

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 574 615**

21 Número de solicitud: 201431894

51 Int. Cl.:

A61K 9/51 (2006.01)

A61K 31/7036 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

19.12.2014

43 Fecha de publicación de la solicitud:

21.06.2016

71 Solicitantes:

**BIOPRAXIS RESEARCH AIE (60.0%)
C/Hermanos Lumiere 5-PT Álava
01510 Miñano (Araba/Álava) ES;
UNIVERSIDAD DEL PAIS VASCO/EUSKAL
HERRIKO UNIBERTSITATEA (20.0%);
UNIVERSIDAD DE BARCELONA (10.0%);
FUNDACIÓ D'INVESTIGACIÓ SANITÀRIA DE LES
ILLES BALEARS (5.0%) y
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES
CIENTÍFICAS (5.0%)**

72 Inventor/es:

**GAINZA LAFUENTE, Eusebio Jesús;
VILLULLAS RINCÓN, Silvia;
IBARROLA MORENO, Oihane;
GAÍNZA LUZEA, Garazi;
HERRÁN MARTÍNEZ, Enara;
AGUIRRE ANDA, José Javier;
DEL POZO PÉREZ, Ángel;
PEDRAZ MUÑOZ, José Luis;
ESQUISABEL ALEGRÍA, Amaia;
MORENO SASTRE, María;
PASTOR NAVARRO, Marta;
VIÑAS CIORDIA, Miguel;
VINUESA AUMEDES, María Teresa y
BACHILLER PÉREZ, Daniel**

74 Agente/Representante:

IGARTUA IRIZAR, Ismael

54 Título: **Nanopartícula lipídica de tobramicina**

ES 2 574 615 A1

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 574 615**

21 Número de solicitud: 201431894

57 Resumen:

La presente invención se relaciona con una nanopartícula lipídica que comprende al menos un antibiótico tobramicina, una fracción lipídica y uno o más tensioactivos, y el uso de la nanopartícula en la prevención y/o tratamiento de infecciones del árbol respiratorio.

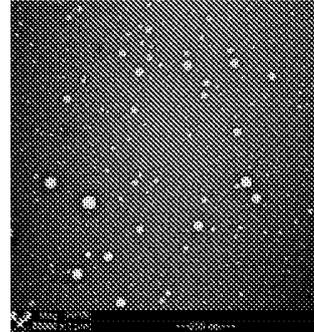


Figura 1

ES 2 574 615 A1

DESCRIPCIÓN

“Nanopartícula lipídica de tobramicina”

5

SECTOR DE LA TÉCNICA

La presente invención se relaciona con una nanopartícula lipídica que comprende al menos un antibiótico tobramicina, una composición farmacéutica que comprende
10 dicha nanopartícula y el uso de la nanopartícula en la prevención y/o tratamiento de infecciones por bacterias sensibles a la tobramicina, preferentemente en el árbol respiratorio.

15 ESTADO ANTERIOR DE LA TÉCNICA

La tobramicina es un antibiótico hidrosoluble de la familia de los aminoglicósidos que se utiliza en casos severos de infección debido a su actividad bactericida contra numerosas bacterias gram-negativas y gram-positivas. No obstante, la tobramicina
20 debe ser utilizada de manera estricta y en ocasiones limitada, debido a su estrecho margen terapéutico, ya que puede dar lugar a un efecto nefrotóxico, ototóxico y/o neurotóxico.

La tobramicina raramente se utiliza como monoterapia. Sin embargo, distintos
25 estudios han demostrado que su estabilidad se ve afectada por la presencia de otros componentes. *Temperature dependence of the stability of tobramycin mixed with penicillins in human serum. Am J Hosp Pharm. 1982 Jun;39(6):1005-8.*

También es conocido que la tobramicina es químicamente inestable. El documento
30 EP2388008A1 describe distintas fórmulas que favorecen la estabilidad de la tobramicina.

Una de las enfermedades en la que mayor repercusión tienen las infecciones crónicas y recurrentes por bacterias gram negativas multi-resistentes (BGN-MR), por
35 ejemplo, por la *Pseudomonas aeruginosa*, es la fibrosis quística. La persistencia de

esta bacteria se asocia, entre otras causas, con su crecimiento en una biopelícula, la cual consiste en una estructura colectiva de bacterias que se adhiere a superficies, revestida por una capa protectora que segregan las propias bacterias, y que aporta la capacidad de resistir de un modo más eficaz a biocidas y antibióticos, soportando dosis considerablemente mayores de productos antibacterianos, y provocando un deterioro de la función pulmonar.

Algunos antibióticos para el tratamiento de estas infecciones presentan efectos adversos por lo que la utilización de microsistemas o nanosistemas para administrar dichos antibióticos presentan un interés particular. En la literatura se describen diferentes usos de estos sistemas que comprenden alguno de estos antibióticos, como es el caso del documento US2009169635, en el que se describen unas nanopartículas de polímeros biodegradables de tipo poliéster para su administración vía sistémica.

La administración directa de antibióticos a las vías aéreas inferiores mediante la administración de aerosoles y polvo seco presenta ventajas potenciales como la mayor concentración local que puede lograrse mediante deposición en la localización alveolar donde está la infección, y, por tanto, los fármacos inhalados pueden reducir la aparición de efectos adversos sistémicos al reducir la dosis administrada. Estudios previos han demostrado que la concentración de tobramicina aerosolizada en el esputo para la supresión de *Pseudomonas aeruginosa*, en pacientes con fibrosis quística requiere niveles de 10 veces la CMI para suprimir crecimiento y de 25 veces la CMI para tener un efecto bactericida. No obstante, una pequeña proporción de la tobramicina puede ser absorbida generando los efectos tóxicos no deseados.

Otra de las casuísticas de los pacientes tratados con tobramicina en solución inhalada, es que en caso de que estén tomando otros medicamentos inhalados, deben tener especial precaución de no mezclar la tobramicina con el resto de medicamentos, debiendo ser la administración de la tobramicina en último lugar.

A la vista de estos datos, existe, por tanto, una necesidad de desarrollar medicamentos de tobramicina para el tratamiento de infecciones, preferentemente en el árbol respiratorio, que superen los inconvenientes del estado de la técnica.

EXPOSICIÓN DE LA INVENCIÓN

5 Los inventores han desarrollado nanopartículas lipídicas que comprenden al menos un antibiótico tobramicina que son capaces de adherirse en o interactuar con la capa mucosa del tracto respiratorio o la biopelícula generada por las propias bacterias, favoreciendo que a una menor dosis terapéutica de antibiótico se obtengan unos resultados de concentración mínima inhibitoria óptimos.

10

Las nanopartículas de la invención están protegidas frente a una degradación prematura y presentan además una liberación sostenida del antibiótico en los epitelios, más concretamente en el epitelio alveolar y/o bronquial.

15 Por tanto, un aspecto de la invención se refiere a una nanopartícula lipídica que comprende al menos un antibiótico tobramicina, una fracción lipídica que comprende una mezcla de uno o más lípidos sólidos cuyo punto de fusión es igual o mayor que 25° C y uno o más lípidos líquidos o semisólidos cuyo punto de fusión es menor que 25°C, y uno o más tensioactivos.

20

Otro aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende las nanopartículas lipídicas definidas anteriormente junto con uno o más excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables.

25 Otro aspecto de la invención se refiere a un procedimiento de preparación de las nanopartículas lipídicas definidas anteriormente que comprende las siguientes etapas:

30 a) Preparar una mezcla de los lípidos y al menos un antibiótico calentando a una temperatura ligeramente superior al punto de fusión del lípido sólido.

b) Preparar una solución acuosa con uno o más tensioactivos.

c) Calentar la solución acuosa b) a la misma temperatura que la fase oleosa a).

d) Añadir la fase acuosa b) sobre la fase oleosa a) y mezclar para obtener una emulsión.

e) Mantener a una temperatura $5^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$ hasta que los lípidos recristalicen dando lugar a las nanopartículas.

f) Lavar las nanopartículas obtenidas mediante centrifugación y/o ultrafiltración.

5 Las nanopartículas lipídicas de la invención pueden ser útiles en el tratamiento de infecciones, en particular infecciones en el árbol respiratorio. Por tanto, otro aspecto de la invención se dirige a la nanopartícula lipídica definida anteriormente, para su uso como medicamento.

10 Otro aspecto de la invención se refiere a la nanopartícula lipídica definida anteriormente, para su uso en el tratamiento y/o prevención de infecciones en el árbol respiratorio. Así, este aspecto se refiere al uso de la nanopartícula lipídica definida anteriormente para preparar un medicamento para el tratamiento y/o
15 preferentemente causadas por *P. aeruginosa* y/o especies afines y/o microorganismos sensibles a la tobramicina.

Otro aspecto de la invención se dirige a un método de tratamiento y/o prevención de una infección, preferentemente en el árbol respiratorio, preferentemente causadas
20 por *P. aeruginosa* y/o especies afines y/o microorganismos sensibles a la tobramicina, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de la nanopartícula lipídica definida anteriormente, junto con excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables, en un sujeto en necesidad de ese tratamiento y/o
prevención, incluyendo un humano.

25

En este sentido, los estudios realizados por los inventores han demostrado la capacidad de estas nanopartículas lipídicas, así como las composiciones farmacéuticas y/o los medicamentos que comprenden estas nanopartículas, para:

- 30 - obtener una nanopartícula lipídica estable y con efecto de liberación sostenida y/o regulada del antibiótico,
- proteger el antibiótico de una degradación prematura,
- tener la capacidad para penetrar en la biopelícula generada por las propias bacterias, y
- 35 - obtener unos mejores valores de concentración mínima inhibitoria que el antibiótico libre.

- dar lugar a menos efectos tóxicos debido a la tobramicina.

Estas y otras ventajas y características de la invención se harán evidentes a la vista de las figuras y de la descripción detallada de la invención.

5

DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Figura 1. Fotografía microscópica de una realización de las nanopartículas lipídicas de la presente invención.

10

Figura 2. Curva de liberación de antibiótico en el tiempo de las nanopartículas lipídicas.

15

EXPOSICIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

La nanopartícula lipídica que han desarrollado los inventores comprende al menos un antibiótico tobramicina, una fracción lipídica que comprende una mezcla de uno o más lípidos sólidos cuyo punto de fusión es igual o mayor que 25° C y uno o más lípidos líquidos o semisólidos cuyo punto de fusión es menor que 25°C, y uno o más tensioactivos.

20

En el contexto de la presente invención, el término "nanopartícula lipídica" se refiere a una matriz que comprende un núcleo de naturaleza lipídica y/o lipofílica basado en mezclas de lípidos sólidos y líquidos.

25

En el alcance de la invención se incluyen las nanopartículas que comprenden los transportadores lipídicos nanoestructurados.

30

En una realización, las nanopartículas de la invención se caracterizan por presentar un tamaño promedio, aproximadamente, entre 10nm y, aproximadamente, 1000 nm, preferentemente, entre, aproximadamente, 100 nm y, aproximadamente, 500 nm.

Por "tamaño promedio" se entiende el diámetro promedio de la población de nanopartículas lipídicas de la presente invención. El tamaño promedio se puede medir por procedimientos estándar conocidos por el experto en la materia, y que se describen, por ejemplo, en la parte de los ejemplos más adelante.

5

El tamaño de la partícula es uno de los factores que determina la liberación sostenida del antibiótico. En general, el antibiótico situado en la superficie de la nanopartícula es el primero en liberarse. A menor tamaño de nanopartícula, mayor superficie específica de interacción, por lo que habrá una mayor liberación inicial de

10

antibiótico.

En una realización, las nanopartículas presentan una carga superficial (medida mediante el potencial zeta), cuya magnitud puede variar desde, aproximadamente, -30 mV a, aproximadamente, -5 mV y preferentemente entre -30 mV y -16 mV.

15

Generalmente, el potencial zeta es uno de los parámetros que afectan a la estabilidad de las nanopartículas lipídicas. El hecho de que estén cargadas negativamente o positivamente favorecerá que las fuerzas de repulsión entre las nanopartículas eviten las aglomeraciones presentando mejores propiedades de dispersión.

20

Considerando la carga positiva de los lipopolisacáridos de las membranas bacterianas presentes en la biopelícula generada por las propias bacterias y/o presentes en la mucosa pulmonar, la carga superficial negativa de las nanopartículas de la presente invención favorecen la unión nanopartícula- bacteria, optimizando la retención y adhesión de la nanopartícula en el lugar de acción, favoreciendo un efecto sostenido y terapéutico del antibiótico mejor.

25

En una realización, las nanopartículas de la invención presentan unos valores de índice de polidispersión (PDI) iguales o inferiores a 0.5. Este índice nos da una idea de la diversidad de tamaños de nanopartícula existentes en una mezcla. Cuanto más próximo esté a cero más homogéneas serán las nanopartículas, indicativo de una distribución homogénea de tamaño de los lotes de fabricación.

30

Tanto el tamaño medio, como el potencial zeta, como el valor PDI de las nanopartículas se ve influenciado principalmente por la cantidad del componente

35

lipídico, por la cantidad de tensioactivos y por los parámetros del procedimiento de preparación, tal como la potencia y tipo de agitación, la temperatura de ambas fases o la duración de la fase de mezclado.

5 **Fracción lipídica**

La nanopartícula lipídica de la presente invención comprende como fracción lipídica una mezcla de uno o más lípidos sólidos cuyo punto de fusión es igual o mayor que 25°C y uno o más lípidos líquidos o semisólidos cuyo punto de fusión es menor que 25°C.

En el contexto de la presente invención, se entiende por "lípidos sólidos a temperatura ambiente" aquel lípido que tiene un punto de fusión igual o superior a 25°C.

15 En una realización, el lípido sólido o los lípidos sólidos de la fracción lipídica tienen un punto de fusión que está comprendido entre 25°C y 80°C siendo preferentemente, entre 40°C y 75°C, muy preferentemente, entre 53°C y 72°C.

En el contexto de la presente invención, se entiende por "lípidos líquidos a temperatura ambiente" aquel lípido que tiene un punto de fusión por debajo de 25°C.

En una realización, el lípido líquido o semisólido de la fracción lipídica tiene un punto de fusión inferior a 17°C, preferentemente inferior a 4°C, muy preferentemente inferior a 0°C

25 En una realización preferente, la fracción lipídica comprende lípidos seleccionados del grupo que consiste en aceites y/o monoglicéridos y/o diglicéridos y/o triglicéridos y/o ácidos grasos y/o ésteres de ácidos grasos y/o sus derivados y/o mezclas de los mismos.

30 Como lípido sólido, pudiendo ser saturado o insaturado, se pueden incluir sin limitación, triglicéridos (por ejemplo triestearina), y/o mono o diglicéridos (por ejemplo derivados y mezclas de mono y diglicéridos) y/o ácidos grasos (por ejemplo ácido esteárico) y/o ceras (por ejemplo cetil palmitato). En la definición de derivados

de ácidos grasos se incluyen aquellos ácidos grasos, sus ésteres o sus amidas que presentan grupos hidroxilo como sustituyentes de la cadena hidrocarbonada.

5 En una realización, la fracción lipídica sólida comprende una mezcla de dibehenato de glicerol (por ejemplo, Compritol[®] 888 y una mezcla de monoglicéridos, diglicéridos y/o triglicéridos de palmitoestearato de glicerilo (por ejemplo, Precirol[®] ATO 5). En una realización de la invención, la relación en peso (peso/peso) del dibehenato de glicerol y de la mezcla de los glicéridos de palmitoesterato de glicerilo está comprendida, aproximadamente, entre 0.5:10 y, aproximadamente, 5:10,
10 preferentemente 1:10.

En otra realización, la fracción lipídica sólida comprende una mezcla de monoglicéridos, diglicéridos y triglicéridos de palmitoestearato de glicerilo (por ejemplo, Precirol[®] ATO 5).

15 Como lípido líquido se pueden incluir, sin limitación, aceites, y/o triglicéridos, y/o monoglicéridos y/o diglicéricos y/o los ácidos grasos y/o ésteres de ácidos grasos y/o sus mezclas.

20 En una realización, la fracción lipídica líquida comprende triglicéridos.

En una realización, se emplea como lípido líquido un ácido oleico y/o un derivado del ácido oleico.

25 En una realización preferente, se emplea como lípido líquido un triglicérido de ácido caprílico y de ácido cáprico (por ejemplo Mygliol 812).

El lípido líquido aporta una estructura menos ordenada aumentando la capacidad de carga del antibiótico en la matriz de la nanopartícula.

30 En una realización de la invención, la relación en peso (peso/peso) de lípido líquido respecto al lípido sólido está comprendida entre 0.1:10 y 10:10.

35 En una realización preferente, la relación en peso (peso/peso) de lípido líquido respecto al lípido sólido es de 1:10.

El uso de los lípidos sólidos y líquidos aportan las siguientes ventajas a la nanopartícula:

- 5 - tolerancia en el organismo y tejidos mejorada debido a la utilización de lípidos aceptados fisiológicamente o generalmente reconocidos como seguros,
- posibilidad de encapsular fármacos, utilizando diferentes métodos de preparación,
- no muestran toxicidad biológica, y
- 10 - es posible modular la liberación del antibiótico según la necesidad. Las nanopartículas con una cubierta rica en antibiótico presentan una importante liberación inicial mientras que las nanopartículas con un núcleo rico en fármaco permiten una liberación sostenida del mismo.

15 **Tensioactivo**

Como se ha dicho anteriormente, las nanopartículas de la invención comprenden uno o más tensioactivos. En una realización particular, la fase hidrofílica de las nanopartículas que rodea al núcleo lipofílico comprende un tensioactivo. En el
20 contexto de esta invención, un tensioactivo es un emulgente o emulsionante que reduce la tensión superficial de las diferentes fases que se requieren para la fabricación de las nanopartículas consiguiendo una mejor interposición de las mismas y así, la formación de las nanopartículas.

25 Los tensioactivos pueden ser catiónicos, iónicos o no iónicos y su clasificación dependerá de la carga que posea la parte de la superficie. Ejemplos de tensioactivos catiónicos incluyen, sin limitación, cetrimida y/o cloruro de cetilpiridinio; ejemplos de tensioactivos aniónicos incluyen, sin limitación, docusato sódico y/o
30 lauril sulfato sódico

Por el término "tensioactivo no iónico" se entiende aquél compuesto sin ninguna carga neta, que presenta una parte hidrófoba y una parte hidrofílica.

En una realización preferente, la nanopartícula comprende al menos un tensioactivo
35 no iónico cuyas funciones principales son controlar el tamaño de partícula y conferir

estabilidad evitando la formación de agregados. Ejemplos de tensioactivos no iónicos incluyen, sin limitación, polisorbatos, copolímeros de polietilenglicol y/o copolímeros de polipropilenglicol. En una realización preferida, los tensioactivos no iónicos son polisorbato 80 y/o poloxamer.

5

En una realización, la proporción de tensioactivo no iónico está comprendida entre 0,5% y 10% en peso respecto al peso total de la nanopartícula, preferentemente entre 0.5% y 2%, muy preferentemente entre 0.6% y 1.5%.

10 **Antibiótico**

Un antibiótico o antimicrobiano es un agente que actúa contra infecciones bacterianas bien inhibiendo el crecimiento de la bacteria o dando lugar a una cadena de acontecimientos bioquímicos que desembocarán en la lisis de la bacteria.

15

En la presente invención, la nanopartícula lipídica comprende al menos una tobramicina o un profármaco de la tobramicina o un derivado de la tobramicina, preferentemente la tobramicina.

20 La liberación del antibiótico así como la acción antibacteriana se pueden regular mediante la relación en peso del antibiótico respecto a la fracción lipídica. En una realización, la relación en peso del antibiótico respecto a la fracción lipídica es desde 0.25:10 hasta 4:10, siendo preferentemente de 1:10.

25 La acción antibacteriana de un antibiótico se puede medir mediante la concentración inhibitoria mínima, la cual consiste en la concentración del antibiótico requerida para impedir el crecimiento bacteriano a partir de la incubación de 10^{4-5} bacterias en fase de crecimiento rápido, en un medio libre de proteínas con pH 7.2, aerobio, durante un periodo de incubación de una noche. Este término se utiliza para determinar la
30 sensibilidad bacteriana a un agente antibiótico específico.

El término sensible en el contexto de la infección significa una inhibición del crecimiento del microorganismo y/o muerte del microorganismo, en el caso de un tratamiento a la dosis terapéutica.

35

Las relaciones en peso de antibiótico-fracción lipídica de las diferentes realizaciones de la presente invención han demostrado una concentración inhibitoria mínima menor que el antibiótico libre. Este hecho además de ser una ventaja de costes puesto que se requiere una menor cantidad de antibiótico para un mismo efecto terapéutico, favorece una menor probabilidad de resistencias bacterianas adquiridas.

Por el término resistencia bacteriana adquirida en el contexto de la invención se entiende aquella resistencia adquirida por la bacteria a través de la adquisición de genes de resistencia de otras bacterias y/o por procesos de mutación. La resistencia bacteriana está directamente relacionada, entre otras causas, con el uso de dosis o duración inadecuada de la terapia antibacteriana.

El hecho de requerir una menor cantidad de tobramicina para un mismo efecto terapéutico favorece un menor efecto tóxico de la tobramicina.

Procedimiento de preparación

Las nanopartículas lipídicas de la presente invención se pueden preparar mediante la técnica de homogenización por fusión por calor.

Esta técnica comprende las siguientes etapas:

- a) Preparar una mezcla de los lípidos y al menos un antibiótico tobramicina calentando a una temperatura ligeramente superior al punto de fusión del lípido sólido.
- b) Preparar una solución acuosa con uno o más tensioactivos.
- c) Calentar la solución acuosa b) a la misma temperatura que la fase oleosa a).
- d) Añadir la fase acuosa b) sobre la fase oleosa a) y mezclar para obtener una emulsión.
- e) Mantener a una temperatura $5^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$ hasta que los lípidos recristalicen.
- f) Lavar las nanopartículas obtenidas mediante centrifugación/ultrafiltración.

En una realización, por una parte se mezclan los lípidos sólidos y/o líquidos y al menos el antibiótico del tipo de tobramicina, y se calientan a una temperatura ligeramente superior al punto de fusión del lípido sólido. Por otro parte, se prepara

una solución acuosa de al menos un tensioactivo. La solución oleosa y la solución acuosa se calientan a la misma temperatura, y una vez que ambas fases alcanzan la misma temperatura se añade la solución acuosa sobre la oleosa. La mezcla se emulsiona mediante sonicación. El tamaño, el índice de polidispersión y la eficiencia de encapsulación de las nanopartículas dependen de la potencia de sonicación y el tiempo de sonicación. Preferentemente se sónica entre 10W y 40W y muy preferentemente entre 20W y 30W durante entre 10 segundos y 45 segundos, preferentemente entre 15 segundos y 31 segundos y muy preferentemente entre 29 segundos y 30 segundos. La emulsión obtenida se almacena como mínimo, entre 5 horas y 30 horas, preferentemente entre 10 horas y 20 horas y muy preferentemente entre 11 horas y 13 horas, 12 horas entre 1°C y 10°C, preferentemente entre 2°C y 6°C y muy preferentemente entre 3°C y 5°C. En este periodo, los lípidos se recristalizan formando las nanopartículas. Pasado el tiempo, se lavan centrifugando y filtrando entre 1 y 10 veces, preferentemente entre 2 y 5 veces y muy preferentemente 3 veces, entre 1000 rpm y 3500 rpm, preferentemente a 2000 rpm y 3000 rpm y muy preferentemente sobre 2500 rpm durante entre 10 minutos y 30 minutos, preferentemente entre 12 minutos y 16 minutos y muy preferentemente entre 14 minutos y 15 minutos. Una de las ventajas de este método es que no se emplean solventes orgánicos, evitando así la necesidad de realizar ensayos de determinación de trazas de solventes orgánicos previo a la comercialización de las nanopartículas para consumo humano.

Un aspecto de esta invención se dirige al producto obtenible por la técnica descrita anteriormente.

25

Liofilización

En una realización, la nanopartícula lipídica es una nanopartícula liofilizada. La liofilización permite obtener un polvo seco de las nanopartículas lipídicas, el cual le aporta una mayor estabilidad que las nanopartículas lipídicas en suspensión, ya que evita la degradación de la nanopartícula y la liberación anticipada del antibiótico a la solución en el que las nanopartículas están suspendidas.

La liofilización se puede realizar por procedimientos estándar conocidos del experto en la materia, y que se describen, por ejemplo, en la parte de los ejemplos más adelante.

5 En una realización, la nanopartícula lipídica de la presente invención comprende un crioprotector. El crioprotector favorece la estabilización de las nanopartículas durante el proceso de congelamiento del proceso de liofilización. Este crioprotector se puede seleccionar, sin limitación, entre SiO₂ coloidal, glicina, lactosa, manitol, trehalosa, rafinosa, inulina, bicarbonato sódico y borato sódico.

10

En una realización preferente, la nanopartícula comprende la trehalosa como crioprotector.

15 En una realización, la nanopartícula lipídica comprende entre aproximadamente un 5% y aproximadamente un 20% de crioprotector en peso respecto al peso de la nanopartícula lipídica, preferentemente entre un 5% y 15%.

Infección

20 Un aspecto de la invención se dirige a la nanopartícula lipídica de la invención, para su uso en el tratamiento y/o prevención de la infección, preferentemente de una infección en el árbol respiratorio.

25 Otro aspecto de la invención se dirige al uso de la nanopartícula lipídica de la invención, para preparar un medicamento para el tratamiento y/o prevención de la infección, preferentemente de una infección en el árbol respiratorio.

30 Otro aspecto de la invención se dirige a un método de tratamiento o prevención de una infección, preferentemente de una infección en el árbol respiratorio, que comprende en administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de la nanopartícula lipídica definida anteriormente, junto con excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables, en un sujeto en necesidad de ese tratamiento y/o prevención, incluyendo un humano.

El término infección incluye cualquier infección por bacterias gram negativas y/o gram positivas y/o bacterias o microorganismos sensibles a la tobramicina, preferentemente por *Pseudomona aeruginosa*. Esta infección puede estar localizada en el árbol respiratorio, en la piel, en el tracto urinario, en el ojo, en el sistema óseo,
5 en las articulaciones y/o a nivel sistémico.

El término árbol respiratorio incluye a la cavidad nasal, faringe, laringe, tráquea, bronquio primario y pulmones.

10 El término "prevención o tratamiento" en el contexto de la especificación significa la administración de las nanopartículas según la invención para preservar la salud en un paciente que sufre o está en riesgo de sufrir una infección bacteriana anteriormente descrita. Dichos términos también incluyen la administración de las nanopartículas según la invención para prevenir, mejorar, aliviar o eliminar uno o
15 más síntomas asociados a la infección bacteriana. El término "mejorar" en el contexto de esta invención se entiende que significa cualquier mejora en la situación del paciente tratado, o bien subjetiva (sensación de o en el paciente) o bien objetivamente (parámetros medidos).

20 En una realización, la infección en el árbol respiratorio se debe a la *Pseudomonas aeruginosa*.

La nanopartícula de la invención ha demostrado su capacidad de adherirse a la biopelícula generada por la bacteria o la propia mucosidad del tejido del árbol
25 respiratorio. Así, en una realización particular, la invención se dirige al uso de la nanopartícula lipídica de la invención a la infección pulmonar asociada a la fibrosis quística y/o la bronquiectasia.

Las nanopartículas lipídicas de la presente invención, pueden estar formando parte
30 de una composición farmacéutica. Dichas composiciones farmacéuticas incluyen cualquier composición sólida, semi-sólida o líquida.

La composición farmacéutica comprende la nanopartícula lipídica junto con excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables, en un sujeto en necesidad
35 de ese tratamiento y/o prevención, incluyendo un humano. El experto en la materia

puede determinar qué componentes adicionales se pueden utilizar y si son necesarios, siendo muchos de ellos de uso común en composiciones farmacéuticas.

5 La expresión “cantidad terapéuticamente efectiva” en el contexto de esta invención se refiere a la cantidad de composición que una vez administrado, es suficiente para prevenir o tratar uno o más síntomas derivadas de la infección bacteriana. La dosis particular administrada según la presente invención será determinada según las circunstancias particulares que rodean al caso, incluyendo el compuesto administrado, la ruta de administración, la condición particular que se trata y las
10 consideraciones similares.

La expresión “excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables” se refiere a materiales, composición o vehículos farmacéuticamente aceptables. Cada componente debe ser farmacéuticamente aceptable en el sentido de ser compatible
15 con los otros ingredientes de la composición farmacéutica. Debe también ser adecuado para su uso en contacto con los tejidos u órganos humanos y animales sin una toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica, inmunogenicidad u otros problemas o complicaciones acorde con una relación beneficio/ riesgo razonable.

20 La composición farmacéutica puede comprender otros ingredientes como moduladores de la viscosidad, conservantes, solubilizantes, en el que se incluyen, sin limitación, ciclodextrinas, lecitinas y/o monoestearato de glicerina, antifloculantes, en el que se incluye, sin limitación, leucina, y/o estabilizantes, en el que se incluyen, sin limitación, alginatos, ácido algínico y/o trehalosa. Estos
25 componentes serán adicionados a la fase lipofílica o hidrofílica dependiendo de la naturaleza de los mismos.

En una realización, la composición farmacéutica comprende las nanopartículas lipídicas de tobramicina, un crioprotector, un agente antiaglomerante y otros
30 excipientes. La presentación farmacéutica puede ser un polvo para ser nebulizado en solución o en polvo seco para su administración directa.

La nanopartícula lipídica de la invención y/o la composición farmacéutica que comprende dicha nanopartícula y/o el medicamento de la invención se administran
35 por vía digestiva (enteral, bucal, sublingual o rectal), por vía tópica (transdérmica u

oftálmica), por vía parenteral (intradérmica, subcutánea, intramuscular, intravenosa, o intraperitoneal) o administración directa en el árbol respiratorio.

5 En una realización preferente, se administra en el tracto respiratorio, mediante la inhalación.

Estas administraciones mediante inhalación son preparaciones líquidas o sólidas que contienen la nanopartícula y/o composición farmacéutica y/o medicamento de la invención sola o junto con más fármacos. El tamaño de las partículas destinadas a ser inhaladas debe ser ajustado para localizar su repartición en la parte inferior del árbol respiratorio y controlado por métodos apropiados para la determinación del tamaño de las partículas. El experto en la materia puede determinar que procesos y/o dispositivos pueden aplicarse para una administración óptima mediante vapores o aerosoles o polvos.

15 En otro aspecto de la invención, el tamaño de partícula inhalada está comprendido entre 1 μm y 10 μm , preferentemente entre 2 μm y 8 μm y más preferentemente entre 3 μm y 5 μm . Estos tamaños permiten una perfecta deposición alveolar y retención pulmonar de la cantidad terapéuticamente efectiva. En una realización particular estos tamaños se logran agregando las nanopartículas, en el caso de su aplicación como polvo seco, o generando un aerosol con el portador apropiado en el caso de ser administradas mediante nebulización.

25 A continuación, se describen algunos ejemplos ilustrativos que ponen de manifiesto las características y ventajas de la invención, no obstante, no se deben interpretar como limitativos del objeto de la invención tal como está definido en las reivindicaciones.

Ejemplos

30 *Ejemplo 1: Preparación de nanopartículas lipídicas con antibiótico mediante la técnica de homogenización por fusión por calor.*

Ejemplo 1a:

Se preparó una mezcla de 1000 mg de Precirol® ATO 5 y Miglyol® 812 en una relación 10:1 junto con 100 mg de tobramicina, a una temperatura ligeramente superior al punto de fusión del lípido sólido.

- 5 Por otro lado, se preparó una solución acuosa del tensioactivo (Poloxamer 188 al 0,6 % y Polisorbato 80 al 1,3%).

La solución lipídica y la acuosa fueron calentadas a la misma temperatura (aproximadamente, a una temperatura entre 5°C y 10°C superior a la temperatura
10 de fusión de los lípidos).

Se añadió la fase acuosa sobre la fase oleosa, y la mezcla fue emulsionada mediante sonicación a 20W durante 30 segundos. La emulsión obtenida fue almacenada durante 18 horas a 4°C para que los lípidos pudieran recristalizarse y formar las nanopartículas.

15

Las nanopartículas obtenidas se lavaron centrifugando 3 veces a 2500 rpm durante 15 minutos utilizando filtros Amicon® Ultra (Millipore).

Ejemplo 1b:

- 20 Se prepararon nanopartículas lipídicas según el método descrito en el ejemplo 2a). A diferencia de 2a), se utilizaron dos tipos de lípidos sólidos: 500mg de Precirol® ATO 5 y 500mg de Compritol® 888 ATO.

Ejemplo 1c:

- 25 Una parte de las nanopartículas preparadas según 1a) y 1b) fueron liofilizadas sometiéndolas a las siguientes etapas:

- a) Adición de un 15% de trehalosa respecto al peso total de la fracción lipídica.
b) Congelación a -20°C y posteriormente a -80°C.
30 c) Congelación a -50°C, a 10000 mbar de presión durante 3 horas.
d) Vacío a -50°C hasta obtener una presión de 0.20 mbar.
e) Secado a -50°C a 0.20 mbar de presión durante 5 horas.
f) Secado a 20°C a 0.20 mbar de presión durante 7 horas.
g) Secado a 20°C a presión ambiental durante 24 horas.

35

En adelante, las nanopartículas preparadas según 1a y liofilizadas según 1c, se denominan 1a liofilizada, y las nanopartículas preparadas según 1b y liofilizadas según 1c, se denominan 1b liofilizada.

- 5 *Ejemplo 2: Preparación de nanopartículas lipídicas en distintas relaciones en peso de lípido líquido respecto al lípido sólido.*

Se prepararon varios lotes de nanopartículas lipídicas, con diferentes relaciones en peso de lípido líquido respecto a lípido sólido según el método descrito en el ejemplo 1a. Las relaciones fueron las siguientes: 0.1:10; 0.5:10; 1:10; 2.5:10; 5:10 y 10:10. Las relaciones de 0.5, 1, 2.5 y 5 no llevaban antibiótico alguno.

Ejemplo 3 Caracterización de las nanopartículas

- 15 Se caracterizaron el tamaño de la partícula y el potencial zeta mediante un Zetasizer Nano ZS. En la siguiente tabla se describen los resultados medios obtenidos con los lotes fabricados según los ejemplos 1y 2:

Lotes	Relación Lípido líquido- lípido sólido	Tamaño (nm)	Potencial Z (mV)	Índice de polidispersión (PDI)
Ejemplo 1a	1:10	254±15	-24±3	0.33
Ejemplo 1a liofilizada	1:10	236±31	-25.6±1	0.22
Ejemplo 1b liofilizada	1:10	279±20	- 22.2±1	0.37
Ejemplo 2	0.1:10	399±75	-8.8±1	0.46
Ejemplo 2	0.5:10	397±44	-16±1	0.35
Ejemplo 2	1:10	248±46	-25±2	0.38
Ejemplo 2	2.5:10	401±56	-31±2	0.46
Ejemplo 2	5:10	396±56	-31±1	0.46
Ejemplo 2	10:10	254±36	-16±4	0.40

- 20 De esta tabla se puede observar que se han obtenido nanopartículas con un tamaño, potencial Z y PDI óptimos para una buena estabilidad y homogeneidad de las nanopartículas.

Ejemplo 4: Eficacia de encapsulación.

Se determinó la eficacia de encapsulación del antibiótico determinando la cantidad de antibiótico presente en el sobrenadante tras el proceso de lavado descritos en el ejemplo 1a y 1b.

La cantidad de tobramicina presente en el sobrenadante fue determinado mediante espectrofotometría por derivatización con fluorescamina (solución al 0.5% en etanol). Se prepararon distintas soluciones patrón de tobramicina en agua ultrapura del tipo 1 (por ejemplo, MilliQ®) con las siguientes concentraciones de tobramicina: 5 µg/ml, 15 µg/ml, 25 µg/ml, 50 µg/ml, 75 µg/ml y 100 µg/ml.

Cada solución, así como el sobrenadante se mezclaron con fluorescamina a partes iguales. Tras un periodo de incubación de 1 hora a temperatura ambiente (25°C ± 2) se analizó el valor de la absorbancia a una longitud de onda de 390 nm de cada solución. A partir de las absorbancias obtenidas de las soluciones patrón se determinó la cantidad de tobramicina en el sobrenadante.

La eficacia de encapsulación fue determinada por la siguiente fórmula:

Eficacia de Encapsulación (%)= 100 * (cantidad inicial de antibiótico- cantidad de antibiótico no encapsulado)/ cantidad inicial de antibiótico).

Los lotes fabricados según el método de fabricación descrito en el ejemplo 1a dieron valores medios de 97% ±1. Estos valores son indicativos de que la efectividad del procedimiento de preparación está en unos valores próximos al 100%, asegurando un aprovechamiento máximo del antibiótico añadido al proceso de fabricación.

Ejemplo 5: Ensayos in vitro para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (MIC).

100 µl de una concentración de 10⁴ Unidades formadoras de Colonias (CFU) /ml de cepas de *P. aeruginosa* obtenidas de 31 pacientes con fibrosis quística, de las cuales, 13 cepas eran productoras de mucosa, fueron incubadas durante 24h a 37°C en un medio Caldo Mueller Hinton con concentración ajustada de cationes (MHBCA), correspondientes entre 20 mg y 25 mg por litro de Calcio y entre 10 mg y

12,5 mg por litro de magnésico, que aseguraban la reproducibilidad de los resultados para *P.aeruginosa*, en presencia de Tobramicina, y nanopartículas obtenidas según el ejemplo 1a liofilizadas, en diferentes concentraciones (menos de 0.125 µg/ml; 0.125 µg/ml; 0.25 µg/ml; 0.5 µg/ml; 1 µg/ml; 2 µg/ml; 4 µg/ml; 8 µg/ml; 16 µg/ml; 32 µg/ml; 64 µg/ml; 128 µg/ml; mayor que 128 µg/ml).

Para la Tobramicina libre, para aproximadamente el 18% de las cepas se obtuvo una MIC inferior a 0.25 µg/ml, para aproximadamente el 67% de las cepas se obtuvo una MIC de entre 0.26 µg/ml y 0.50 µg/ml, para aproximadamente el 85% una MIC de entre 0.51 µg/ml y 1 µg/ml, para aproximadamente el 5% una MIC de entre 1.1µg/ml y 2 µg/ml, para aproximadamente el 2.5% una MIC de entre 2.1 µg/ml y 4 µg/ml. El restante obtuvo una MIC superior a 32 µg/ml.

En el caso de las nanopartículas de tobramicina obtenidas según el ejemplo 1a, para aproximadamente el 5% de las cepas se obtuvo una MIC inferior a 0,125 µg/ml, para aproximadamente el 30% de las cepas se obtuvo una MIC de entre 0,126 µg/ml y 0,25 µg/ml, para aproximadamente el 40% una MIC de entre 0,26 µg/ml y 0,5 µg/ml y para aproximadamente el 7%, una MIC de entre 0,56 µg/ml y 1 µg/ml. El restante obtuvo una MIC superior a 2 µg/ml.

Estos resultados demuestran que las nanopartículas de la presente invención presentan un mejor valor de MIC que el antibiótico libre.

Ejemplo 6: Estudios de liberación

Se incubaron por un lado una muestra de 50 mg de nanopartículas 1a-liofilizada, y por el otro, una muestra de 50 mg de nanopartículas 1b-liofilizada, en 50 ml de PBS cada una. Estas muestras previamente fueron resuspendidas en 1 ml de PBS y se dispusieron en celdas de microdiálisis que posteriormente se sellaron con una membrana con un tamaño de poro tamaño de corte molecular de 6000-8000 Da. En tiempos preestablecidos se tomaron muestras del medio y se repusieron con PBS nuevo (en la misma cantidad de la muestra tomada). El antibiótico presente en el medio retirado fue analizado por espectrofotometría según el ejemplo 4. En la figura 2 se expresa el porcentaje de antibiótico liberado respecto a la cantidad total

de antibiótico encapsulado en la nanopartícula para cada tipo de nanopartícula en el tiempo (horas).

5 Las nanopartículas lipídicas presentan una gran superficie específica dado a su tamaño. Cuando se ponen en contacto con el PBS, primeramente se libera el fármaco asociado a la superficie o muy cercano a la superficie de nanopartícula. A esta primera fase de liberación rápida se le denomina "burst". En una segunda fase, el principio activo se libera por degradación/erosión o hinchamiento de núcleo de la partícula, dando lugar a la fase de liberación sostenida. En el caso de la terapia antimicrobiana, los niveles de antibiótico han resultado ser óptimos para inhibir el crecimiento *in vitro* de las bacterias *P. aeruginosa*.
10

REIVINDICACIONES

1. Nanopartícula lipídica que comprende:
 - tobramicina,
 - 5 - una fracción lipídica que comprende una mezcla de uno o más lípidos sólidos cuyo punto de fusión es igual o mayor que 25° C y uno o más lípidos líquidos o semisólidos cuyo punto de fusión es menor que 25°C, y
 - uno o más tensioactivos.
- 10 2. Nanopartícula lipídica según la reivindicación 1, en donde la fracción lipídica comprende lípidos seleccionados del grupo que consiste en aceites y/o monoglicéridos y/o diglicéridos y/o triglicéridos y/o ácidos grasos y/o ésteres de ácidos grasos y/o sus derivados y/o mezclas de los mismos.
- 15 3. Nanopartícula lipídica según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la relación en peso de la tobramicina con respecto a la fracción lipídica está comprendida entre 0.25:10 y 4:10, siendo preferentemente 1:10.
- 20 4. Nanopartícula lipídica según cualquiera de las reivindicaciones, en donde la relación en peso de lípido líquido con respecto al lípido sólido está comprendida entre 0.1:10 y 10:10, siendo preferentemente 1:10.
- 25 5. Nanopartícula lipídica según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la proporción en peso de tensioactivo respecto al peso total de la nanopartícula está comprendida entre 0.5% y 10%, preferentemente entre 0.5% y 2%.
- 30 6. Nanopartícula lipídica según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde los tensioactivos son no iónicos.
- 35 7. Nanopartícula lipídica según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el lípido sólido tiene un punto de fusión que está comprendido entre 25°C y 80°C, siendo preferentemente, entre 40°C y 75°C.
8. Nanopartícula lipídica según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en

donde el lípido semisólido o líquido tiene un punto de fusión inferior a 17°C, preferentemente inferior a 4°C.

5 9. Nanopartícula lipídica según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende un crioprotector.

10. Nanopartícula lipídica según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que está liofilizada.

10 11. Composición farmacéutica que comprende la nanopartícula lipídica según cualquiera de las reivindicaciones anteriores junto con uno o más excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables.

15 12. Nanopartícula lipídica según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, para su uso como medicamento.

13. Nanopartícula lipídica según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, para su uso en el tratamiento y/o prevención de infecciones causadas por bacterias gram negativas y/o gram positivas y/o microorganismos sensibles a la tobramicina.

20

14. Nanopartícula lipídica para uso según la reivindicación 13, en donde las infecciones son causadas por *Pseudomonas aeruginosa*.

25 15. Nanopartícula lipídica según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, la cual se administra por vía digestiva (enteral, sublingual, bucal o rectal), por vía tópica (transdérmica u oftálmica), por vía parenteral (intradérmica, subcutánea, intramuscular, intravenosa, o intraperitoneal) o administración directa en el árbol respiratorio.

30 16. Nanopartícula lipídica según la reivindicación 15, la cual se administra mediante inhalación en el tracto respiratorio, en forma de vapores o aerosoles o polvos, en donde la partícula inhalada tiene un tamaño entre 1 µm y 10 µm, preferentemente entre 1.5 µm y 5 µm, y más preferentemente entre 2 µm y 4 µm.

35



Figura 1

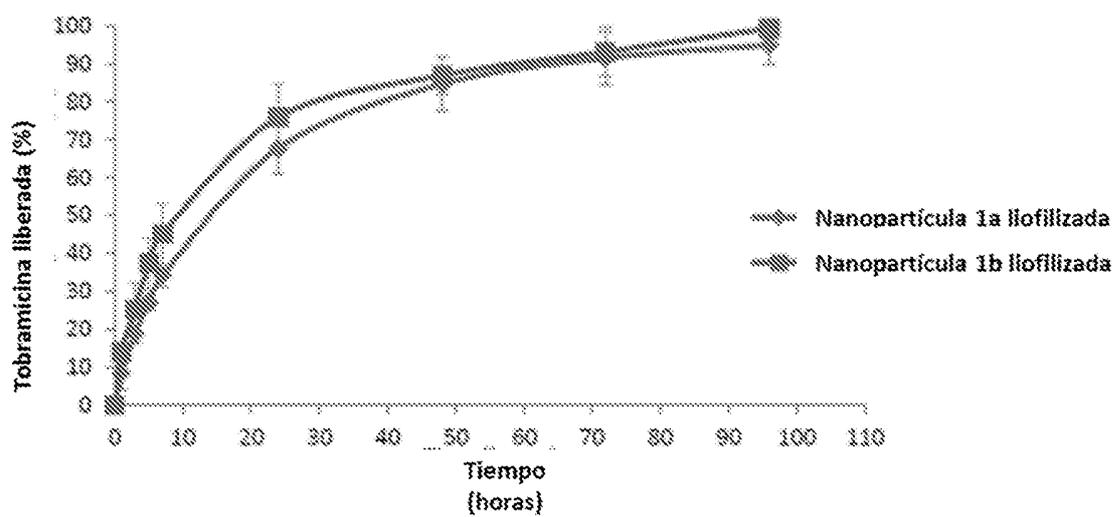


Figura 2



- ① N.º solicitud: 201431894
② Fecha de presentación de la solicitud: 19.12.2014
③ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤ Int. Cl. : **A61K9/51** (2006.01)
A61K31/7036 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	PASTOR MARTA et al., "Sodium colistimethate loaded lipid nanocarriers for the treatment of Pseudomonas aeruginosa infections associated with cystic fibrosis". International Journal of Pharmaceutics, (2014), Vol: 477, No: 1-2, Págs: 485-494 ISSN 1873-3476 (Electronic) Doi: doi:10.1016/j.ijpharm.2014.10.048, todo el documento.	1-16
A	ZHENG MINYING et al., "Formulation and characterization of nanostructured lipid carriers containing a mixed lipids core". Colloids and Surfaces: A, Physicochemical and Engineering Aspects, (2013), Vol: 430, Págs: 76-84 ISSN 0927-7757 Doi: doi:10.1016/j.colsurfa.2013.03.070, todo el documento.	1-16
A	WO 2014152795 A2 (SCHENTAG JEROME J et al.) 25.09.2014, todo el documento.	1-16

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
28.04.2016

Examinador
M. Hernández Cuéllar

Página
1/4

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

A61K

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

INVENES, EPODOC

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 28.04.2016

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-16	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones	SI
	Reivindicaciones 1-16	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	PASTOR MARTA et al., "Sodium colistimethate loaded lipid nanocarriers for the treatment of Pseudomonas aeruginosa infections associated with cystic fibrosis". International Journal of Pharmaceutics, (2014), Vol: 477, No: 1-2, Págs: 485-494 ISSN 1873-3476 (Electronic) Doi: doi:10.1016/j.ijpharm.2014.10.048, todo el documento.	30.12.2014
D02	ZHENG MINYING et al., "Formulation and characterization of nanostructured lipid carriers containing a mixed lipids core". Colloids and Surfaces: A, Physicochemical and Engineering Aspects, (2013), Vol: 430, Págs: 76-84 ISSN 0927-7757 Doi: doi:10.1016/j.colsurfa.2013.03.070, todo el documento.	17.04.2013
D03	WO 2014152795 A2 (SCHENTAG JEROME J et al.)	25.09.2014

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 presente invención se relaciona con una nanopartícula lipídica que comprende al menos un antibiótico tobramicina, una mezcla de lípidos sólidos y líquidos y un tensioactivo. La invención también tiene por objeto una composición farmacéutica que comprende dicha nanopartícula y el uso de la nanopartícula en la prevención y/o tratamiento de infecciones por bacterias sensibles a la tobramicina, preferentemente Pseudomonas aeruginosa y preferentemente en el árbol respiratorio.

1.- ESTADO DE LA TECNICA

El documento D01 describe la obtención de nanopartículas lipídicas cargadas con colistimetato de sodio para el tratamiento de infecciones causadas por Pseudomonas aeruginosa asociadas con fibrosis quística.

El documento D02 se refiere a la formulación y caracterización de transportadores lipídicos nanoestructurados (NLC) cuyo núcleo está formado por una mezcla de lípidos.

El documento D03 describe nanopartículas denominadas colestosomas que en su interior llevan tobramicina y su uso para la elaboración de composiciones para el tratamiento de procesos inflamatorios asociados a desordenas metabólicos.

Los documentos D02-D03 reflejan el estado general de la técnica relacionado con la invención.

2.- NOVEDAD

Ninguno de los documentos citados describe una nanopartícula idéntica a la definida en las reivindicación 1. En consecuencia, en opinión de esta Oficina las reivindicaciones 1-16 son nuevas y cumplen el requisito del Art. 6.1 LP 11/1986.

3.- ACTIVIDAD INVENTIVA

Las reivindicaciones 1-10 tienen por objeto un transportador nanoestructurado lipídico (NLC) que comprende al menos el antibiótico tobramicina, una mezcla de lípidos sólidos y líquidos y un tensioactivo. La reivindicación 11 también tiene por objeto una composición farmacéutica que comprende dicha transportador nanoestructurado lipídico. Las reivindicaciones 12-16 se refieren al uso de la transportador nanoestructurado lipídico en la prevención y/o tratamiento de infecciones por bacterias sensibles a la tobramicina, preferentemente Pseudomonas aeruginosa y preferentemente en el árbol respiratorio.

El documento D01 se representa el estado de la técnica más próximo a la invención.

El documento D01 describe la obtención de un transportador nanoestructurado lipídico (NLC) cargado con colistimetato de sodio para el tratamiento de infecciones causadas por Pseudomonas aeruginosa asociadas con fibrosis quística.

En el apartado 2.1 relativo a los métodos se describe con detalle la obtención de dichas partículas. Según se menciona en el párrafo 4 de la página 486, para la elaboración de transportador nanoestructurado lipídico (NLC) cargado con colistimetato de sodio (Colist-NLC) se utilizó una la homogeneización de fusión en caliente (Beloqui et al, 2013; Obeidat et al., 2010). Para obtener el núcleo lipídico, fueron seleccionados el Precirol1 ATO 5 y Miglyol1 812 (Sasol, Johannesburgo, Sudáfrica). Estos lípidos se mezclaron con el API y se calentaron por encima de la temperatura de fusión de lípido sólido. La solución de tensioactivo consistió en 1,3% (w / v) de Polisorbato 80 y 0,6% (w / v) de Poloxamer 188. El lípido y soluciones acuosas se calentaron a la misma temperatura y luego se emulsionaron por tratamiento con ultrasonidos durante 15 s a 20 W. Las nanopartículas fueron almacenadas a durante la noche a 4°C para permitir la recristalización de los lípidos y la formación de las partículas. A continuación, se efectuó una etapa de lavado por centrifugación a 2500 rpm tres veces. Todas las Colist-NLC preparadas se liofilizaron con dos crioprotectores diferentes, bien Dmannitol o bien trehalosa (15%).

La diferencia entre las NLC obtenidas en D01 y las reivindicadas en la invención radica en el agente antibacteriano utilizado. En D01 se utilizó colistimetato de sodio y en la invención tobramicina. El problema técnico subyacente se podría plantear como la provisión de una nueva NLC para el tratamiento de infecciones respiratorias en pacientes con fibrosis quística. El documento D01 (pág. 486, párrafo1 líneas 4-6) indica que, en la actualidad, tanto la tobramicina como el colistimetato de sodio constituyen la opción de primera elección para la terapia inhalada para el tratamiento de infecciones respiratorias en pacientes con fibrosis quística. En este sentido, resultaría obvio para un experto en la materia intentar desarrollar nuevas NLC con tobramicina mediante la aplicación de las técnicas descritas en D01 y del mismo modo obtener dichas NLC con tobramicina con unas expectativas razonables de éxito. En consecuencia, en opinión de esta Oficina, las reivindicaciones 1-16 carecen de la actividad inventiva estipulada en el Art. 8.1 LP 11/1986.