

OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11) Número de publicación: 2 671 184

21) Número de solicitud: 201631463

(51) Int. Cl.:

C08L 5/08 (2006.01)
A61K 47/36 (2006.01)
C08B 37/08 (2006.01)
C08K 3/32 (2006.01)

(12)

SOLICITUD DE PATENTE

Α1

22) Fecha de presentación:

16.11.2016

(43) Fecha de publicación de la solicitud:

05.06.2018

(71) Solicitantes:

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE (57.2%)

Avda. de la Universidad s/n, Edif. Rectorado y Consejo Social

03202 ELCHE (Alicante) ES;

CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (14.3%);

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA (14.3%) y

UNIVERSITAT DE VALÈNCIA (14.3%)

(72) Inventor/es:

MARTÍNEZ MARTÍNEZ, María Teresa; GONZÁLEZ ALVAREZ, María Isabel; GONZÁLEZ ÁLVAREZ, Marta; DEL VAL BERMEJO SANZ, María; RODRÍQUEZ BERNA, Guillermo; CORMA CANÓS, Avelino y MERINO SANJUÁN, Virginia

(74) Agente/Representante:

ABELLÁN PÉREZ, Almudena

54 Título: FORMULACIÓN PARA LIBERACIÓN MODIFICADA DE SUSTANCIAS ACTIVAS O FÁRMACOS, USO Y PROCEDIMIENTO DE OBTENCIÓN

(57) Resumen:

La presente invención se refiere al desarrollo y procedimiento de obtención de una formulación tipo hidrogel, compuesta por polímeros catiónicos, preferentemente quitosán, entrecruzados con la sal trisódica del ácido 6-fosfoglucónico como sistema de liberación modificada de sustancias activas o fármacos para su administración por vía tópica, transdérmica u otras vías, destinada a tratamientos locales o sistémicos. Este sistema puede aplicarse liofilizado sobre heridas o rehidratado sobre la piel sana a la que se adhiere formando una película transparente que la protege.

FORMULACIÓN PARA LIBERACIÓN MODIFICADA DE SUSTANCIAS ACTIVAS O FÁRMACOS, USO Y PROCEDIMIENTO DE OBTENCIÓN

<u>DESCRIPCIÓN</u>

OBJETO DE LA INVENCIÓN

5

10

15

20

25

30

35

La presente invención se refiere a una formulación farmacéutica para la liberación modificada de sustancias activas y/o fármacos, para el recubrimiento de la piel y para la cicatrización de heridas.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

En el campo de la biomedicina, los sistemas poliméricos tipo hidrogel tienen un gran potencial, habiéndose desarrollado sistemas aplicables en liberación de fármacos, cosmética, tratamiento de heridas, ingeniería de tejidos, etc.

En el estado de la técnica se encuentran numerosos ejemplos de hidrogeles con potenciales aplicaciones por distintas vías. Por ejemplo, la patente WO 2011138484 A1 describe una preparación tópica para el tratamiento de afecciones unqueales basada en un hidrogel termosensible que se aplica como un líquido sobre las uñas y a temperatura corporal gelifica formando una película polimérica hidratada que libera principios activos. La patente WO 2011135150 A1 describe la composición de hidrogeles iónicos basados en polímeros naturales aniónicos y moléculas reticulantes catiónicas para su aplicación como medicamentos, productos sanitarios, ingeniería de tejidos, cosmética, medicina regenerativa. La patente WO 2010018293 A1 describe el procedimiento de obtención de hidrogeles acrílicos con ciclodextrinas para su aplicación en lentes de contacto, como sistemas de liberación tópica, trandérmica o transmucosal o en la preparación de cosméticos. La patente WO 2014041231 A1 describe hidrogeles inyectables generados in situ por entrecruzamiento tipo "click chemistry" útiles como implantes en regeneración tisular y para la liberación controlada de fármacos. La patente WO 2011157880 A1 se refiere a una composición antioxidante tipo hidrogel para el tratamiento de afecciones de la piel que cursan con la producción de especies reactivas de oxígeno o como apósitos para heridas y administración de fármacos a heridas.

También se ha publicado un estudio sobre una red polimérica tridimensional de polisiloxano entrecruzada químicamente *in situ* mediante un catalizador de platino que se aplica sobre la piel formando una película elástica y transparente con propiedades mecánicas similares a la piel joven sana y que es capaz de reducir visiblemente las arrugas y el hinchazón de las bolsas bajo los ojos. (Yu B., Kang S.Y., et al. An elastic second skin. Nat Mater 2016; 15 (8): 911-918.)

10

5

En cuanto a los apósitos para la cicatrización de heridas, los hidrogeles poseen ciertas propiedades que los hacen idóneos para dicha aplicación. Los hidrogeles pueden absorber y retener el exudado contaminado dentro de la masa de gel a través de la expansión de cadenas de polímero reticulado favoreciendo el aislamiento de bacterias, detritos y moléculas de olor en el líquido. Su alto contenido de agua permite mantener la humedad en la herida, favoreciendo la transmisión de vapor y oxígeno a las heridas y el desbridamiento autolítico (que facilita la eliminación del tejido muerto).

15

En este sentido, varias empresas farmacéuticas han desarrollado diferentes formulaciones basadas en hidrogeles para el tratamiento de heridas, entre los que podemos citar: Granugel® (ConvaTec) formado por pectina, carboximetilcelulosa y propilenglicol, Intrasite Gel® (Smith & Nephew) compuesto por carboximetilcelulosa modificada y propilenglicol, Purilon Gel® (Coloplast) elaborado con carboximetilcelulosa sódica, etc. (Blanco M.D., Olmo R.M., Teijón J.M. Hydrogels. In: Swarbrick J., editor. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology Third Edition: Informa Healthcare, 2006:2021-2039.)

25

20

Dada la importancia de estos sistemas poliméricos, la búsqueda de nuevas moléculas con capacidad entrecruzante permite desarrollar nuevas formulaciones con distintas características fisicoquímicas, que pueden suponer un avance en distintas aplicaciones farmacéuticas.

30

El ácido 6-fosfoglucónico (6-PG) es un metabolito de la ruta de las pentosas fosfato en la que se degrada la glucosa hasta la obtención de pentosas-fosfato para la biosíntesis de ácidos nucleicos. En la patente US3639594A se describe el 6-PG y sus sales como agentes regeneradores del tejido hepático. Sin embargo, no hay constancia de que se haya usado el 6-PG como agente entrecruzante.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

5

10

15

20

25

30

El problema técnico que se plantea es la aplicación de determinadas sustancias, ya sean fármacos o sustancias cosméticas, de forma indirecta mediante una liberación prolongada de la sustancia principal preferentemente por vía tópica o transdérmica. Para ello, se desarrolla la formulación que es objeto de la presente invención que permite la retención del fármaco o de la sustancia por atrapamiento y su liberación una vez que es aplicado sobre la piel, mucosas o cavidades, pudiendo ser otro de sus usos la protección de la piel frente a agresiones externas o el tratamiento de heridas.

En la presente invención, se entiende por "hidrogel" la red polimérica tridimensional obtenida por entrecruzamiento a partir de polímeros hidrófilos, naturales o sintéticos, que pueden absorber y retener una cantidad significativa de agua.

Se entiende por "entrecruzamiento" o "reticulación" la unión física o química entre distintos puntos de las cadenas poliméricas que resultan en la formación de un hidrogel. Se denomina "agente reticulante" o "agente entrecruzante" a aquella molécula capaz de producir entrecruzamiento entre las cadenas de polímero.

El término "fármaco", "sustancia activa" o "agente terapéutico" se refiere a cualquier sustancia que se utiliza en el tratamiento, cura, prevención o diagnóstico de una enfermedad o que se utiliza para mejorar el bienestar físico y mental de seres humanos y animales. La proporción del éste dependerá en cada caso del fármaco que va a incorporarse, la indicación para la que se utiliza y la eficiencia de administración. Cuando uno o varios fármacos se incorporan al sistema de la invención pueden encontrarse dispersos a nivel molecular, de partículas o incluidos en sistemas que permitan mejorar su solubilidad o controlar su liberación. Fármacos de interés para la invención, pero sin limitarse exclusivamente a ellos, son corticoides, antifúngicos, antibacterianos, anestésicos locales, analgésicos, antiinflamatorios, relajantes musculares, etc.

Un aspecto de la invención se refiere a la preparación de hidrogeles a partir de polímeros catiónicos entrecruzados mediante un agente entrecruzante denominado sal trisódica del ácido 6-fosfoglucónico (6-PG-Na+). En concreto, se muestra el ejemplo de hidrogeles formados por quitosán, como polímero catiónico, reticulado con 6-PG-Na+. Otro aspecto de esta invención se refiere a la obtención de redes o matrices poliméricas

tipo hidrogel, eficaces para la encapsulación y posterior administración controlada de agentes terapéuticos o ingredientes activos por distintas vías de administración con efecto local o sistémico. En concreto, la invención se refiere a la obtención de hidrogeles no tóxicos y no irritantes que pueden ser fácilmente aplicables y extensibles sobre la piel formando una película transparente con una adhesividad adecuada y capaz de liberar sustancias activas. En concreto, la invención se refiere a una formulación tipo hidrogel que aplicada en forma de apósito facilita la cicatrización de las heridas.

Esta composición de aplicación preferentemente tópica o transdérmica con posible aplicación por otras vías (oral, vaginal, rectal...) permite la liberación de sustancias activas de forma controlada.

De acuerdo con la invención se detalla un procedimiento basado en la formación de un hidrogel, donde el entrecruzamiento polimérico de la matriz se produce in situ mediante el uso de 6-PG-Na⁺ como agente reticulante en ausencia de disolventes orgánicos, codisolventes, reactivos químicos externos o reacciones químicas que los generen.

DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

20

5

10

15

Para completar la descripción que se está realizando y con objeto de ayudar a una mejor comprensión de las características del invento, se incluye un ejemplo preferente de la realización práctica del mismo. Se acompaña como parte integrante de dicha descripción una serie de figuras.

25

- Figura 1. Podemos observar el espectro ³¹P-RMN en disolución para 6-PG⁻Na⁺ puro.
- Figura 2. Podemos observar el espectro ³¹P-RMN en estado sólido para la muestra M60-275.

- Figura 3. En la gráfica podemos observar los resultados de TGA del quitosán y los hidrogeles sin fármaco con distintos porcentajes de entrecruzamiento con 6-PG⁻ Na⁺.
- Figura 4. En esta grafica podemos observar los resultados de DTG del quitosán y los hidrogeles sin fármaco con distintos porcentajes de entrecruzamiento con

a	D	G٦	N	_	+
ก-	Г	וכו	IN	а	

5

10

20

- Figura 5. En la gráfica se representan los resultados de TGA de los hidrogeles con Piroxicam con distintos porcentajes de entrecruzamiento con 6-PG⁻Na⁺.
- Figura 6. En la gráfica se representan los resultados de DTG de los hidrogeles con Piroxicam con distintos porcentajes de entrecruzamiento con 6-PG·Na⁺.
- Figura 7. Difractograma de rayos X del 6-PG⁻Na⁺, del quitosán y de los hidrogeles entrecruzados del 50 al 275% sin fármaco y de los hidrogeles entrecruzados al 50 y 275% con Piroxicam.
- Figura 8. Observamos los perfiles de hinchamiento de las muestras M60-100 y M60-275 en medio acuoso tamponado a pH 1.2.
 - Figura 9. Observamos los perfiles de hinchamiento de las muestras M60-100 y M60-275 en medio acuoso tamponado a pH 4.5.
 - Figura 10. Observamos los perfiles de hinchamiento de las muestras M60-100 y M60-275 en medio acuoso tamponado a pH 6.8.
- Figura 11. Observamos los perfiles de hinchamiento de las muestras M60-100 y M60-275 en medio acuoso tamponado a pH 7.5.
 - Figura 12. Perfiles de liberación de Piroxicam en función del pH del medio (1.2, 4.5, 6.8 y 7.5) para el hidrogel M6P-100.
 - Figura 13. Perfiles de liberación de Piroxicam en función del pH del medio (1.2, 4.5, 6.8 y 7.5) para el hidrogel M6P-275.
 - Figura 14. Observamos los porcentajes de supervivencia celular de los cultivos Caco-2 a las 24, 48 y 72 h en ausencia (control) y presencia de: 6-PG-Na⁺, quitosán, M60-100 y M60-275.
- Figura 15. Valores de extensibilidad del gel comercial Salvacam® y de los hidrogeles M60-100 y M60-275 en función del peso aplicado.
 - Figura 16. Porcentaje de fármaco permeado en piel y receptor para el M6P-275.
 - Figura 17. Fármaco permeado por cm² en función del tiempo para el M6P-275

30

REALIZACIÓN PREFERENTE DE LA INVENCIÓN

La presente invención consiste en un hidrogel compuesto por un polímero catiónico entrecruzado con 6-PG⁻Na⁺ y el procedimiento para su obtención.

En una realización particular, el polímero es quitosán; preferiblemente en concentraciones del 1 al 3% p/v. El quitosán puede emplearse en un amplio rango de pesos moleculares, preferiblemente de 50 a 375 kDa, y con distinto grado de deacetilación. La reacción entre el 6-PG-Na⁺ y el quitosán da lugar a una formulación tipo hidrogel que es capaz de albergar sustancias activas en su interior y liberarlas tras su aplicación. La estructura de dichos compuestos es la siguiente:

Sal trisódica del ácido 6-fosfoglucónico (6-PG-Na+)

Quitosán

La preparación del hidrogel se lleva a cabo con una solución del polímero en medio ácido al que se le añade una solución de 6-PG-Na+ en agua. Esta mezcla se agita en el vórtex de 1 a 3 minutos formándose el hidrogel y se liofiliza. La relación molar de esta formulación es de 1:X moles de unidades repetitivas de quitosán en relación a los moles de 6-PG-Na+, siendo X = 0.5-5.

20

15

5

Tras la obtención del producto liofilizado se puede rehidratar con agua. El resultado es una formulación viscosa que se puede extender sobre la piel. Tras unos minutos la formulación se seca quedándose adherida a la piel, mucosas o cavidades y comienza a liberar el compuesto atrapado en su interior.

25

A continuación, para una mejor comprensión de la invención se proporciona el siguiente ejemplo, sin que éste suponga una limitación a la invención.

En una realización particular, la sustancia activa es Piroxicam entre un 0.1% y 10% en peso de la formulación. Este fármaco es útil en el tratamiento antiinflamatorio. En una preparación estándar, se añadió a un vial de vidrio una cantidad determinada de una solución stock de Piroxicam disuelto en acetona que se dejó evaporar (0.5% en peso de la formulación). A continuación, se incorporó el quitosán (PM = 190-310 kDa) disuelto al 2% (15 mg en peso seco) sobre el Piroxicam, y se homogeneizó la muestra mediante agitación en el vórtex y sonicación en el ultrasonidos. Por último, se adicionaron distintos volúmenes de una solución stock de 6-PG-Na+ en agua (100 mg/ml), cuyas cantidades molares

fueron 0.02, 0.05, 0.10, 0.13 mmoles, para obtener un porcentaje de entrecruzamiento (moles de 6-PG⁻Na⁺/moles de unidades de repetición de quitosán) de 50%, 100%, 200%, 275%, respectivamente. Esta mezcla se agitó con el vórtex para que se favorecer la reacción y finalmente se liofilizó. La nomenclatura utilizada para dichas formulaciones se recoge en la siguiente tabla:

Porcentaje de entrecruzamiento (6-PG ⁻ Na ⁺ /quitosán)	Hidrogeles base	Hidrogeles con piroxicam
50%	M60-50	M6P-50
100%	M60-100	M6P-100
200%	M60-200	M6P-200
275%	M60-275	M6P-275

La muestra liofilizada se puede molturar y rehidratar para obtener una formulación extensible sobre la piel que forme una película polimérica o puede aplicarse sin rehidratar como apósito en el tratamiento de heridas.

Según el primer modo de uso extendemos la formulación sobre la piel de tal modo que se queda adherida a la piel (como un parche). Una de las ventajas es que se puede aplicar la cantidad deseada sobre la zona a tratar en mayor o menor medida. La adhesión de la formulación de hidrogel a la piel aumenta el tiempo de residencia del fármaco en contacto con ésta, permitiendo reducir el número de aplicaciones.

Como modos de realización preferente también se puede usar esta formulación como cosmético para la liberación de ingredientes activos, o sin contener fármacos, para la aplicación sobre heridas o superficies de la piel actuando como película de protección.

Las formulaciones se caracterizaron por análisis elemental, espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS), análisis termogravimétrico, difracción de rayos X, resonancia magnética nuclear (RMN); así mismo se determinaron sus propiedades de hinchamiento, liberación, extensibilidad, toxicidad en células Caco-2, fuerza de adhesión a la piel, irritación dérmica, permeabilidad en piel y cicatrización de heridas.

Análisis elemental. La determinación del contenido de carbono, hidrógeno y

5

10

15

20

25

nitrógeno de las muestras en estado sólido se llevó a cabo en un equipo LECO CHNS-932, utilizando sulfanamida como referencia. Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

~	

	N%	C%	Н%	P%
Quitosán	7.23	40.42	6.94	
M60-50	5.92	36.74	6.25	1.3
M60-100	6.23	38.65	6.79	2.4
M60-200	5.14	37.35	6.13	5.2
M60-275	4.97	36.47	6.83	5.7

10

ICP-MS. El contenido en fósforo se determinó disolviendo el compuesto en 3-10 ml de agua regia, diluyendo con agua bidestilada hasta 30-50 ml y midiendo la disolución en un espectrómetro de masas con plasma acoplado inductivamente Varian 715-ES. Los resultados se muestran en la tabla mencionada en el párrafo anterior.

15

RMN. El espectro de ³¹P-RMN en disolución para la molécula 6-PG⁻Na⁺ se registró a 25°C en un instrumento Bruker Avance 300 MHz usando MeOD como disolvente, figura 1. El espectro de ³¹P-RMN en sólido para la muestra M60-275 se obtuvo mediante un espectrómetro Bruker AV-400-WB a 79.5 MHz, figura 2.

20

Análisis termogravimétrico. Se realizó en una electrobalanza Perkin-Elmer Diamond, con platino como material de referencia, y que consta de un termopar de Pt / Pt-Rh (10%). Las muestras en polvo, con pesos entre 15 y 30 mg, introducidas en portamuestras de platino se calentaron en flujo de aire o argón (100 ml/min) desde temperatura ambiente hasta 900°C a una velocidad de calentamiento de 10°C/min, figuras 3, 4, 5 y 6.

25

Difracción de rayos X. Las muestras pulverizadas se colocaron y presionaron en un portamuestras para obtener una superficie plana. Se utilizó un difractómetro Philips X'Pert Plus con radiación CuK $_{\alpha}$ (λ =1.5406 Å, 40 kV), velocidad de barrido en el rango de 0.6° a 10.0° (20) con un paso de 0.02° (20) y un tiempo de análisis de 5 segundos, figura 7.

30

Hinchamiento. Se determinó en distintos medios a pH 1.2, 4.5, 6.8 y 7.5 durante 48 horas a 37°C. El valor de hinchamiento normalizado para cada tiempo se

calculó según la ecuación:

$$Q_{\rm t} = \frac{m_{\rm t} - \, \mathrm{m}_{\rm 0}}{m_{\rm 0}}$$

Donde m_0 es el peso inicial del hidrogel seco, es decir, el peso a tiempo t = 0 y m_t es el peso del hidrogel a tiempo t, figura 8, 9,10 y 11.

5

Liberación del fármaco. Se determinó en distintos medios a pH 1.2, 4.5, 6.8 y 7.5 en un agitador orbital termorregulado (Stuart orbital incubator SI50) a 37°C y 100 movimientos oscilantes por minuto durante 48 horas, figuras 12 y 13.

10

15

Toxicidad. Se realizó el ensayo de MTT en células Caco-2, se estudiaron los hidrogeles, el quitosán y el 6-PG⁻Na⁺ en PBS, 5 mg/ml, figura 14.

Extensibilidad. Se realizó de acuerdo al procedimiento normalizado de trabajo PN/L/CP/003/00 de determinación de extensibilidad recogido en la segunda edición del Formulario Nacional (Orden SSI/23/2015). Los hidrogeles se rehidrataron en agua (120 mg hidrogel seco/ml agua) y se usaron 0.5 g de muestra para el ensayo. Se incluyó en el estudio la formulación tópica comercial Salvacam® como referencia, figura 15.

20

Permeabilidad en piel. Se llevó a cabo en células de Franz empleando piel de oreja de cerdo como membrana y tampón fosfato a pH 7.4. Se ensayó la formulación M60-275 rehidratada en agua, figura 16 y en propilenglicol al 10%, figura 17.

25

Adhesión a la piel. Se midió en términos de fuerza requerida para despegar la película polimérica de la piel, empleando una modificación de la prueba Loop Tack, con una velocidad de separación de 500 mm/s. Los hidrogeles se rehidrataron en agua (120 mg hidrogel seco/ml), se extendieron 0.4 g sobre la piel con un grosor de 1 mm y un área de 1.9 x 4.5 cm, se dejaron secar durante 30 minutos y finalmente se realizaron las medidas. Se utilizó piel de oreja de cerdo.

30

Irritación dérmica. Se evaluó la irritación aguda dérmica en conejos según el protocolo descrito en la guía OCDE 404. El hidrogel M60-275 rehidratado (120 mg hidrogel/ml agua) se aplicó sobre en distintas zonas de la piel afeitada del lomo (área de 6 cm²) y se retiró a los 15 minutos, 1 hora y 4 horas. La piel se observó durante 14

días para evaluar la existencia de signos de irritación.

Cicatrización. Se realizaron heridas quirúrgicas de espesor total de 3 cm de diámetro en hembras de rata Wistar de 12 semanas de edad. Los animales se dividieron en dos grupos, el primero no recibió tratamiento y el segundo fue tratado con M60-275 sin rehidratar, que se reaplicó cada 7 días. Se midieron las áreas de las heridas a los 7 y 21 días de la escisión. A los 23 días de la escisión quirúrgica los animales fueron sacrificados y las muestras de piel de la herida se trataron y tiñeron con hematoxilina-eosina. Estas muestras histológicas se observaron mediante un microscopio óptico vertical (marca Leica modelo DMR) registrando las imágenes digitales con una cámara (Leica modelo DFC450C).

Resultados:

5

10

15

20

25

30

35

La formación del hidrogel se produce por interacción iónica ente las cargas positivas de los grupos amino del polímero y los aniones del fosfoácido.

Caracterizaciones: El ICP de los hidrogeles muestra que el porcentaje de fósforo incorporado a la red orgánica aumenta conforme incrementa la proporción de agente entrecruzante añadido. Los espectros ³¹P-RMN del reticulante y del hidrogel, figura 1 y 2, muestran un leve desplazamiento de 4.8 a 2.3 ppm, respectivamente. Este desplazamiento está asociado a la interacción no covalente de los hidroxilos del grupo fosfórico con las aminas del quitosán. Respecto al estudio termogravimétrico, en las gráficas de TGA, figura 3 y 5, se observa que la pérdida de masa en los hidrogeles es más paulatina e incompleta que en el polímero sin tratar y, cuanto mayor es el porcentaje de entrecruzamiento, mayor es el residuo final. En las gráficas de DTG, figura 4 y 6, se observa que la temperatura máxima de descomposición es mayor cuanto menor es el porcentaje de entrecruzamiento, tanto en presencia como ausencia de fármaco, concluyendo que cuanto mayor es el porcentaje de entrecruzamiento menor es la estabilidad térmica. En cuanto a los difractogramas de rayos X, figura 7, se demuestra que el 6-PG-Na+ es un compuesto orgánico con una estructura cristalina, en cambio, el quitosán tiene dos picos anchos característicos debido a la ausencia de orden del polímero. La adición de 6-PG-Na+ produce una pérdida de cristalinidad generalizada en la estructura, reflejada en el aplanamiento de ambos picos a 100 y 200; sin embargo, se observan picos claramente definidos que podrían ser interpretados como zonas específicas de la red con mayor ordenamiento frente al quitosán en su estado original.

Comparando los hidrogeles con distintos porcentajes de entrecruzamiento se observa que el aumento de la proporción de 6-PG-Na+ supone un leve aumento de la cristalinidad en estas zonas específicas del sistema, aunque en general se produce una amorfización de la estructura. La encapsulación del fármaco en la red no influye en la cristalinidad de la estructura.

El estudio de hinchamiento pone en manifiesto el carácter iónico del entrecruzamiento de la red polimérica, ya que a pH ≤ 4.5 el hidrogel pierde su integridad en pocas horas (de 2 a 4 horas), figura 8 y 9. En cambio, a valores de pH cercanos a la neutralidad, esto es, pH 6.8 y 7.5, se observa un efecto de sobrehinchamiento, ya que inicialmente retiene mayor cantidad de agua y a partir de las 5 horas se alcanza el hinchamiento en equilibrio, figura 10 y 11. En cuanto al entrecruzamiento, se observa que cuanto mayor es éste porcentaje, menor es el hinchamiento, debido a que los enlaces entre cadenas limitan la relajación y expansión de la red polimérica.

15

10

5

En cuanto a los resultados de liberación, figura 12 y 13, se han comparado los perfiles obtenidos mediante el cálculo del factor de similitud, f2, concluyendo que existen diferencias estadísticamente significativas entre la liberación de los hidrogeles con distinto grado de reticulación a cualquier pH y, en general, entre los perfiles de liberación de un mismo hidrogel a distintos valores de pH. Cuanto mayor es el porcentaje de entrecruzamiento y mayor es el pH del medio más prolongada es la liberación. Para el M6P-275 el 90% de la dosis se libera a las 7 horas. Los perfiles de liberación, estudiados mediante la ecuación de Korsmeyer-Peppas, concuerdan con una liberación influida tanto por la difusión como por la relajación de las cadenas poliméricas, denominada "Transporte anómalo" y se ajustan a una cinética de orden uno.

25

20

Los resultados de toxicidad en Caco-2, figura 14, demuestran que tanto los componentes de partida (polímero y agente entrecruzante) como los hidrogeles obtenidos carecen de toxicidad, ya que el porcentaje de supervivencia celular en todos los casos es aproximadamente del 100%.

30

En cuanto a la extensibilidad, figura 15, los hidrogeles evaluados tienen una extensibilidad similar a la del gel comercial por lo que se consideran aptos para la aplicación tópica.

La fuerza de adhesión de la película polimérica a la piel fue de 3.17 ± 0.57 Newton, valor similar a los obtenidos en otro tipo de parches cutáneos. El hidrogel rehidratado aplicado sobre la piel forma una película fina consistente y transparente. En cuanto al estudio de irritación en conejos, se demostró que la formulación no provoca irritación en la piel.

5

10

15

20

25

En los estudios de permeabilidad en piel, figura 16 y 17, se concluye que la formulación es capaz de liberar el fármaco y quedar retenido principalmente en piel, por lo que es útil en como sistema de liberación tópica, reduciendo los efectos sistémicos derivados de la absorción transdérmica.

En cuanto a su aplicación como apósitos para heridas, a los 7 días el área de la herida es menor para el grupo tratado con el hidrogel que para el grupo sin tratamiento, con un porcentaje de cierre de la herida del 40% frente al 26% del grupo sin tratamiento. A los 21 días de la escisión quirúrgica de la piel ambas heridas presentan un porcentaje de cierre similar, aproximadamente del 95%. Sin embargo, las imágenes de microscopía revelan que la cicatrización es más eficaz en el grupo tratado con el hidrogel que en el no tratado. El hidrogel ejerce varias acciones que ayudan a la regeneración de la herida, ya que crea un medio permanente húmedo que estimula la actividad celular en todas las etapas del proceso de cicatrización, además absorbe el exudado y las secreciones. El medio húmedo que crea el hidrogel permite la deshibridación del tejido necrótico, ayuda a la regeneración tisular en el estadio de granulación y favorece la división y actividad celular. Asimismo, la red polimérica sirve de matriz extracelular que facilita la reepitelización. En conclusión, se puede emplear el hidrogel M60-275 liofilizado como apósito para la curación de heridas, sólo o como sistema de aplicación de sustancias terapéuticas que favorezcan la cicatrización.

REIVINDICACIONES

5

15

20

- 1ª.- Formulación para liberación modificada de sustancias activas o fármacos tipo hidrogel **caracterizado porque** comprende, al menos, un polímero catiónico entrecruzado con la sal trisódica del ácido 6-fosfoglucónico.
- 2ª.- Formulación según la reivindicación 1 **caracterizada porque** el polímero catiónico es quitosán.
- 3a.- Formulación según la reivindicación 2, **caracterizada porque** la relación molar es de 1:X moles de unidades repetitivas de quitosán en relación a los moles de sal trisódica del ácido 6-fosfoglucónico, donde X tiene un valor entre 0.5 y 5.
 - 4ª.- Procedimiento de obtención de la formulación descrita en las reivindicaciones 1 a 3 caracterizado porque comprende, al menos, las siguientes etapas:
 - Una primera etapa de preparación del compuesto con una solución de quitosán con un rango de pesos moleculares de 50 a 375 kDa disuelto en medio ácido del 1 al 3% al que se le añade una solución de sal trisódica del ácido 6-fosfoglucónico en agua, en una relación molar 1:X moles de unidades repetitivas de quitosán en relación a los moles de sal trisódica del ácido 6-fosfoglucónico, siendo x=0.5-5.
 - Una segunda etapa en la que la mezcla obtenida se agita durante de 1 a 3 minutos.
- 5ª.- Procedimiento de obtención de la formulación según la reivindicación 4 caracterizado porque comprende, además, una etapa de liofilización.
 - 6ª.- Uso de la formulación descrita en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y preparada según el procedimiento descrito en las reivindicaciones 4 y 5 como hidrogel de aplicación tópica o transdérmica.
 - 7ª.- Uso de la formulación según la reivindicación 6 como película para cubrir heridas, daños en la piel y combinaciones de las mismas.
- 35 8a.- Uso de la formulación según la reivindicación 6 como composición para la

liberación de fármacos o compuestos activos de forma controlada.

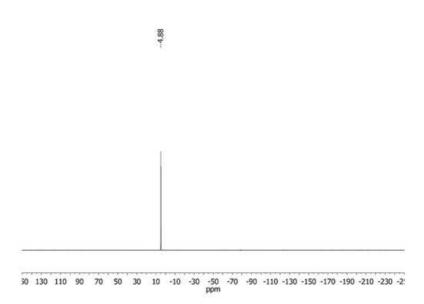


Figura 1

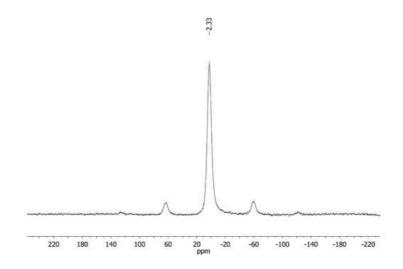


Figura 2

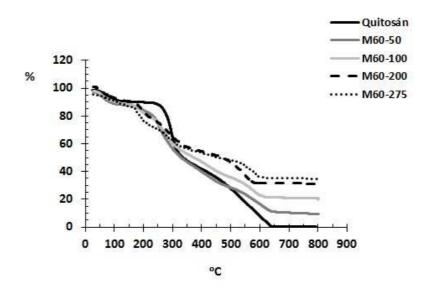


Figura 3

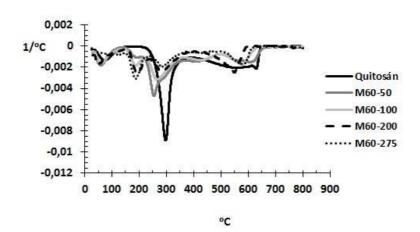


Figura 4

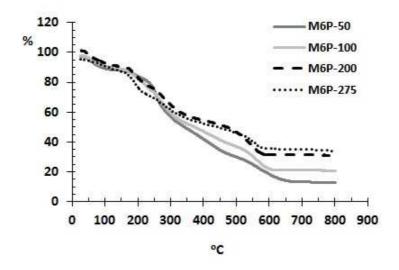


Figura 5

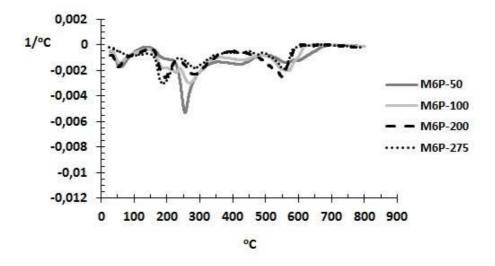


Figura 6

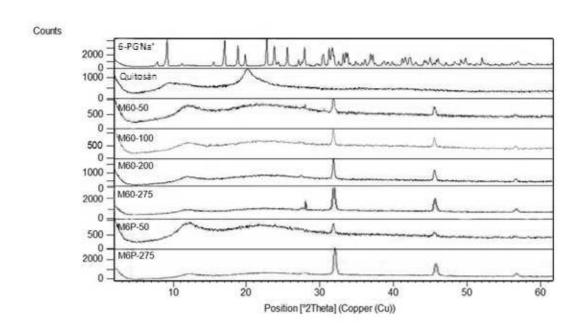


Figura 7

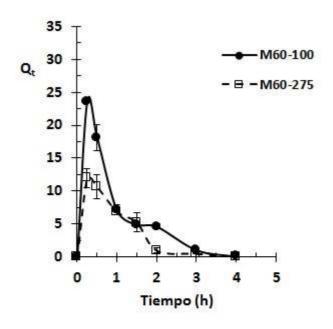


Figura 8

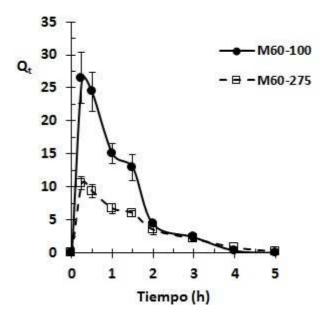


Figura 9

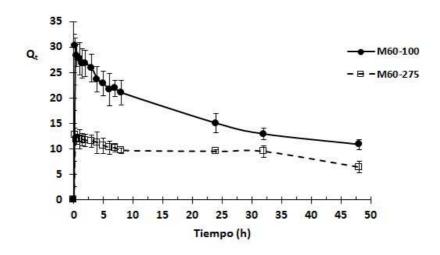


Figura 10

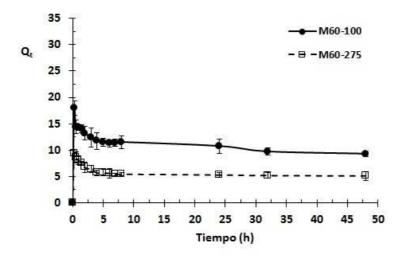


Figura 11

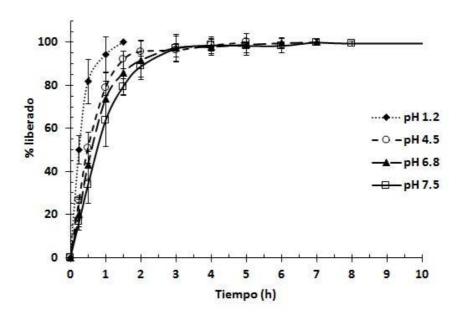


Figura 12

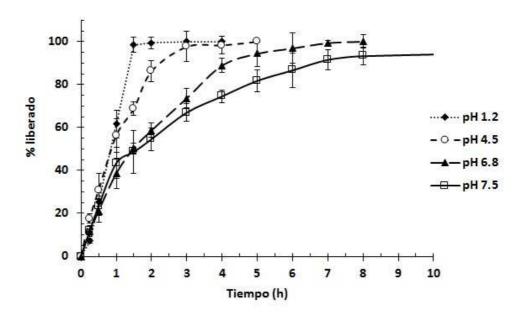


Figura 13

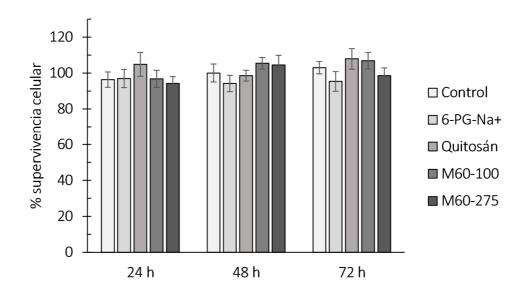


Figura 14

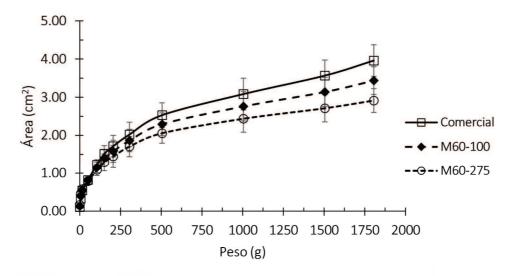


Figura 15

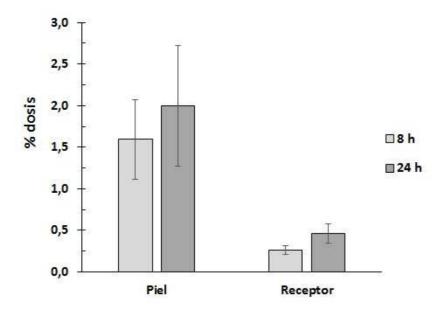


Figura 16

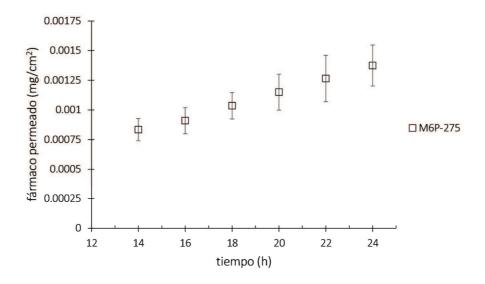


Figura 17



(21) N.º solicitud: 201631463

22 Fecha de presentación de la solicitud: 16.11.2016

32 Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤ Int. Cl.:	Ver Hoja Adicional		

DOCUMENTOS RELEVANTES

Fecha de realización del informe

17.11.2017

Categoría	66 Docum	mentos citados	Reivindicaciones afectadas
Α	MOURA M J <i>et al.</i> . Delivery of cisplatin from therr co-cross-linked chitosan hydrogels. European Po Journal Pergamon Press LTD. Oxford, GB. 00/09 Vol. 49, No 9, páginas 2504 - 2510, ISSN 0014-30 <doi: doi:10.1016="" j.eurpolymj.2013.02.032=""></doi:>	lymer //2013,	1-8
Α	WO 2016091778 A1 (KIOMED PHARMA) 16/06/2 ejemplos 1-3.	2016;	1-8
А	KIM GA ON <i>et al.</i> . An electrostatically crosslinked chitosan hydrogel as a drug carrier. Molecules (Basel, Switzerland) Switzerland 22 Nov 2012. 22 Vol. 17, N° 12, páginas 13704 - 13711, ISSN 142 (Electronic), <doi: doi:10.3390="" molecules171213="" pubmed:23174890=""></doi:>	2/11/2012, 0-3049	1-8
A	BERGER J <i>et al.</i> . Structure and interactions in co and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. European Journal of Pha and Biopharmaceutics, 20040101 Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, NL. Lendlein Andrea R�hl Eckart, 01/01/2004, Vol. 57, N° 1, página 19 - 34, ISSN 0939-6411, <doi: 3.<="" apartado="" doi:10.1016="" s09="" td=""><td>armaceutics ce as; as</td><td>1-8</td></doi:>	armaceutics ce as; as	1-8
X: d Y: d r	l egoría de los documentos citados e particular relevancia e particular relevancia combinado con otro/s de la nisma categoría efleja el estado de la técnica	O: referido a divulgación no escrita P: publicado entre la fecha de prioridad y de la solicitud E: documento anterior, pero publicado de de presentación de la solicitud	•
	presente informe ha sido realizado para todas las reivindicaciones	para las reivindicaciones nº:	

Examinador

N. Vera Gutierrez

Página

1/4

INFORME DEL ESTADO DE LA TÉCNICA

Nº de solicitud: 201631463

-
CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD
C08L5/08 (2006.01) A61K47/36 (2006.01) C08B37/08 (2006.01) C08K3/32 (2006.01)
Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)
C08L, A61K, C08B, C08K
Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)
INVENES, EPODOC, WPI, REGISTRY, CAS, EMBASE, MEDLINE, BIOSIS, NLP, XPESP, XPESP2

OPINIÓN ESCRITA

Nº de solicitud: 201631463

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 17.11.2017

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)

Reivindicaciones 1-8

Reivindicaciones NO

Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986) Reivindicaciones 1-8

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.

Nº de solicitud: 201631463

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	Moura M J et al. DELIVERY OF CISPLATIN FROM THERMOSENSITIVE CO-CROSS-LINKED CHITOSAN HYDROGELS. EUROPEAN POLYMER JOURNAL PERGAMON PRESS LTD. OXFORD, GB. Vol. 49, No 9, Páginas 2504 - 2510, ISSN 0014-3057, <doi: doi:10.1016="" j.eurpolymj.2013.02.032=""></doi:>	00/09/2013
D02	WO 2016091778 A1 (KIOMED PHARMA)	16.06.2016

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 formulación para liberación modificada de sustancias activas o fármacos tipo hidrogel caracterizado por que comprende, al menos, un polímero catiónico entrecruzado con la sal trisódica del ácido 6-fosfoglucónico. Se refiere también a su procedimiento de obtención y a su uso como hidrogel de aplicación tópica o transdérmica.

El documento D01 divulga un estudio sobre la liberación de cisplatino a partir de hidrogeles de quitosano entrecruzados con la sal disódica de glicerol fosfato. Los hidrogeles se preparan a partir de una solución de quitosano (peso molecular 200KDa, aproximadamente) en ácido acético, a la que se incorpora la sal disódica de glicerol fosfato. Tras adición de cisplatino y agitación magnética, los hidrogeles se someten a una etapa de liofilización.

El documento D02 divulga un hidrogel de quitosano en forma de microesferas. En los ejemplos 1-3 se recoge la preparación del hidrogel mediante la reticulación de una solución de quitosano en ácido acético, con el agente reticulante tripolifosfato, solo o en combinación con glicerol fosfato. Las microesferas pueden formar parte de una composición farmacéutica o un dispositivo médico.

Ninguno de los documentos citados divulgan hidrogeles de polímeros catiónicos entrecruzados con la sal trisódica del ácido 6-fosfoglucónico. Tampoco existen evidencias suficientes en el estado de la técnica que lleven al experto en la materia a concebir formulaciones tipo hidrogel de polímeros catiónicos en los que el agente de entrecruzamiento sea la sal trisódica del ácido 6-fosfoglucónico.

Por tanto, se considera que la invención tal como se define en las reivindicaciones 1-8 es nueva e implica actividad inventiva (Artículos 6.1 y 8.1 L.P.).