a lugares del organismo donde se precisa una actividad antimicrobiana, tanto a aquellos cuya disposición anatómica es característicamente compleja al establecer una terapéutica antibiótica (por ejemplo el peritoneo), como a aquellos que son transformados por procesos lesivos dificulta e incluso impide la eficacia de un tratamiento antibiótico terapéutico y/o profiláctico.

Además de todo lo anterior, los tratamientos antibióticos presentan otras desventajas adicionales importantes, tales como el espectro reducido de los antibióticos que hace que en ocasiones sea necesaria la combinación de al menos dos antibióticos diferentes para lograr ampliar dicho espectro o el coste que supone una secuencia de tratamiento antibiótico por ejemplo en irrigación continua a nivel peritoneal o en dosis múltiples discontinuas. Asimismo el riesgo inherente a la propia manipulación de la solución antibiótica puede aumentar el riesgo de infecciones. En algunas cirugías incluso (por ejemplo en cirugía colorrectal) la ISQ puede acontecer durante la primera semana de postoperatorio por lo que es habitual mantener el tratamiento antibiótico durante este tiempo para ayudar a reducir la morbimortalidad de un proceso infeccioso si lo hubiera, retirándolo una vez superado el tiempo de riesgo de una complicación. En estos casos además de los indeseables efectos secundarios del antibiótico, se pueden producir efectos adversos añadidos derivados de su uso prolongado.

En el estado de la técnica por otra parte es conocida la capacidad microbicida o antimicrobiana de la plata la cual se utiliza en múltiples y diversas aplicaciones como desodorantes, geles, cremas a incluso tejidos. Asimismo se conoce el empleo de la plata como agente antibacteriano en un tratamiento antibacteriano tópico de heridas supuradas con proceso infeccioso, mediante la utilización de apósitos que comprende un soporte, por ejemplo de alginato, que

actúa además como vehículo de agregados de plata. También se dispone actualmente en el mercado de apósitos con diferentes combinaciones que poseen plata como por ejemplo la combinación carbón activado- papel de nitrocelulosa-plata (Actisorb Plus 25[®]). Estos apósitos presentan la desventaja de que su uso se limita únicamente a nivel tópico y local cuando las heridas son superficiales.

5 A la vista de todo lo expuesto existe por lo tanto la necesidad en el estado de la técnica de proporcionar un nuevo tratamiento antibiótico eficaz y una nueva composición farmacéutica alternativa antimicrobiana y/o microbicida, preferiblemente con amplio espectro de actuación bacteriano y fúngico que puedan ser utilizada en cualquier parte o zona del organismo, y en particular en lugares del organismo donde se precisa una actividad antimicrobiana de
10 disposición anatómica característicamente compleja al establecer una terapéutica antibiótica o aquellos transformados por procesos lesivos, reduciendo o eliminando la necesidad de utilizar tratamientos antibióticos convencionales que conllevan numerosas desventajas como las arriba mencionadas.

15 En este sentido la presente invención propone un nuevo tratamiento antibacteriano y antifúngico, así como una nueva microesfera recubierta de plata para su uso en una nueva composición farmacéutica como se define a continuación.

Breve descripción de las figuras

20 Figura 1: representación esquemática de una microesfera donde B es polianión con carga negativa; A es policación con carga positiva; y C es el recubrimiento de Ag.

25 Figura 2: las figuras 2A, 2B y 2C corresponden a micrografías electrónicas de la superficie de las microesferas.

Descripción de la invención

30 La invención se refiere en un aspecto a una microesfera que comprende:

- (i) una capa de un polianión;
- (ii) un recubrimiento de un policación en contacto con la parte externa de la capa de polianión;
- 35 (iii) un recubrimiento de plata en contacto con la parte externa del recubrimiento de policación.

Esta microesfera, en adelante microesfera de la invención presenta propiedades antimicrobianas siendo por tanto útil en el tratamiento y/o profilaxis de un proceso infeccioso o microbiano en un animal, incluido el hombre en necesidad del mismo. Debido a esta aplicación como medicamento los materiales que componen las microesferas son preferentemente biocompatibles y biodegradables. Por antimicrobiano ha de entenderse la capacidad de matar o inhibir el crecimiento de microbios, tales como bacterias, hongos, parásitos o virus.

45 En este sentido el polianión puede ser en principio cualquier polianión convencional que sea biocompatible y biodegradable. En una realización particular de la invención el polianión se selecciona del grupo formado por alginato, ácido poliglicocólico, copolímero de ácido poliglicocólico y ácido láctico, agarosa, poliacrilatos, carrageenanos y sus mezclas. En una realización particular el polianión es alginato.

50 El alginato que puede utilizarse en la presente invención puede ser de cualquier origen, bacteriano y/o de algas marrones, y puede obtenerse por ejemplo de forma comercial en forma de mezcla de sales de sodio, potasio, calcio y magnesio. Son estructuras macromoleculares heterogéneas con estructuras que no se repiten de forma regular que comprende monómeros de ácido α L-glucurónico (G) y monómeros de ácido β D-manurónico (M), dando lugar a bloques dentro de la estructura denominados G-blocks, M-blocks, y GM-blocks de distinta flexibilidad. En este sentido los inventores han observado que las uniones que forman las estructuras de los dímeros de ácido α L-glucurónico
55 permiten una mejor adhesión del policación. En el alginato las fracciones de G y M (fm y fg) varían dependiendo de su origen y de su tratamiento posterior. En una realización preferente el alginato que se utiliza presenta al menos un 70% de fracción G.

60 Los carrageenanos útiles para poner en práctica la invención son obtenibles de forma comercial, y pueden ser en principio de cualquier tipo, procedencia y estructura, tal como por ejemplo el κ -carragenan.

65 El policación puede ser en principio cualquier policación convencional que sea biocompatible y biodegradable. En una realización particular de la invención el policación se selecciona del grupo formado por poli-L-lisina, heparina, polietileno glicol, chitosan, poli-L-ornitina, polímeros sintéticos convencionales, tales como por ejemplo poli-metileno-co-guanidina y poli-etilen-amina, y mezclas de los mismos. En una realización particular el policación es una mezcla de heparina y poli-L-lisina. La utilización de heparina combinada con poli-L-lisina puede disminuir la respuesta fibrótica. En otra realización particular el policación es poli-L-lisina.

ES 2 363 397 A1

La microesfera de la invención presenta un tamaño variable dentro de amplios márgenes. Generalmente su tamaño puede estar comprendido entre 5 micras y 5000 micras, preferentemente entre 50 y 1000 micras y más preferentemente entre 100 y 500 micras. Los espesores de las capas de polianión, policatión y de recubrimiento de plata pueden variar asimismo entre amplios márgenes, dependiendo del número de nanocapas que conforman las capas. Generalmente el espesor del recubrimiento de policatión está comprendido entre 1 y 100 nm, en particular entre 5 y 75 nm, y más particularmente entre 15-50 nm.

En una realización particular la capa de polianión está depositada y en contacto con un núcleo de tamaño y composición variable. Las microesferas por tanto de la invención pueden presentar diversas estructuras y composiciones sin que ello altere su capacidad antibacteriana y/o antifúngica

En una realización preferente la capa del polianión (i) es el núcleo de la microesfera tal y como se ilustra en la Figura 1 y su tamaño es asimismo variable dentro de amplios márgenes.

En otra realización preferente la microesfera comprende un núcleo de alginato, un recubrimiento de poli-L-lisina sobre dicho núcleo y nanopartículas de plata sobre el recubrimiento de poli-L-lisina.

La plata del recubrimiento se encuentra como nanopartículas de Ag, generalmente polidispersas, que consisten en agregados de átomos de plata con un tamaño variable, típicamente comprendido entre 1 y 100 nm. Como se describe a continuación la plata puede estar neutra (como Ag(0)), es decir, inactiva, oxidada como Ag⁺ es decir, activa, o como mezclas de Ag(0) y Ag⁺.

Las microesferas de la invención pueden obtenerse mediante un procedimiento que comprende recubrir con nanopartículas de plata microesferas que comprenden una capa de un polianión y una capa de un policatión sobre la capa de polianión. Las microesferas que pueden recubrirse con Ag(0) pueden presentar diversas estructuras como se ha mencionado anteriormente. En este sentido estas microesferas pueden contener un núcleo variable, sobre el mismo una capa de polianión, y sobre éste una capa de policatión o un núcleo de polianión y sobre éste una capa de policatión.

La obtención de las microesferas puede hacerse en principio según varios procedimientos convencionales del estado de la técnica que variarán en función de su estructura. En una realización particular se obtienen microesferas que comprenden un núcleo de polianión y una capa de policatión según el procedimiento que se describe a continuación y que comprende las siguientes etapas:

- a) preparación de una disolución de un polianión en agua destilada; de una solución de un policatión en agua destilada y de una disolución que comprende al menos un catión divalente;
- b) obtención de microesferas de polianión poniendo en contacto la disolución de polianión y de catión divalente;
- c) puesta en contacto entre las microesferas de polianión obtenidas en la etapa b) y la solución de policatión; y
- d) obtención de las microesferas (microesferas polianión-policatión).

En la etapa a) a disolución de polianión se prepara con una concentración típicamente de entre 1-4% en peso de un polianión en agua destilada; la solución de un policatión, se prepara con una concentración típicamente de entre 0.1-1% en peso en agua destilada y la disolución que comprende al menos un catión divalente, puede comprender por ejemplo, Ca, Sr, Ba, o mezclas de los mismos típicamente con una concentración comprendida entre 20-100 nM en agua destilada.

La obtención de las microesferas de polianión en la etapa b) se lleva a cabo generando una microgotícula de la disolución de polianión que se somete a un potencial. La microgotícula fragmenta y cae a la disolución que contiene el catión divalente. Las microesferas que se obtienen están formadas por polianión estabilizado por enlaces iónicos.

Estas microesferas se ponen en contacto a continuación con la solución de policatión obteniéndose las microesferas polianión-policatión por atracción electrostática.

En una realización particular de este procedimiento, las microgotículas de disolución de polianión se forman haciendo pasar la disolución por una tubuladura, por extracción desde un recipiente que la contiene mediante la acción de una bomba peristáltica. La disolución se hace pasar por una aguja de extrusión (cono no biselado) a una perfusión típicamente de 4 ml/hora. La microgotícula que se genera en la punta de la aguja es sometida a un potencial generalmente de 10.000 V en un dispositivo en el que la aguja es el polo positivo y un aro de cobre es el polo negativo siendo la distancia entre la punta de la aguja y el anillo de 6 cm. La microgotícula sometida al potencial fragmenta y cae en la disolución que contiene el catión y que se mantiene al igual que la solución de polianión bajo agitación. Los iones divalentes difunden en el interior de la mezcla de polianión formando microesferas formadas por polímero estabilizado por enlaces iónicos. Las microesferas se mantienen un tiempo en la disolución, se lavan con abundante agua destilada y se introducen a continuación en la suspensión de policatión. La disolución resultante se mantiene típicamente 2 horas formándose por atracción electrostática la capa de policatión.

ES 2 363 397 A1

Las microesferas formadas polianión-policación se comportan como una membrana semipermeable, donde la estabilidad mecánica la confiere el complejo polianión-policación, la electropositividad viene determinada por el policación y ello permite el posterior anclaje en superficie de las nanopartículas de Ag(0).

5 El procedimiento anterior proporciona unas microesferas de tamaños de diámetros variables aproximadamente entre 5 y 5000 micras, dependiendo de los siguientes parámetros de control: a) la concentración de polianión en la disolución; en general a menor concentración menor tamaño; b) el diámetro de la aguja de extrusión (a menor diámetro, menor tamaño); y c) el voltaje y diferencia de potencial entre la aguja y el anillo de cobre (a mayor diferencia de potencial, menor tamaño).

10 Las nanopartículas de plata pueden obtenerse mediante procedimientos bien conocidos para un experto en la materia. En una realización particular se obtienen en forma de una solución de nanopartículas de plata estabilizada con citrato sódico mediante un método bien conocido que comprende: (i) disolver una sal precursora de plata como por ejemplo AgNO₃ en agua; (ii) llevar la solución a ebullición en presencia de citrato sódico; y (iii) dejar enfriar a temperatura ambiente. Mediante este procedimiento se obtiene una solución amarilla mostrando la presencia de nanopartículas de plata.

15 A continuación las microesferas polianión-policación previamente obtenidas según cualquiera de los procedimientos convencionales de la técnica, se adicionan a la solución de nanopartículas de plata obteniéndose las microesferas con Ag(0) de la invención.

Entre los procedimientos alternativos para la preparación de las microesferas polianión-policación cabe destacar los siguientes:

25 El procedimiento en el que la obtención de microesferas se lleva a cabo mediante extrusión a través de una aguja controlando el diámetro. Este procedimiento según los inventores no permite un adecuado control de los diámetros de las microesferas. Para tamaños inferiores a 500 micras se precisan diámetros de luz inferiores a 1 mm (de la aguja).

30 El procedimiento en el que la obtención de las microesferas se hace mediante el empleo de aire coaxial (efecto venturi), que permite generar microesferas pequeñas de menos de 500 micrometros, aunque la distribución de tamaños no es demasiado homogénea. El aire coaxial es usado para empujar las gotas desde la punta de la aguja hasta el baño de electrolitos.

35 El procedimiento en el que la obtención de las microesferas se hace mediante el empleo de un sistema de vibración en cámara presurizada.

40 El procedimiento en el que la obtención de las microesferas se hace mediante el empleo de un sistema rotatorio de corte. El gel es cortado en segmentos cilíndricos, formándose las microesferas gracias a la tensión superficial. De esta forma es difícil controlar el tamaño de las microesferas, tendiendo estas a coalescer en grandes masas.

45 Las microesferas de la invención pueden ser almacenadas en estado inactivo en cualquier recipiente por ejemplo de vidrio o plástico con agua destilada. Ventajosamente no sufren fotodegradación y no precisan frío para su conservación. No obstante, no es aconsejable su almacenamiento a temperaturas próximas a la congelación, ni superiores a 80°C. Los inventores han observado que a temperatura fisiológica y a temperatura ambiente mantienen su capacidad antibacteriana intacta.

50 En otro aspecto la invención se relaciona con una composición farmacéutica que comprende las microesferas de la presente invención. Dicha composición farmacéutica es adecuada para su uso en el tratamiento y/o prevención de un proceso infeccioso. Por proceso infeccioso debe entenderse cualquier proceso infeccioso o microbiano causado por un microorganismo patógeno por ejemplo una bacteria, un hongo, un virus o un parásito en un animal incluido el hombre. En general la concentración o cantidad de microesferas en la composición puede variar entre amplios márgenes. En una realización particular la composición farmacéutica de la invención contiene una cantidad terapéuticamente eficaz de microesferas. Típicamente la cantidad está comprendida entre 10² y 10¹² esferas dispersas en un volumen que oscila de 1 a 10 cc. En el contexto de la presente invención por cantidad terapéutica eficaz se entiende aquella cantidad suficiente y capaz de proporcionar un efecto terapéutico y/o profiláctico.

55 Sin embargo las microesferas con Ag(0) no son activas desde el punto de vista antimicrobiano. Esto es debido a que dicha actividad de la plata, que conduce finalmente a la muerte del microorganismo y/o a la detención de su proliferación, se debe al catión Ag⁺ que produce una lesión química en el microorganismo. El tipo de lesión química puede ser diverso y en algunos casos los mecanismos no están claros o están siendo estudiados actualmente. En general es bien conocido que la Ag⁺ produce una lesión química a nivel de la pared bacteriana creando poros, y posteriormente se fija al ADN. En el caso de parásitos y virus su actividad antiparasitaria o virucida se debe en principio a la lesión directa en el ADN y posiblemente de la cápside del virus, pero estos mecanismos no están claros actualmente.

65 Para alcanzar este estado activo es necesaria la transformación de microesferas que presentan Ag(0) inactivas, a microesferas denominadas activadas que presentan al menos en parte Ag⁺, mediante un agente de oxidación. Esta oxidación se realiza preferiblemente en el momento previo a la administración de una composición farmacéutica que contiene las microesferas de la invención en las que la Ag(0) ha comenzado a oxidarse. No obstante, y de forma

alternativa o consecutiva, la oxidación puede tener lugar en el sitio de aplicación de las microesferas en el cuerpo animal, incluido el hombre. Un ejemplo de un medio capaz de activar la Ag en un cuerpo es un medio rico en aniones cloruro como por ejemplo el intersticio celular o el medio interno de cavidades como la peritoneal.

5 En este sentido el procedimiento de preparación de las microesferas anteriormente descrito puede comprender además una etapa denominada de activación que comprende la puesta en contacto de las microesferas con Ag(0) con una composición oxidante para preparar microesferas que comprenden Ag+ activas. Por lo tanto un objeto adicional de la presente invención se refiere a un procedimiento para la activación de las microesferas con Ag(o) de la presente invención que comprende ponerlas en contacto con un agente oxidante para obtener microesferas que comprenden
10 Ag+.

Por tanto la composición farmacéutica de la invención puede comprender microesferas en las que la plata puede estar como Ag(0), o puede estar como plata oxidada (Ag+), o puede estar como mezcla en cualquier proporción de Ag(0) y (+1).
15

En una realización particular la composición farmacéutica que comprende microesferas es una suspensión de las mismas. En una realización particular es una suspensión en agua destilada, que opcionalmente puede contener además uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. En una realización particular la composición oxidante arriba mencionada es una disolución que comprende cualquier agente oxidante farmacéuticamente aceptable. En una realización preferente el oxidante es H₂O₂, más preferiblemente en agua destilada. Adicionalmente esta composición oxidante puede contener uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Para preparar la composición farmacéutica de la invención así como la composición oxidante puede utilizarse cualquier otro medio farmacéuticamente aceptable distinto de agua destilada, o mezclas de dicho medio con agua destilada en cualquier proporción. Los excipientes opcionales para estas composiciones, tales como tampones para controlar el pH, surfactantes, etc., pueden ser fácilmente seleccionados por el experto en la materia.
20
25

La cantidad de microesferas en la composición farmacéutica puede variar entre amplios márgenes como se ha mencionado anteriormente. La concentración de agente oxidante en la composición oxidante puede asimismo variar entre amplios márgenes. En otra realización particular la composición oxidante contiene una cantidad de agente oxidante capaz de iniciar la oxidación de la Ag(0) presente en una composición farmacéutica según la invención. Típicamente presenta entre 0,1% y 50% de H₂O₂ al 90% de concentración en disolución acuosa. Dicha solución acuosa puede ser agua destilada, suero fisiológico, suero glucosado, o ringer lactato.
30

Otro objeto adicional de la presente invención se refiere a un kit que comprende la composición farmacéutica que comprende microesferas que presentan Ag(0) y una composición oxidante. Tanto la composición farmacéutica como la composición oxidante deben ser ambas estériles y farmacéuticamente aceptables, y pueden prepararse de acuerdo con métodos estándar descritos o referidos en las farmacopeas española o estadounidense o en textos similares.
35

En una realización particular del kit de la presente invención, la composición farmacéutica son 10 ml de una suspensión de microesferas en agua destilada (obtenida según el ejemplo 1) y la composición oxidante son 0.1 ml de H₂O₂ al 90% de concentración, en disolución acuosa, cantidad necesaria para activar esos 10 ml.
40

La composición farmacéutica que contiene las microesferas puede ser administrada en una cantidad terapéuticamente eficaz por cualquier vía de administración adecuada, como por ejemplo por vía tópica, local o locoregional, intraperitoneal, intrapleural, intraraquídea, intramedular, intravesical, mediante depósito directo -acto quirúrgico-, mediante punción pleural o intraperitoneal de un animal, incluido el humano, que se encuentre en necesidad de un tratamiento terapéutico y/o profiláctico de un proceso infeccioso. En el contexto de la invención por cantidad terapéutica eficaz se entiende aquella cantidad suficiente y capaz de proporcionar un efecto terapéutico o profiláctico en un animal, incluido el hombre, tratado.
45
50

En una realización particular la composición farmacéutica que comprende las microesferas con Ag(0) se activa por contacto con una composición oxidante y continuación se administra a un animal incluido el hombre. En otra realización particular la composición farmacéutica que se administra puede contener microesferas con Ag(0) y la plata activarse *in situ* esto es en el lugar mismo de la administración por la presencia de un agente oxidante. Este es el caso por ejemplo de los aniones cloruro existentes por ejemplo en un medio interno. En otra realización particular la activación de la plata puede tener lugar tanto antes de su administración por contacto con una composición oxidante, como por oxidación después de su administración en un medio interno.
55

La composición farmacéutica puede administrarse en principio en cualquier zona anatómica de un animal, incluido el hombre. En una realización particular, y debido a las ventajas inherentes a las microesferas, dicha zona es una zona en la que un tratamiento antibiótico convencional por vía intravenosa o vía oral, o su uso local no es suficientemente eficaz por sus características. Dicha zona puede ser, por ejemplo, una cavidad natural del organismo, como el peritoneo, o una superficie de lesión de órganos sólidos o el tegumento cutáneo. El peritoneo es una zona especialmente interesante porque por su disposición anatómica resulta característicamente complejo establecer una terapia antibiótica. Otras zonas interesantes son aquellas que presentan procesos lesivos que modifican el micro-medio ambiente de la zona, resultando en un entorno favorable para la infección y con pobre capacidad de difusión antibiótica.
60
65

En una realización particular la composición farmacéutica es para su uso a nivel local o locoregional de cavidades naturales como tórax, abdomen, pelvis etc., más en particular, para su uso en pacientes en los que se realiza una cirugía sucia o sucia-contaminada como peritonitis fecaloidea, destrozo de asas intestinales, necrosis mesentérica, dehiscencias de sutura, lavado de región retroperitoneal en contextos como la pancreatitis aguda grave necrohemorrágica, drenaje de absesos, etc.

En otra realización particular la composición farmacéutica es para su uso en la prevención o profilaxis de un proceso infeccioso, de tipo séptico grave, en particular en un paciente con un proceso de hipoproteinemia o que presenta un mal estado nutricional previo a la cirugía, en intervenciones sobre tejidos desvitalizados, reintervenciones, o en cirugías paliativas sobre procesos neoplásicos, etc. cuya evolución complicada pueda ser una dehiscencia de sutura o translocación bacteriana con el consecuente proceso séptico.

En otra realización particular la composición farmacéutica es para su uso en el tratamiento y/o profilaxis de un proceso infeccioso en un proceso mórbido cuya evolución posible implique un proceso de infección de transudados-exudados ya sean o no subsidiarios de terapéutica quirúrgica o médica (vg peritonitis bacteriana en pacientes cirróticos, acumulo de líquido peritoneal en el contexto de cirrosis hepática crónica, ascitis de origen neoplásico, hipertensión portal, hipoalbuminemia o hipoproteinemia de cualquier origen, etc.).

En otra realización particular la composición farmacéutica es para su uso en el tratamiento y/o profilaxis de un proceso infeccioso en relación con un proceso quirúrgico o invasivo, en particular, en pacientes más proclives a padecer infecciones, como son los pacientes trasplantados, los inmunodeprimidos (ya sea de forma terapéutica o mórbida), pacientes pluripatológicos, pacientes neoplásicos, pacientes sometidos a diálisis peritoneal, etc.

En otra realización particular dicha composición farmacéutica es para su uso en el tratamiento y/o profilaxis coadyuvante a un tratamiento y/o profilaxis convencional de un proceso infeccioso. En el contexto de la presente invención tratamiento y/o profilaxis coadyuvante significa que dicho tratamiento y/o profilaxis de un proceso infeccioso que comprende la administración de la composición farmacéutica de la invención, se realiza conjuntamente con un tratamiento y/o profilaxis convencional de un proceso infeccioso. En término conjuntamente con en el contexto de la presente invención debe de interpretarse de manera amplia en el sentido de que ambos tratamientos y/o profilaxis pueden llevarse a cabo en un paciente bien uno antes y otro después en el tiempo, o de forma simultánea, y en cualquier régimen de administración, tipo de vía de administración dosis de administración, etc. que sea adecuada a las necesidades de un paciente.

La cantidad de composición farmacéutica que se utiliza para el tratamiento y/o profilaxis en un paciente, puede ser variable dependiendo entre otros factores de si se trata de un tratamiento terapéutico, de un tratamiento profiláctico, o de si se trata de un tratamiento coadyuvante como se ha mencionado arriba. Asimismo la cantidad de composición farmacéutica que se utiliza dependerá de la gravedad y extensión del proceso infeccioso, de la condición del paciente, sexo, peso, etc. En una realización particular se utiliza una cantidad suficiente para la cobertura de la cavidad abdominal en un proceso peritoneal difuso. Dicha cantidad es típicamente de unos 10 ml de una suspensión de microesferas (en la que existen unas 200.000 esferas de 500 micras de diámetro o unas 127.000.000.000 de esferas de 50 micras de diámetro) (previa activación con una composición oxidante).

Las microesferas de la presente invención presentan numerosas ventajas entre las que cabe destacar la gran capacidad de difusión de los iones plata a nivel local, tanto por sus características intrínsecas, como por su administración/disposición directa a nivel local, es decir en el lugar por ejemplo de una infección. Su configuración esférica y su pequeño tamaño (del orden de 5 a 5000 micras), confieren una elevada superficie de exposición y permiten que mínimas cantidades de microesferas generen actividad antimicrobiana en grandes volúmenes de distribución. Además la duración de su actividad se mantiene de forma local durante incluso semanas, o meses, siendo ésta por tanto muy superior a la vida media de los antibióticos aplicados localmente (horas). Esta duración en el tiempo se debe a que por un lado la actividad antimicrobiana de la plata es algo conocido desde hace mucho tiempo, de modo que mientras existan nanopartículas de plata en el entorno liberando iones plata existe dicha actividad y por otro lado se debe a que la plata no se absorbe a nivel tisular por lo que permanece su acción local.

Puesto que son biocompatibles y biodegradables, no es necesaria su retirada, lo que constituye una importante ventaja en comparación con terapias que implican el empleo de dispositivos para irrigar una solución antibiótica, cambios durante el tratamiento y manipulaciones que aumentan el riesgo de infecciones y que constituyen una puerta de conexión de una cavidad con el exterior (séptico).

En comparación por ejemplo con el tratamiento con antibioterapia local de pacientes dializados a través del peritoneo con peritonitis bacteriana, las microesferas presentan una ventaja adicional debida a la duración del efecto, no precisando perfusión continua de antibióticos ni dosis repetidas discontinuas según niveles de biodisponibilidad del fármaco en sangre.

En un último aspecto adicional la invención se relaciona con el empleo de las microesferas de la invención en la elaboración de una composición farmacéutica para el tratamiento y/o profilaxis de un proceso infeccioso. En una realización particular dicha composición farmacéutica es para el tratamiento y/o profilaxis coadyuvante a un tratamiento y/o profilaxis de un proceso infeccioso convencional.

ES 2 363 397 A1

A continuación se presentan ejemplos ilustrativos de la invención que se exponen para una mejor comprensión de la misma y en ningún caso deben considerarse una limitación del alcance de la misma.

5 Ejemplos

Ejemplo 1

Microesferas de alginato-poli-L-lisina y Ag(0), su obtención y ensayos de actividad

10

Dispositivo: el dispositivo utilizado constaba de

- Bomba peristáltica (para obtención de flujos de perfusión continuos)
- 15 - Aguja de extrusión de cono no biselado, de diámetro interno inferior a 1 mm.
- Tubuladuras.
- 20 - Fuente de alta tensión (1-20 kV). Conexiones aisladas para anillo de cobre y aguja. Entre la punta de la aguja y el anillo de cobre se establece la diferencia de potencial que facilita la extrusión de la microgotícula de alginato a través de la aguja, adoptando en su caída una forma esférica.
- Bases para sujeción de los elementos como tubuladura, aguja y anillo de cobre.
- 25 - Anillo de cobre convencional de un diámetro de 10 cm.

Etapas

30 Se prepararon: una disolución de alginato (destinado a uso clínico- garantizado un 70% o más de Fg) en agua destilada al 4%; una disolución de poli L lisina en agua destilada al 0,1%; y una disolución de cloruro cálcico al 1,5%.

35 La disolución de alginato mantenida bajo agitación magnética se hizo pasar por una tubuladura que extrae el alginato del recipiente que la contiene mediante la acción de una bomba peristáltica. La disolución se hizo pasar por una aguja de extrusión (cono no biselado) a una perfusión de 4 ml/hora. La microgotícula generada en la punta de la aguja fue sometida a un potencial de 10.000 V en un dispositivo en el que la aguja es el polo positivo y un aro de cobre es el polo negativo siendo la distancia entre la punta de la aguja y el anillo de 6 cm. La microgotícula fragmentada cayó en la disolución de $CaCl_2$ mantenida bajo agitación magnética. La suspensión obtenida se mantuvo 5 minutos. Las esferas formadas se lavaron con abundante agua destilada, y se introdujeron en la suspensión de poli-L-lisina durante 2 horas formándose las microesferas alginato-poli-L-lisina.

45 A parte se preparó una solución de nanopartículas de plata estabilizada con citrato sódico. Para ello se disolvieron 9 mg de nitrato de plata en 50 mL de agua en un recipiente; esta solución se llevó a ebullición (100°C) añadiendo 1 mL de citrato sódico al 1% durante dos horas. Posteriormente se dejó enfriar a temperatura ambiente y se obtuvo una solución amarilla que mostraba la presencia de nanopartículas de plata. El espectro de dicha solución mostró un pico máximo típico a 437 nm, indicativo de la presencia de nanopartículas de plata.

50 A continuación se pusieron en contacto la solución de nanopartículas y la solución de las microesferas alginato-poli-L-lisina, obteniéndose el recubrimiento de nanopartículas de Ag0.

55 El recubrimiento del microgel de alginato funcionalizado con una carga positiva (poli L Lys) pasa a ser negativo con el recubrimiento de nanopartículas de plata. Este hecho es demostrado mediante la medida del Z-potencial usando un Zetasizer Nano-Z de esta solución. El resultado de esta medida fue -31.6 mV, correspondiente a las cargas de superficie de las microesferas.

Las microesferas obtenidas se almacenaron en un recipiente de vidrio o plástico con agua destilada a temperatura ambiente siendo la cantidad de microesferas de 20.000 esferas/cc de 500 micras de diámetro.

60 *Caracterización*

Las microesferas de la invención con Ag(0) han sido caracterizadas mediante micrografía electrónica (SEM) (Figura 2) en un microscopio "Hitachi Scanning Elecgron Microscope® modelo S-3500-N. Aplicación de 10 kV en vacío con un rango de magnificación de (40-10.000)x. Tecnología "Bal-Tec sputtering machine" para proporcionar una cobertura de una fina capa de grafito, 5 nm, para optimizar la conducción electrónica de las muestras.

65

ES 2 363 397 A1

Activación de las microesferas

La activación de las microesferas se llevó a cabo a partir de 10 ml de la suspensión de microesferas obtenida arriba con 0.1 ml de agua oxigenada al 3%.

5

Ensayo de actividad in vitro

Se procedió al aislamiento de cepas de *E. Coli* multisensible. Estas cepas se obtuvieron de muestras para cultivo extraídas de pacientes con patología infecciosa ingresados en el área de Medicina Interna del Hospital Torrecárdenas (Almería). Tras el aislamiento de las cepas de *E. coli* se procedió a siembra de la muestra con asa estéril en placas de Petri con agar común. Las placas inoculadas se sometieron a exposición para testado de actividad bactericida de anillos (tipo filtro) impregnados en amoxicilina-clavulánico 870-125 mg (brazo experimental control) frente al uso de anillos de microesferas (unas 10 microesferas en cada anillo) (brazo experimental intervención). Las esferas fueron activadas previamente a su uso con 2 ml de H₂O₂ (para una suspensión de 10 ml de microesferas). Los resultados obtenidos, tras 48 horas de incubación en estufa de CO₂ con camisa de agua, fueron unos halos de inhibición sin presencia de resistencia en ambos grupos con una diferencia de tamaño estadísticamente significativa (t-Student para contraste de medias; $p < 0.05$ // considerando las medias de los diámetros de los halos de ambos grupos); placas control diámetro 12±7 mm vs placas intervención 19±4 mm.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Microesfera que comprende:

- 5 (i) una capa de un polianión;
(ii) un recubrimiento de un policatión en contacto con la parte externa de la capa de polianión;
10 (iii) un recubrimiento de plata en contacto con la parte externa del recubrimiento de policatión.

2. Microesfera según la reivindicación 1, en la que la capa (i) de un polianión es el núcleo de la microesfera.

15 3. Microesfera según la reivindicación 1 o 2, en la que el polianión se selecciona entre alginato, ácido poliglicólico, copolímero de ácido poliglicólico y ácido láctico, agarosa, poliacrilatos, carragenan y sus mezclas, preferiblemente alginato.

20 4. Microesfera según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que el policatión se selecciona entre poli L lisina, heparina, polietileno glicol, chitosan, poli-L-ornitina, poli-metilen-co-guanidina, poli-etilen-amina y sus mezclas, preferiblemente poli-L-lisina, mezcla de heparina y poli-L-lisina, más preferiblemente poli-L-lisina.

5. Microesfera según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende un tamaño entre 5 micras y 5000 micras, preferentemente entre 50 y 1000 micras y más preferentemente entre 100 y 500 micras.

25 6. Microesfera según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que comprende una capa o núcleo de alginato, un recubrimiento de poli-L-lisina y nanopartículas de plata.

30 7. Microesfera según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que la plata se encuentra en estado (0), oxidada (+1) o como mezcla de ambos.

8. Composición farmacéutica que comprende microesferas, según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores.

35 9. Composición farmacéutica según la reivindicación 8, para su uso en el tratamiento y/o profilaxis de un proceso infeccioso.

10. Composición farmacéutica según la reivindicación 9, en el que dicho uso es coadyuvante a un tratamiento y/o profilaxis de un proceso infeccioso.

40 11. Composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, para su administración por vía tópica, local o locoregional, intraperitoneal, intrapleural, intrarraquídea, intramedular, intravesical, mediante depósito directo -acto quirúrgico-, mediante punción pleural o intraperitoneal.

45 12. Procedimiento para la obtención de una microesfera según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, que comprende:

1) obtener microesferas que comprenden:

- 50 (i) una capa o un núcleo de un polianión;
(ii) un recubrimiento en contacto con la parte externa de dicha capa o núcleo de policatión; y

2) ponerlas en contacto con nanopartículas de plata (0).

55 13. Procedimiento para la activación de las microesferas una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, que presenta un recubrimiento de plata (0) que comprende poner en contacto dichas microesferas con una composición oxidante.

14. Procedimiento según la reivindicación 13, en el que la composición oxidante comprende H_2O_2 o anión cloruro.

60 15. Un kit que comprende una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 11, en el que las microesferas presentan plata en estado (cero) y una composición oxidante.

65 16. Un kit según la reivindicación 15, en el que la composición oxidante es una disolución acuosa que comprende H_2O_2 .

17. Empleo de una microesfera según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento y/o profilaxis de un proceso infeccioso.

ES 2 363 397 A1

18. Empleo según la reivindicación 17, en el que dicho tratamiento y/o profilaxis es coadyuvante a un tratamiento y/o profilaxis de un proceso infeccioso.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

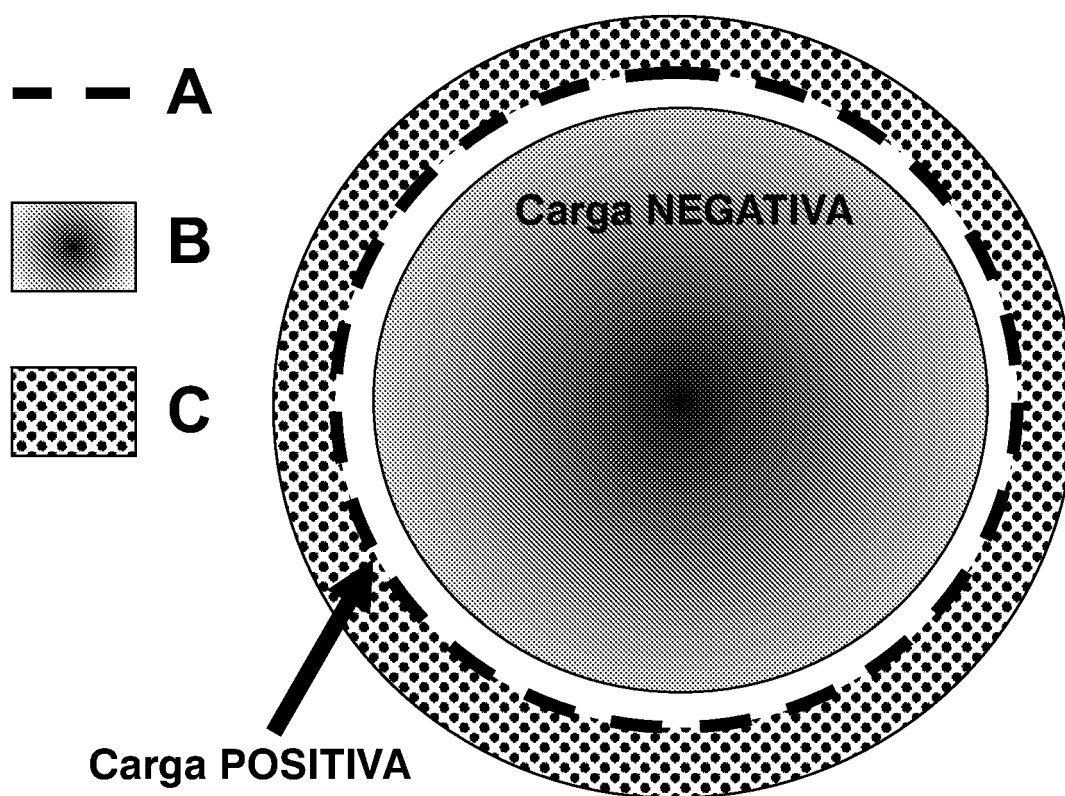


FIG. 1

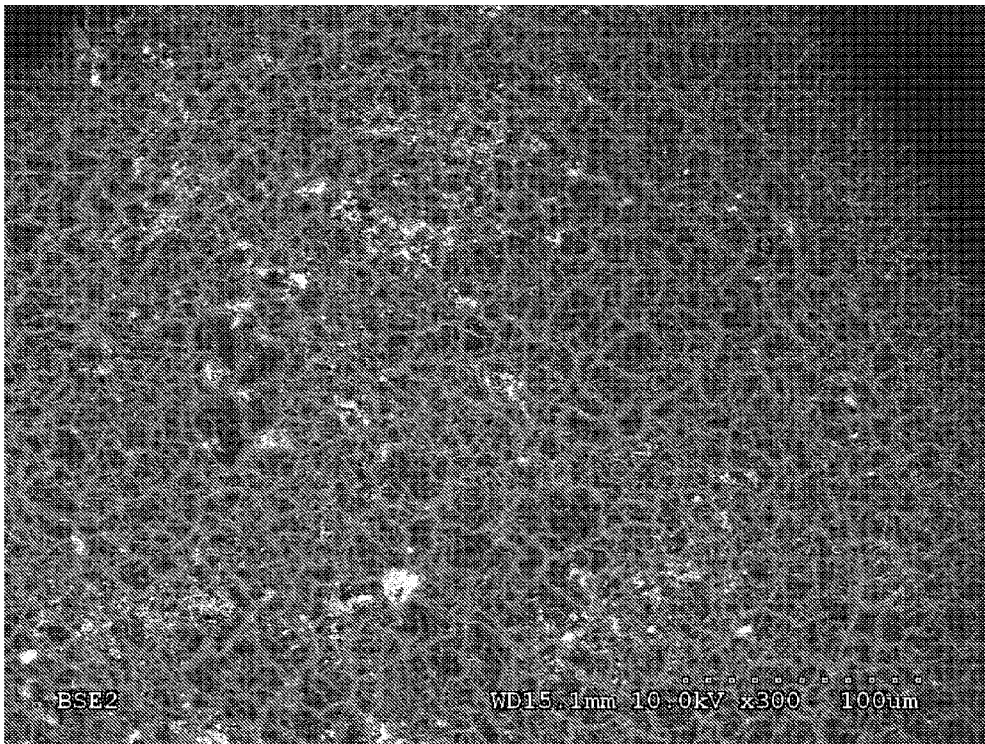


FIG. 2A

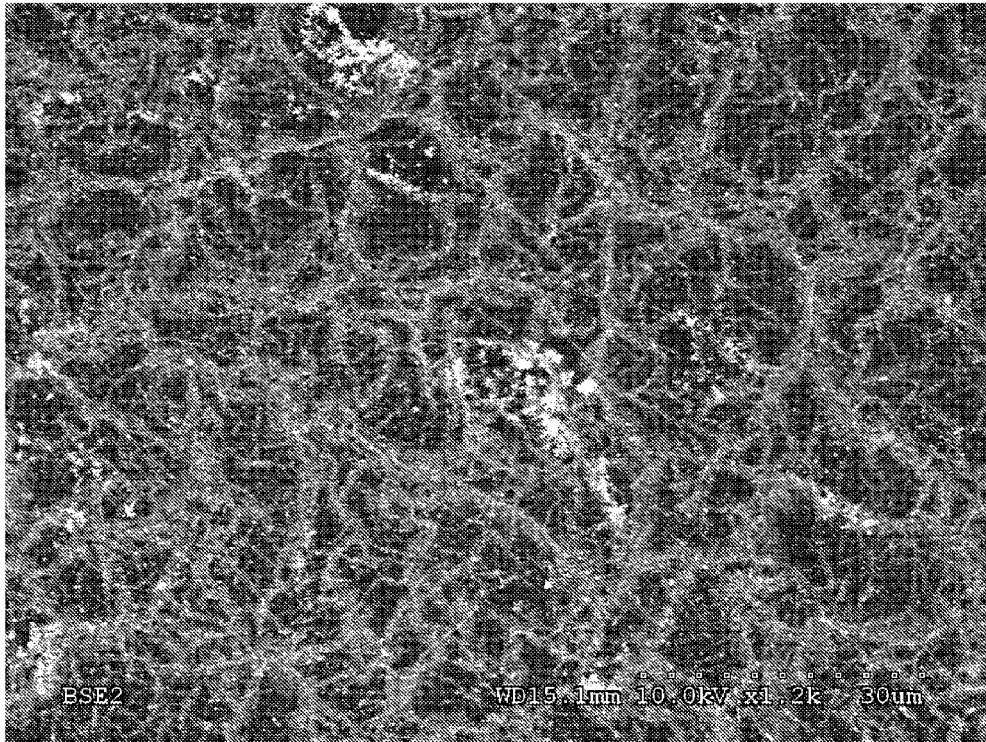


FIG. 2B

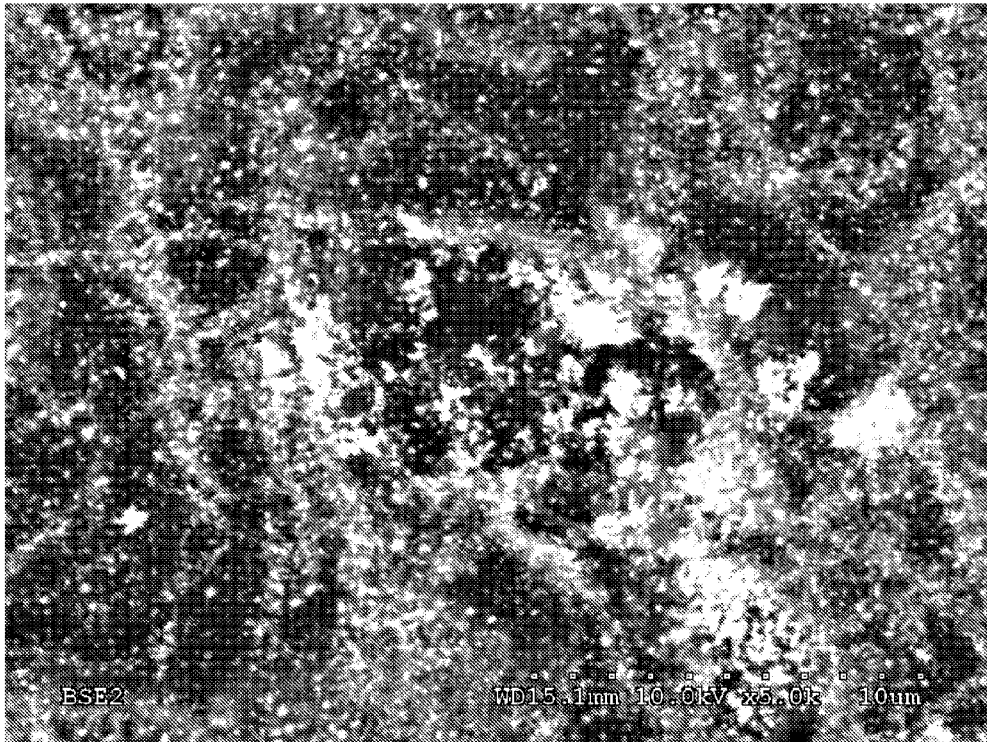


FIG. 2C



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②¹ N.º solicitud: 201030041

②² Fecha de presentación de la solicitud: 18.01.2010

③² Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤¹ Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	US 6726934 B1 (PROKOP) 27.04.2004, columna 1, líneas 14-20; columna 3, líneas 36-46; ejemplos 1,3,7; tabla I.	1-18
A	PONCE, SARA et al.; Chemistry and the biological response against immunoisolating alginate-polycation capsules of different composition; Biomaterials 27 (2006), páginas 4831-4839.	1-18
A	US 2009214660 A1 (VASCONCELLOS, A. et al.) 27.08.2009, párrafos [0008]-[0016],[0134].	1-18
A	EP 136768 A2 (LABORATORIOS BIOCHEMIE DE MEXICO S.A. DE C.V.) 10.04.1985, página 3, línea 29 – página 4, línea 25.	13,14

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
24.02.2011

Examinador
N. Vera Gutiérrez

Página
1/4

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

A61K9/16 (01.01.2006)

A61K9/50 (01.01.2006)

A61P31/00 (01.01.2006)

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

A61K, A61P

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, MEDLINE, BIOSIS, NPL

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 24.02.2011

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-18	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 1-18	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	US 6726934 B1	27.04.2004
D02	PONCE, SARA et al.; Chemistry and the biological response against immunisolating alginate-polycation capsules of different composition; Biomaterials 27 (2006), páginas 4831-4839.	
D03	US 2009214660 A1	27.08.2009
D04	EP 136768 A2	10.04.1985

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 una microesfera que comprende: i) una capa de polianión; ii) un recubrimiento de un polication en contacto con la parte externa de la capa de polianión; iii) un recubrimiento de plata en contacto con la parte externa del recubrimiento de polication.

Los documentos D01-D03 divulgan micropartículas multicapas que presentan un núcleo de polianión (alginato) recubierto por una capa de polication, para ser empleadas en medicina y farmacia.

No se han encontrado en el estado de la técnica documentos que divulguen micropartículas que comprendan un núcleo de polianión recubierto por un polication y que presenten un recubrimiento de plata en contacto con la parte externa del recubrimiento de polication. Tampoco se han encontrado indicios que puedan llevar al experto en la materia a incorporar un recubrimiento exterior de plata a las micropartículas ya existentes.

Por ello, se considera que la invención recogida en las reivindicaciones 1-18 de la solicitud es nueva e implica actividad inventiva (Artículos 6.1 y 8.1 L.P.)