

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 542 058**

51 Int. Cl.:

A61K 47/48 (2006.01)

A61K 9/51 (2006.01)

A61K 9/107 (2006.01)

A61K 9/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.03.2008 E 08744731 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.04.2015 EP 2142216**

54 Título: **Formulaciones en forma de partículas y usos de las mismas**

30 Prioridad:

30.03.2007 US 909272 P

19.08.2007 US 956702 P

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

30.07.2015

73 Titular/es:

PARTICLE SCIENCES, INC. (100.0%)

3894 COURTNEY STREET SUITE 180

BETHLEHEM, PA 18017, US

72 Inventor/es:

LOXLEY, ANDREW;

MITCHNICK, MARK;

FAIRHURST, DAVID y

EATMON, CHRISTY, ANN

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 542 058 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

Formulaciones en forma de partículas y usos de las mismas

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a formulaciones en forma de partículas química y físicamente estables para uso en la administración de ingredientes farmacéuticos activos, y a procedimientos para su producción. Dichas formulaciones en forma de partículas son particularmente útiles como vacunas en las que una dispersión coloidal de partículas cargadas eléctricamente se mezcla con una solución de antígenos de una vacuna de subunidades. La presente invención se refiere también a métodos para aumentar la respuesta biológica a un ingrediente farmacéutico activo mediante la formulación del ingrediente farmacéutico activo con las partículas química y físicamente estables, y a métodos para preparación y uso profiláctico y/o terapéutico de estas formulaciones de ingrediente farmacéutico activo con partículas química y físicamente estables.

Antecedentes de la invención

Se conocen diversas formulaciones en forma de partículas para uso en vacunas.

15 Por ejemplo, el adyuvante de Freund es una emulsión de gotitas de aceite mineral utilizado habitualmente en vacunas experimentales para estimular el sistema inmunitario. El adyuvante de Freund es tóxico en los seres humanos y no se utiliza en las vacunas comerciales humanas.

La vacuna tetravalente recientemente aprobada de partículas similares al virus HPV-6/11/16/18, GARDASIL® (Merck & Co.) comprende partículas relativamente grandes de adyuvante de hidroxifosfato sulfato de aluminio amorfo.

20 Se ha descrito también una nanoemulsión antimicrobiana compuesta de aceite de soja, agentes emulsionantes, y etanol. La emulsión tiene partículas 200 nM que inactivan a los virus con envoltura fusionándose con el virus y rompiendo su membrana. Cuando se mezcló este material con el virus de la gripe y se puso en las narices de animales, produjo rápidas e intensas respuestas inmunitarias que protegieron a los animales de posteriores exposiciones al virus. Esta inmunidad se consiguió con una única aplicación de virus y de nanoemulsión e implicó tanto componentes mucosales como componentes citotóxicos. (Myc *et al.* Vaccine 21(25-26); 2003, 3801-3814).

También han sido descritas por Mumper (mc con la extensión uky.edu/pharmacy/new_archive.asp?id=92 de la web), partículas de lípidos seguros de tamaño nanométrico con cera emulsionante cargadas para uso en la administración de agentes quimioterapéuticos tales como el paclitaxel que tiene como objetivo las células del cáncer de mama.

30 Ha sido descrito también el atrapamiento del antígeno toxoide tetánico en partículas de polímeros degradables, en particular partículas de PLA, mediante la evaporación del disolvente para aumentar la respuesta inmunitaria a este antígeno (Panda *et al.* nii con la extensión .res.in/res2002/resim027.html de la web).

También ha sido descrita la adsorción del antígeno toxoide tetánico a la superficie de partículas de poliéster cargadas.

35 Además, Rudolph *et al.* (Pharmaceutical Research 2004 21 (9):1662-1669) describen una dispersión acuosa de nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) de palmitato de cetilo y el lípido catiónico cloruro de N,N-di-(β-estearoiletil)-N,N-dimetilamonio o 1,2-dioleil-sn-glicero-3-trimetilamoniopropano (DOTAP) en las que se adsorbió DNA en la superficie para administración a los pulmones. Ellos demostraron la expresión de la proteína codificada por el DNA después de administración desde un aerosol nebulizado a los pulmones de ratones.

Sumario de la invención

40 Un aspecto de la presente invención se refiere a una dispersión acuosa de partículas química y físicamente estables que tienen un diámetro medio inferior a 100 μm y que comprenden un material orgánico hidrófobo estable a la hidrólisis acuosa que interactúan con un ingrediente farmacéutico activo co-disuelto o co-dispersado.

45 Otro aspecto de la presente invención se refiere a una composición que comprende un ingrediente farmacéutico activo soluble en agua o dispersable en agua y una dispersión acuosa de partículas química y físicamente estables que tienen un diámetro medio inferior a 100 μm y que comprenden un material orgánico hidrófobo estable a la hidrólisis acuosa que interactúan con el ingrediente farmacéutico activo soluble en agua o dispersable en agua. En una realización, la composición es una formulación de vacuna que comprende una mezcla del antígeno de una vacuna de subunidades y una dispersión coloidal de partículas cargadas eléctricamente.

50 Otro aspecto de la presente invención se refiere a un procedimiento para formular composiciones para la administración de un ingrediente farmacéutico activo que comprende mezclar una solución o dispersión del ingrediente farmacéutico activo soluble en agua o dispersable en agua con una dispersión acuosa de partículas química y físicamente estables que tienen un diámetro medio inferior a 100 μm, comprendiendo dichas partículas un material orgánico hidrófobo estable a la hidrólisis acuosa, de manera que dichas partículas interactúan con el

ingrediente farmacéutico activo co-disuelto o co-dispersado. En una realización, el procedimiento se utiliza para producir una formulación de vacuna mediante la mezcla de una solución del antígeno de una vacuna de subunidades con una dispersión coloidal preformada de partículas cargadas eléctricamente.

5 Otro aspecto de la presente invención se refiere a un método para aumentar la respuesta biológica a un ingrediente farmacéutico activo que comprende administrar el ingrediente farmacéutico activo como una composición que comprende un ingrediente farmacéutico activo soluble en agua o dispersable en agua y una dispersión acuosa de partículas química y físicamente estables que tienen un diámetro medio inferior a 100 μm y que comprenden un material orgánico hidrófobo estable a la hidrólisis acuosa el cual interactúa con el ingrediente farmacéutico activo soluble en agua o dispersable en agua.

10 Todavía otro aspecto de la presente invención se refiere a métodos para uso profiláctico y/o terapéutico de estas formulaciones de ingrediente farmacéutico activo con las partículas química y físicamente estables. En una realización, se proporciona un método para inmunizar a un sujeto frente a un antígeno que comprende administrar al sujeto una formulación de vacuna que comprende una mezcla del antígeno de una vacuna de subunidades y una dispersión coloidal de partículas cargadas eléctricamente.

15 **Breve descripción de las figuras**

Las Figuras 1A y 1B son modelos de partículas catiónicas (Figura 1A) y aniónicas (Figura 1B) utilizadas en la dispersión acuosa de la presente invención.

20 La Figura 2 es un gráfico de barras que muestra la capacidad de las partículas de material orgánico hidrófobo tomadas como ejemplo, preparadas de acuerdo con la presente invención con componentes adicionales para decorar las partículas de la superficie y/o hacer que se cargue la superficie, para interactuar con la proteína gp140. En este experimento, las partículas comprendían cera de carnauba amarilla (YC) y se prepararon con los componentes adicionales Brij700 y chitosán, dodecilsulfato de sodio (SDS) o miristato de sodio (NaMa). Como se muestra, tanto las partículas catiónicas (YC-Brij-chitosán) como las partículas aniónicas (YC-SDS y YC-NaMa al 1 %) se unen eficientemente a la proteína.

25 La Figura 3 presenta gráficos de los resultados de experimentos en ratones inmunizados con composiciones de la presente invención. Se inmunizaron los ratones ($n=4/\text{grupo}$) con cualquiera de: partículas YC-SDS con gp140 (10 μg); partículas YC-NaMA con gp140 (10 μg); YC-Brij700-chitosán con gp140 (10 μg); o gp140 (10 μg) +adyuvante (alum). Cada animal recibió tres dosis, principal, de refuerzo y de refuerzo. A los grupos 1-4 se les administró la misma dosis de antígeno cada vez. En el Grupo 5, la primera dosis fue antígeno con adyuvante mientras que la segunda y tercera dosis fueron antígeno solo. Se administraron las composiciones subcutáneamente en un volumen de inyección (antígeno + formulación en solución salina) de 100 μl /dosis. Se tomaron muestras de sangre en cada inmunización y 4 semanas después de la dosis final. Se determinaron los niveles de IgG en suero después de la primera, segunda y tercera inmunizaciones.

Descripción detallada de la invención

35 La presente invención se refiere a una dispersión acuosa de partículas química y físicamente estables útil en preparaciones de composiciones que comprenden ingredientes farmacéuticos activos.

Las partículas de la dispersión acuosa de la presente invención interactúan con un ingrediente farmacéutico activo co-disuelto o co-dispersado.

40 Por interacción o que interactúa, como se usa en esta memoria, se entiende que el ingrediente farmacéutico activo se une, se adhiere o se liga a la partícula. Aunque sin limitarse a ninguna teoría, se cree que esta interacción puede tener lugar a través de fuerzas electrostáticas o hidrófobas.

45 En una realización a modo de ejemplo, las partículas comprenden un material orgánico hidrófobo estable a la hidrólisis acuosa. Los ejemplos de materiales orgánicos hidrófobos útiles en la presente invención incluyen, pero no se limitan de ningún modo a ceras orgánicas tales como cera de abejas y cera de carnauba, alcohol cetílico, alcohol cetearílico, alcohol behenílico, ácidos grasos, y ésteres de ácidos grasos. Para utilización en las partículas se prefiere una cera orgánica con un punto de fusión por encima de 25 $^{\circ}\text{C}$. En algunas realizaciones, las partículas de material orgánico hidrófobo pueden comprender además un aceite farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos de aceites farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a aceite mineral, aceites de origen vegetal (maíz, oliva, cacahuete, soja etc.) y fluidos de silicona tal como Dow Corning DC200. Para estas realizaciones, las partículas pueden comprender 1 % a 100 % de una cera orgánica con un punto de fusión por encima de 25 $^{\circ}\text{C}$ y 0 a 50 99 % de un aceite farmacéuticamente aceptable.

Son preferibles las partículas de un material orgánico hidrófobo cargadas eléctricamente.

Una realización adicional a modo de ejemplo de partículas cargadas eléctricamente útiles en la presente invención son las partículas compuestas de óxidos metálicos insolubles en agua.

Otra realización a modo de ejemplo de partículas cargadas eléctricamente útiles en la presente invención son las partículas compuestas de polimerosomas.

5 Otra realización a modo de ejemplo de partículas cargadas eléctricamente útiles en la presente invención son las partículas compuestas de vesículas de fosfolípidos tales como los liposomas. Los liposomas se pueden preparar de acuerdo con alguno de los métodos bien conocidos tales como los descritos por Epstein *et al.* (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82: 3688-3692 (1985)), Hwang *et al.* (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4030-4034 (1980)), documentos EP 52,322, EP 36,676; EP 88,046; EP 143,949; EP 142,641; Solicitud de patente japonesa 83-118008, y EP 102,324, así como las patentes de Estados Unidos 4,485,045 y 4,544,545, cuyos contenidos se incorporan aquí como referencia en su totalidad. Los liposomas preferidos son de tipo unilamelar pequeños (aproximadamente 200-800
10 Angstroms) en los cuales el contenido de lípidos es mayor que aproximadamente 10 por ciento en moles de colesterol, preferiblemente en un intervalo de 10 a 40 por ciento en moles de colesterol, siendo ajustada la proporción seleccionada para la terapia vacunal óptima. Sin embargo, como podrán entender los expertos en la técnica al leer esta descripción, se pueden utilizar también otras vesículas fosfolipídicas distintas de los liposomas.

15 Otra realización a modo de ejemplo de partículas cargadas eléctricamente útiles en la presente invención son partículas que comprenden gotitas de aceite farmacéuticamente aceptable, preferiblemente con un tamaño medio por encima de 400 nm. Ejemplos de aceites farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a aceite mineral, aceites de origen vegetal (maíz, oliva, cacahuete, soja etc.) y fluidos de silicona tal como Dow Corning DC200.

20 Todavía otra realización a modo de ejemplo de partículas cargadas eléctricamente útiles en la presente invención son partículas que comprenden micelas de tensioactivos o de copolímero de bloque.

En una realización preferida, las partículas usadas en las dispersiones acuosas de la presente invención se preparan con un componente adicional para decorar la partícula de la superficie y/o para hacer que se cargue la superficie. Ejemplos de tales componentes incluyen, pero no se limitan a chitosán, emulsionantes cargados tales como dodecilsulfato de sodio y ácidos grasos o sales de los mismos. Los ejemplos de ácidos grasos incluyen, pero
25 no se limitan a ácido mirístico y ácido behénico.

En una realización, las dispersiones de las partículas cargadas eléctricamente se estabilizan por medio de un emulsionante. La adición del emulsionante hace posible la formación de partículas en la etapa de dispersión y si está cargado hace que se cargue la superficie.

30 Para partículas cargadas positivamente o catiónicas (véase la Figura 1A) se puede usar un emulsionante catiónico. Los ejemplos de componentes útiles en la preparación de partículas catiónicas incluyen, pero no se limitan a emulsionantes como bromuro de cetiltrimetilamonio y haluro de cetilpiridinio y el polímero catiónico es chitosán. En una realización a modo de ejemplo, se añade chitosán junto con el emulsionante no iónico Brij700 para convertir las partículas, de otra manera partículas neutras, en partículas catiónicas. Como podrán entender los expertos en la técnica después de la lectura de esta descripción, se pueden usar también emulsionantes catiónicos alternativos.

35 Para partículas cargadas negativamente o aniónicas (véase la Figura 1B) se puede usar un emulsionante aniónico. Los emulsionantes aniónicos preferidos para uso en la presente invención incluyen, pero no se limitan a dodecilsulfato de sodio y miristato de sodio. Como podrán entender los expertos en la técnica después de la lectura de esta descripción, se pueden usar también emulsionantes aniónicos alternativos.

40 Alternativamente, se pueden añadir a las partículas un emulsionante no iónico tal como Brij700 y un polímero catiónico tal como acetato de chitosán para hacerlas estables y cargadas positivamente. De nuevo, como podrán entender los expertos en la técnica después de la lectura de esta descripción, se pueden usar emulsionantes alternativos no iónicos y polímeros catiónicos o aniónicos.

Las partículas de las dispersiones de la presente invención tienen un diámetro medio inferior a 100 μm , más preferiblemente inferior a 10 μm , más preferiblemente inferior a 1 μm .

45 En una realización de la presente invención, las partículas se usan en formulaciones de vacunas. En esta realización, la formulación de vacuna comprende una mezcla del antígeno de una vacuna de subunidades, preferiblemente en solución, y partículas cargadas eléctricamente, preferiblemente en una dispersión coloidal preformada. En esta realización, para las formulaciones de vacuna, es preferible que las partículas tengan un diámetro medio de partícula inferior a 20 micras, más preferiblemente inferior a 10 micras, y lo más preferiblemente
50 inferior a 1 micra.

En algunas realizaciones, las partículas pueden comprender además un microbicida de molécula pequeña tal como TMC120 para proporcionar una combinación de vacuna-microbicida.

55 Alternativamente, o en adición, en algunas realizaciones las partículas comprenden además restos que son ligandos para los receptores de superficie de las células donde las partículas se tienen que liberar, y dirigen las partículas a estas células. Por ejemplo, se puede poner en la superficie de la partícula un polisacárido reconocido por los

receptores de la superficie de la célula tal como el receptor de manosa, con lo que se mejora la internalización de las partículas por las células que llevan estos receptores.

En una realización preferida, se preparan partículas para uso en la dispersión acuosa de la presente invención mediante un procedimiento esencialmente exento de disolventes orgánicos.

- 5 En una realización, el procedimiento comprende calentar el lípido o la cera sólidos por encima de su temperatura de fusión para formar un lípido o cera fundido. Las partículas se forman mediante la dispersión del material fundido en una solución emulsionante acuosa utilizando alto cizallamiento tal como el proporcionado por un horno de ultrasonidos, o un homogeneizador de alta presión, hasta que el tamaño de partícula de la fase dispersada sea submicrométrico. La nanoemulsión aceite en agua, caliente, así formada se enfría después a temperatura ambiente para endurecer las nanogotitas del lípido o cera, formando una dispersión acuosa de nanopartículas de lípido o cera, estabilizadas por el emulsionante.

10 Las dispersiones acuosas son útiles en la formulación de composiciones que comprenden la dispersión acuosa y un ingrediente farmacéutico activo soluble en agua o dispersable en agua. Como se muestra en la Figura 2, tanto las partículas catiónicas como las partículas aniónicas de la presente invención son eficientes en la interacción con un ingrediente farmacéutico activo.

15 Los ingredientes farmacéuticos activos que pueden interactuar con las partículas en la dispersión acuosa para formular estas composiciones incluyen, pero no se limitan de ningún modo a fármacos, incluyendo vacunas, agentes nutricionales, agentes cosmeceúticos y agentes de diagnóstico. Los ejemplos de ingredientes farmacéuticos activos para uso en la presente invención incluyen, pero no se limitan a analgésicos, agentes antianginosos, antiasmáticos, 20 agentes antiarrítmicos, agentes anti-angiogénicos, agentes antibacterianos, agentes anti-hipertrofia benigna de la próstata, agentes anti-fibrosis cística, anti-coagulantes, antidepresivos, agentes anti-diabéticos, agentes anti-epilépticos, agentes anti-fúngicos, agentes antigotosos, agentes anti-hipertensivos, agentes anti-inflamatorios, agentes anti-malaria, agentes anti-migraña, agentes anti-muscarínicos, agentes antineoplásicos, agentes anti-obesidad, agentes anti-osteoporosis, agentes anti-parkinsonianos, agentes anti-protozoarios, agentes anti-tiroideos, 25 agentes anti-incontinencia urinaria, agentes antivíricos, ansiolíticos, beta-bloqueantes, agentes inotrópicos cardíacos, potenciadores de la cognición, corticosteroides, inhibidores de la COX2, diuréticos, agentes para mejorar la disfunción eréctil, ácidos grasos esenciales, agentes gastrointestinales, antagonistas de los receptores de histamina, hormonas, inmunodepresores, queratolíticos, antagonistas del leucotrieno, agentes reguladores de lípidos, macrólidos, relajantes musculares, ácidos grasos no esenciales, agentes nutricionales, aceites nutricionales, 30 inhibidores de la proteasa y estimulantes.

La dispersión acuosa de las partículas de la presente invención es particularmente útil en formulaciones de vacunas en las que el ingrediente farmacéutico activo es una proteína, preferiblemente el antígeno de una vacuna de subunidades tal como, pero no limitado a, toxoide tetánico o gp140, o un ácido nucleico tal como, pero no limitado a 35 DNA, RNA, SiRNA, ShRNA, o un oligonucleótido antisentido.

- Las formulaciones de vacunas de la presente invención pueden comprender además un adyuvante aniónico tal como, pero no limitado a poly(IC) o CpGB. En algunas realizaciones, el adyuvante es adsorbido en la superficie de la partícula.

40 Dichas composiciones se pueden formular por diversos procedimientos. En una realización, una composición se prepara mezclando una solución o dispersión de ingrediente farmacéutico activo soluble en agua o dispersable en agua con una dispersión acuosa de la presente invención. Las partículas química y físicamente estables de la dispersión acuosa que comprenden un material orgánico hidrófobo estable a la hidrólisis acuosa interactúan con el ingrediente farmacéutico activo co-disuelto o co-dispersado para formar las composiciones.

45 Las composiciones producidas de acuerdo con la presente invención que comprenden un ingrediente farmacéutico activo que interactúa con las partículas química y físicamente estables de la dispersión acuosa presentan un aumento de la respuesta biológica al ingrediente farmacéutico activo en comparación con el ingrediente farmacéutico activo administrado solo. Como se muestra en la Figura 3, los ratones inmunizados con una composición que comprende una dispersión acuosa de partículas aniónicas y el ingrediente farmacéutico activo gp140 (partículas YC-NaMA con gp140 (10 µg)) y los ratones inmunizados con una composición que comprende una dispersión acuosa de partículas catiónicas y el ingrediente farmacéutico activo gp140 (YCBrij700-chitosán con gp140 (10 µg)) presentaron una respuesta de anticuerpos mayor que la de los ratones a los que se administró gp140 solo y similar a la de los ratones a los que se administró gp140 con el conocido adyuvante alum. Por consiguiente, las composiciones de la presente invención se pueden administrar para aumentar la respuesta biológica a un 50 ingrediente farmacéutico activo.

55 Las composiciones de la presente invención son útiles por lo tanto profiláctica y terapéuticamente en el tratamiento de un sujeto que sufre un trastorno o enfermedad tratable con el ingrediente farmacéutico activo de la composición.

En una realización, en donde el ingrediente farmacéutico activo es el antígeno de una vacuna de subunidades y la composición es una formulación de vacuna, se puede administrar la composición a un sujeto para inmunizar al sujeto frente a un antígeno.

Por "sujeto" como se usa en esta memoria se indica un animal, preferiblemente un mamífero, más preferiblemente un ser humano.

Los siguientes ejemplos no limitantes se proporcionan para ilustrar adicionalmente la presente invención.

Ejemplos

5 Ejemplo 1: Preparación y caracterización de partículas a modo de ejemplos

Las siguientes partículas a modo de ejemplo para uso en las dispersiones acuosas de la presente invención se prepararon mediante un procedimiento esencialmente exento de disolventes orgánicos. Se determinó la composición química de la superficie y las propiedades de la superficie de las partículas con esta composición química.

Formulaciones en forma de micropartículas			
Material de la matriz	Naturaleza de la superficie	Composición química de la superficie	Propiedades
cera camauba	sulfato	SDS	aniónica, hidrófoba, dura
	carboxilato	ácido mirístico	aniónica, hidrófoba, dura
	PEG	steareth-100	no iónica, hidrófoba, dura
cera de abejas	N-acetilglucosamina	chitosán	catiónica, hidrófoba, dura
	amina cuaternaria	bromuro de cetil-trimetilamonio	catiónica, hidrófoba, dura
	sulfato	SDS	aniónica, hidrófoba, blanda
alcohol cetílico	carboxilato	ácido mirístico	aniónica, hidrófoba, blanda
	PEG	steareth-100	no iónica, hidrófoba, blanda
	N-acetilglucosamina	chitosán	catiónica, hidrófoba, blanda
alcohol cetílico	amina cuaternaria	bromuro de cetil-trimetilamonio	catiónica, hidrófoba, blanda
	carboxilato	ácido behénico	aniónica, más hidrófila, blanda
	PEG	steareth-100	no iónica, hidrófoba, blanda

Ejemplo 2: Preparación de una formulación de vacuna a modo de ejemplo

10 Se prepararon dispersiones acuosas de cera fundiendo una cera natural y emulsionando esta cera líquida en una solución de tensioactivo acuosa caliente con alto cizallamiento para formar una emulsión con gotitas submicrométricas de la cera fundida. El enfriamiento de la emulsión lleva a la solidificación de las nanogotitas dispersadas y estabilizadas para dar una dispersión estable de nanopartículas de cera.

15 En un esfuerzo para desarrollar una vacuna HIV-1 aplicada mucosalmente, se utilizó toxoide tetánico como un modelo de antígeno de una vacuna de subunidades. Se encontró que después de mezclar el antígeno toxoide tetánico con una dispersión acuosa de partículas de cera de carnauba amarilla de tamaño submicrométrico, la proteína del antígeno toxoide tetánico era adsorbida sobre la superficie de la partícula. Cuando esta formulación (nanopartículas de cera + antígeno) se incubó *in vitro* con células sanguíneas derivadas de donantes vacunados contra el tétanos, se observó una proliferación de células T significativamente más alta estadísticamente en comparación con las células incubadas con toxoide tetánico libre a la misma concentración total, y similar al toxoide tetánico libre mezclado con el adyuvante de vacuna poly(I:C). Por lo tanto, cuando se mezclan los antígenos con las partículas de cera, aumenta la respuesta inmunitaria al antígeno mezclado con las partículas. No se observa tampoco ninguna activación del sistema inmunitario para las partículas solas, haciéndolas no inmunógenas.

25 Se observó proliferación de las células T cuando se preparó la dispersión de cera de carnauba amarilla con los siguientes emulsionantes:

1. SDS (dodecilsulfato de sodio, que forma partículas aniónicas)
2. NaMA (miristato de sodio, que forma partículas aniónicas), o
3. Brij700+chitosán (Brij700 es un steareth-polietilenglicol(100) no iónico, chitosán es un polisacárido cationico, que forma partículas cationicas)

30

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición que comprende una dispersión acuosa de partículas química y físicamente estables que tienen un diámetro medio inferior a 100 µm y de un ingrediente farmacéutico activo soluble en agua o dispersable en agua, comprendiendo dichas partículas un material orgánico hidrófobo estable a la hidrólisis acuosa que interactúa con el ingrediente farmacéutico activo soluble en agua o dispersable en agua de tal modo que el ingrediente farmacéutico activo soluble en agua o dispersable en agua se une, se adhiere o se liga a dichas partículas, en donde las partículas se preparan utilizando cizallamiento mediante un procedimiento esencialmente exento de disolventes orgánicos.
- 10 2. La composición de la reivindicación 1, donde dichas partículas tienen un diámetro medio inferior a 10 µm; donde dichas partículas tienen, opcionalmente, un diámetro medio inferior a 1 µm.
3. La composición de la reivindicación 1, en donde las partículas comprenden de 1 % a 100 % de una cera orgánica con un punto de fusión por encima de 25 °C y 0-99 % de un aceite farmacéuticamente aceptable.
4. La composición de la reivindicación 1, en donde las partículas comprenden cera de carnauba o cera de abejas.
- 15 5. La composición de la reivindicación 1, en donde las partículas son partículas catiónicas preparadas con un emulsionante catiónico y/o que tienen una superficie decorada con un polímero catiónico; en donde el emulsionante catiónico es, opcionalmente, bromuro de cetiltrimetilamonio o haluro de cetilpiridinio o en donde el polímero catiónico es, opcionalmente, chitosán.
- 20 6. La composición de la reivindicación 1, en donde las partículas son partículas aniónicas preparadas con un emulsionante aniónico y/o que tienen una superficie decorada con un polímero aniónico.
7. La composición de la reivindicación 6, en donde el emulsionante aniónico es dodecilsulfato de sodio o miristato de sodio.
8. La composición de la reivindicación 1, en donde el ingrediente farmacéutico activo comprende una proteína.
9. La composición de la reivindicación 1, en donde el ingrediente farmacéutico activo comprende el antígeno de una vacuna de subunidades.
- 25 10. Un procedimiento para formular la composición de la reivindicación 1, que comprende mezclar una solución o dispersión de un ingrediente farmacéutico activo soluble en agua o dispersable en agua con una dispersión acuosa de partículas química y físicamente estables que tienen un diámetro medio inferior a 100 µm, comprendiendo dichas partículas un material orgánico hidrófobo estable a la hidrólisis acuosa, que interactúa con un ingrediente farmacéutico activo co-disuelto o co-dispersado.
- 30 11. Un ingrediente farmacéutico activo para uso en el aumento de una respuesta biológica al ingrediente farmacéutico activo, comprendiendo este uso la administración del ingrediente farmacéutico activo en la composición de la reivindicación 1.



FIG. 1A

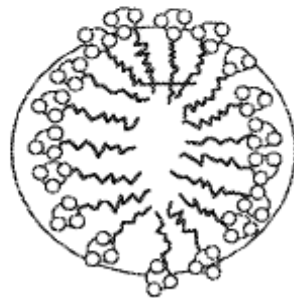


FIG. 1B

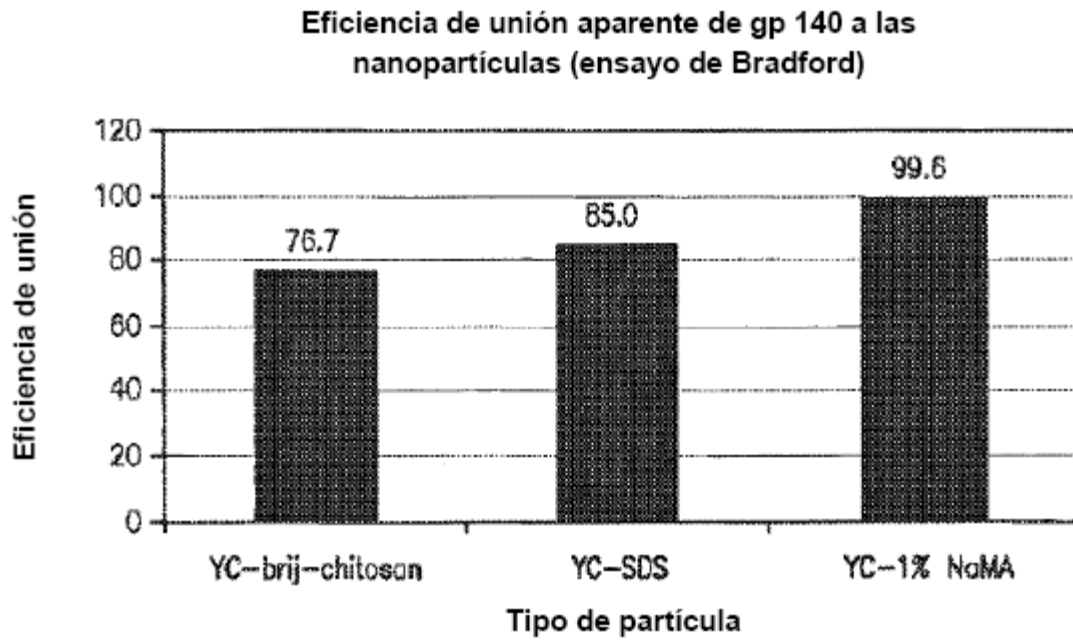


FIG. 2

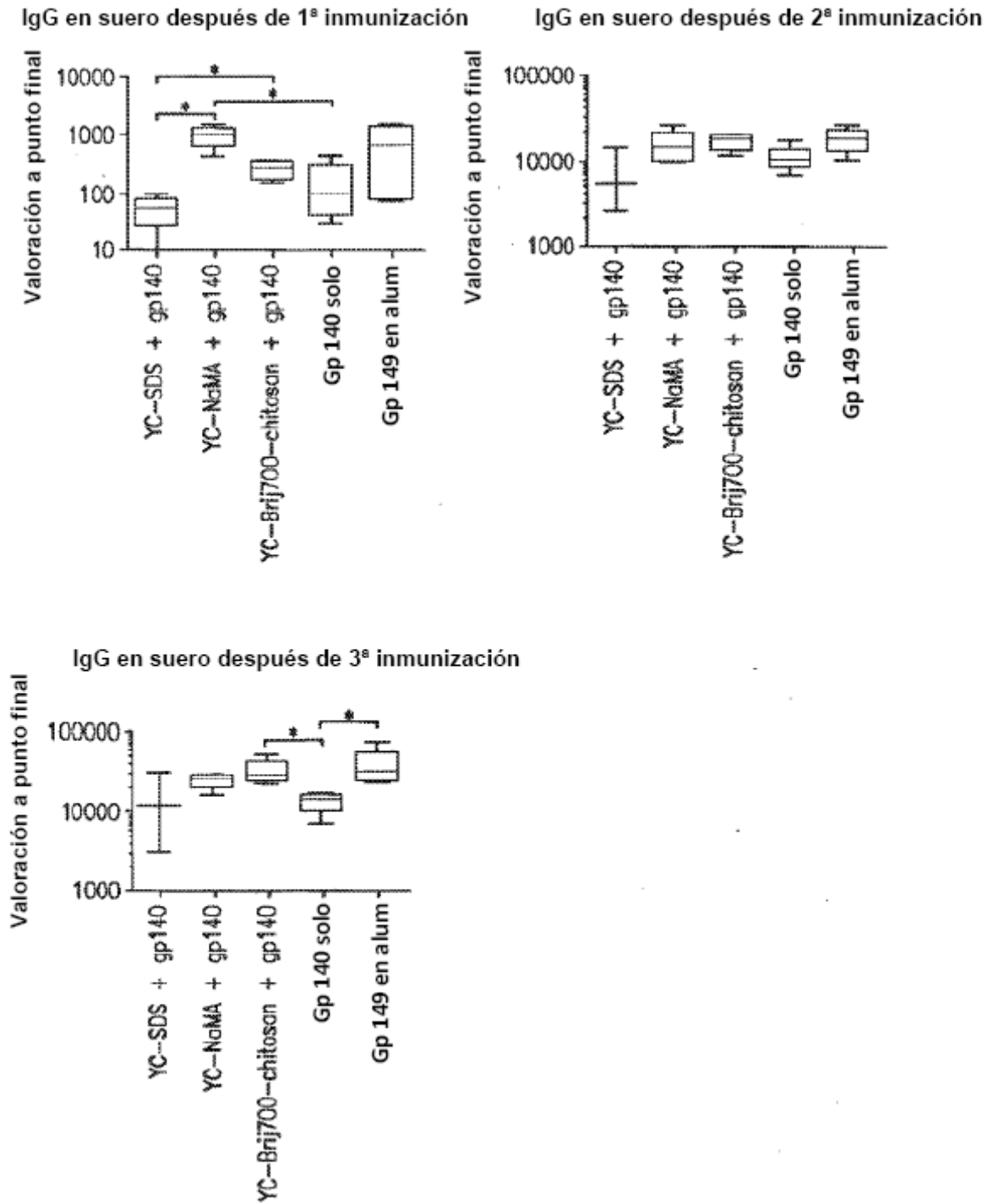


FIG. 3