

Respuesta a Requerimientos

1	Datos del Solicitante / Titular			
Nombre:	MAURICIO JARAMILLO CAMPUZANO	Dirección Electrónica:	mjaramillo@gpzlegal.com	
Dirección:	CALLE 67 #7-35 OF 1204	Domicilio/País de constitución:	COLOMBIA - BOGOTA D.C. - BOGOTA D.C.	
Identificación: ☒ CEDULA DE CIUDADANIA ☐ EMPRESA EXTRANJERA ☐ PASAPORTE ☐ CEDULA DE EXTRANJERIA ☐ NIT Número: 80421942-				
2	Dato de la Creación			
Identificación de la Creación	No. de Certificado	Vigencia	No. de Expediente	Tipo Trámite

DISPOSITIVO PARA LA ADMINISTRACIÓN EFICAZ DE COMPUESTOS PARA O A TRAVÉS DE LA PIEL O LAS BARRERAS BIOLÓGICAS USANDO PELÍCULAS FINAS DE ABSORCIÓN SUAVE DE LUZ		000000		13257484	PCT-PATENTE DE INVENCION CAPITULOS I Y II
3	Texto de la Comunicación	Respuesta al Oficio No. 6260, de conformidad con el artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina			
4	Anexos				
☒ Anexos					

Doctor
José Luis Salazar López
Director de Nuevas Creaciones
Superintendencia de Industria y Comercio
E. S. D.

Asunto:	Radicación	13-257484
	No.:	
	Trámite:	11
	Evento:	378
	Actuación:	430
	Oficio No.:	6260
	Referencia:	Respuesta Oficio de Fondo

MAURICIO JARAMILLO CAMPUZANO, abogado, identificado con la cédula de ciudadanía No. 80.421.942 de Bogotá y con la tarjeta profesional No. 74.555 del Consejo Superior de la Judicatura, en calidad de apoderado del solicitante **UNIVERSIDAD DE COIMBRA**, doy respuesta al **Oficio No. 6260**, de conformidad con el artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, y de acuerdo con los siguientes argumentos:

4. Excepción a la Patentabilidad (Art 20 D486 literal (d))

Las reivindicaciones 15 a 20, objetadas por no ser patentables de acuerdo con el Artículo 20 de la Decisión 486 de 2000, han sido eliminadas.

5. De la Solicitud de Patente

Título

Se destaca que el Título de la Invención se ha modificado de manera que define de forma más completa el invento, tal como lo solicitó el Examinador.

Reivindicaciones (Art 30 D 486, Art 22 PCT)

Todas las Reivindicaciones, 1-14 han sido objetadas por no considerarse poco claras al incorporar terminologías tales como “al menos”, “preferiblemente” y otros. Al respecto, se han enmendado todas las reivindicaciones para subsanar las objeciones emitidas.

También se han eliminado las reivindicaciones 15 a 20 referidas a métodos de tratamiento humano o animal.

Descripción (Art 28 D 486)

También el Capítulo Descriptivo se ha enmendado para subsanar los pequeños errores que el Examinador ha objetado.

7. Examen de Patentabilidad (Art 14 D 486)

Novedad (Art 16 D486)

El Examinador ha rechazado las reivindicaciones por falta de Novedad y Nivel Inventivo con base en los siguientes Documentos del arte previo:

D1 US 20010055435

D2 WO9007904

D3 WO2010080991

Antes de hacer referencia a cada uno de los Documentos citados conviene recordar los aspectos de la presente invención, en relación con los comentarios del Examinador.

El Examinador indica que: “las características técnicas esenciales estructurales son las que definen la invención en una reivindicación de producto, las que la hacen (o deberían hacerla) diferente del estado de la técnica y, por tanto, constituyen la solución al problema técnico que intenta resolver la invención”. Esta opinión brinda la oportunidad de

resaltar “las características técnicas estructurales con las del Estado de la Técnica” y de demostrar la novedad de la presente invención.

El problema técnico que esta invención busca resolver es el de la “permeabilización temporal de una membrana biológica, incluyendo las capas externas de la piel, sin causar daños ni molestias”. Como se explica, esta invención, “La piel es una protección muy eficaz contra la entrada de materias extrañas”, lo que dificulta la administración de fármacos para o a través de la piel. Las características técnicas estructurales del dispositivo descrito en la Reivindicación 1, y ejemplificado en la Figura 5, ofrecen una solución al problema técnico de la administración de un fármaco para o a través de membranas biológicas. Este problema técnico es completamente diferente del problema técnico que las invenciones descritas en los documentos D1, D2 y D3, citados por el Examinador, pretenden resolver.

Los documentos D1, D2 o D3 nunca se refieren a la permeabilización de membranas biológicas o siquiera de la piel. Estos documentos se refieren a invenciones que buscan resolver otros problemas técnicos y que dan origen a dispositivos con características técnicas estructurales diferentes. Seguidamente se hará referencia a cada uno de los Documentos citados.

Documento D1

Mientras que el documento D1 busca resolver el problema de elección del material y de espesor de la película que permite obtener un buen transductor opto-acústico, la presente solicitud de patente busca resolver el problema de elección de las características técnicas de un dispositivo que facilite la permeabilización de compuestos moleculares de grandes dimensiones a través de barreras biológicas, tales como la piel o tejidos blandos, en forma no invasiva y no traumática.

Para conseguir la permeabilización efectiva de barreras biológicas como la piel o los tejidos blandos, la Reivindicación 1 de la presente solicitud de patente describe un dispositivo que es capaz de producir “un transitorio acústico de banda ancha y alto impulso” que posibilita la permeabilización de barreras biológicas a compuestos moleculares de grandes dimensiones.

La característica “alto impulso” es una característica importante de la presente invención. El “Impulso de un transitorio acústico” se define en esta solicitud “como la tasa de aumento de presión por unidad de tiempo, que puede ser expresado en unidades de Pa/s o bar/s o más convenientemente en bar/ns, o Pa/ns”. El Examinador sugiere que se haga la conversión a unidades del sistema internacional, siendo que en este sistema la unidad de presión es el pascal (Pa). Se sabe ampliamente que $1 \text{ bar} = 100\,000 \text{ Pa}$. La presente invención revela que un impulso de por lo menos 2 bar/ns es necesario para permeabilizar eficazmente una membrana biológica. Expresado en unidades del sistema internacional, este mismo valor debe escribirse $200\,000\,000\,000\,000 \text{ Pa/s}$ o $2 \times 10^{14} \text{ Pa/s}$ o 200 TPa/s . La notación científica en patentes se presta a ambigüedades cuando las conversiones entre procesadores de texto omiten el formato en superíndice y se desaconsejan en este contexto. La utilización del prefijo “tera” o T es mucho menos común que la utilización de unidades de presión en bar, todavía más porque un bar es una presión muy próxima a la presión atmosférica normal. Así, es mucho más difícil, incluso para el especialista en el tema, comprender el significado de 200 TPa/s que el de 2 bar/ns . De hecho, un impulso de 200 TPa/s parece ser suficiente para arrasar cualquier barrera biológica irreversiblemente. Al expresar adecuadamente este mismo impulso en unidades de 2 bar/ns el especialista en el tema comprende que una variación de presión de dos atmósferas es ejercida durante un nanosegundo sobre una barrera biológica, lo que permite entender la real dimensión del impulso, su efecto

y el hecho de no causar daños o dolor. Sin generar un “alto impulso” no es posible obtener “la solución al problema técnico que intenta resolver la invención”. Igualmente, se ha indicado la unidad Pa/ns, conservando también la unidad bar/ns.

Contrariamente a lo que establece la presente solicitud de patente y la Reivindicación 1, el Documento D1 no se refiere ni resuelve el problema de generar “un transitorio acústico de banda ancha y alto impulso”. La generación de “un transitorio acústico de banda ancha” no es sólo por sí suficiente para resolver “el problema técnico que intenta resolver la invención”.

A propósito de la generación de “un transitorio acústico de banda ancha” es posible aclarar que la ecuación (4) determina las condiciones para las cuales se garantiza esa generación. Cuando el producto del coeficiente de absorción lineal (μ_a) por la velocidad de sonido del medio (c_s) y por la duración del pulso de láser ($\square_L$) es mucho menor que la unidad, “la banda espectral del transitorio fotoacústico” es determinada “por la banda espectral del pulso de láser”. Para láseres con pulsos de duración de pico o nanosegundos, como los que se describen en la presente invención, se garantiza la generación de “un transitorio acústico de banda ancha”.

En la discusión de esta ecuación en el texto de la patente originalmente presentada aparece dos veces la simbología “ μ_a ” cuando deberá ser “ μ_a ”. A pesar de que en caso la falta de formato no origina una ambigüedad, esta falta de formato ilustra el peligro de utilizar la notación científica tratada anteriormente.

Además de usar sistemas moleculares capaces de generar “un transitorio acústico de banda ancha y alto impulso” (i) la presente solicitud de patente y la Reivindicación 1 revelan una configuración del pulso del láser (ii) y un diseño específico de las diversas características técnicas estructurales (iii) del dispositivo. El Documento D1 tampoco revela

ninguna enseñanza con relación a estas características técnicas estructurales. Estos tres aspectos de la Reivindicación 1 ofrecen una solución optimizada para “el problema técnico que intenta resolver la invención”, y se discuten en forma separada para sistematizar las diferencias con relación al Documento 1.

(i) Sistemas moleculares capaces de generar un “alto impulso”

La presente solicitud de patente revela materiales conversores basados en sistemas moleculares capaces de generar “un transitorio acústico de banda ancha y alto impulso en dicho material de conversión, mediante una expansión termoelástica y/o expansión de su volumen estructural y/o una fotodescomposición”. La capacidad de generar un “alto impulso” depende de las propiedades de los sistemas moleculares reveladas en la presente solicitud de patente y un “alto impulso” es una característica indispensable para permeabilizar una membrana biológica. El Documento D1 nunca menciona características técnicas para generar un “impulso”. La generación de un “alto impulso” depende críticamente de los tiempos de vida de los procesos que ocurren en el material conversor tras la absorción del pulso de luz del láser, como se demuestra en la Figura 3 de la presente solicitud de patente.

(ii) Configuración del pulso de láser

La especificación del intervalo de 0,1 a 40 MW/cm² de la densidad de potencia óptica en la Reivindicación 1 de la presente solicitud de patente configura las condiciones para generar, tal como se especifica en la Reivindicación 1, “un transitorio acústico de banda ancha y alto impulso, especialmente capaz de aumentar la administración de al menos uno o más compuestos en una formulación farmacológica adecuada (A) en una barrera biológica objeto o a través de la misma (B)”. Esta especificación de la densidad de potencia óptica enseña cuál es la combinación de fluencias de láser (en unidades de J/cm²) y de duración del pulso de láser

(en unidades de segundo) que deben asociarse con las propiedades del material y con el diseño del dispositivo para conseguir generar impulsos que permeabilicen las membranas biológicas. Estas especificaciones no son obvias ni son una elección arbitraria, y tampoco se obtienen por medio de un trabajo de rutina. Algunos de los ejemplos que se presentan a continuación aclaran las relaciones cuantitativas, los principios físicos y las propiedades de los materiales necesarios para cumplir las especificaciones de la presente solicitud de patente.

La densidad de potencia óptica mínima de $0,1 \text{ MW/cm}^2$ corresponde, por ejemplo, a una fluencia de láser de $0,04 \text{ mJ/cm}^2$ dada por un láser con un pulso de $0,4 \text{ ns}$ de duración. Según la ecuación (1) de la presente solicitud de patente, y siguiendo el ejemplo del poliestireno usado para explicar esta ecuación, la densidad de potencia óptica de $0,1 \text{ MW/cm}^2$ puede originar una presión máxima de $0,8 \text{ bar}$, pero un impulso igual o superior a 2 bar/ns es necesario para permeabilizar una membrana biológica, tal como establece la presente solicitud de patente, lo que requiere que las ondas fotoacústicas tengan un tiempo de subida inferior a $0,4 \text{ ns}$. Sólo materiales piezofotónicos cuidadosamente diseñados pueden generar ondas fotoacústicas con tales presiones máximas y tiempos de vida tan cortos para la densidad de potencia óptica mínima especificada. Además, las frecuencias de gigahertz asociadas a tiempos de vida tan cortos son fuertemente absorbidas por todos los tipos de materiales. Así, densidades de potencia óptica inferiores a $0,1 \text{ MW/cm}^2$ son incapaces de permeabilizar barreras biológicas de forma tal que puedan aplicarse fármacos en una cantidad suficiente para obtener los efectos terapéuticos deseados.

La densidad de potencia óptica máxima de 40 MW/cm^2 reconoce la existencia de límites para la ablación de películas finas. La ocurrencia de ablación es un límite de aplicación de la ecuación (1), que se aplica a la generación de ondas fotoacústicas. Por ejemplo, la ablación de

poli(dimetilsiloxano) ocurre para densidades de potencia superiores a los 35 MW/cm² [V.-M. Graubner, R. Jordan, O. Nuyken, T. Lippert, M. Hauer, B. Schnyder, A. Wokaun, Incubation and ablation behavior of poly(dimethylsiloxane) for 266 nm irradiation, Appl. Surf. Sc., 197-198 (2002) 786-790]. Una densidad de potencia óptica de 40 MW/cm² puede alcanzarse, por ejemplo, con una fluencia de láser de 400 mJ/cm² dada por un láser con un pulso de 10 ns de duración. Según la Ec. (1), en estas condiciones puede generarse una presión máxima de 320 bar en 10 ns, o sea, un impulso de 32 bar/ns. La utilización de láseres con densidades de potencia superiores a este límite en una superficie significativa requiere un equipo sofisticado, destruye las fibras ópticas, produce un ultrasonido capaz de originar cavitación, libera mucho calor y puede producir dolor cuando se aplica directamente en la piel.

(iii) Diseño del dispositivo

El Documento D1 describe un dispositivo en que una capa o película de un material que absorbe luz, constituido predominantemente por grafito, se aplica directamente sobre la superficie de una fibra óptica. La Reivindicación 1 de la presente solicitud de patente describe un dispositivo en que “una capa fina (4) de un material de conversión” se mantiene en fuerte contacto entre “un elemento de ventana (3) y un elemento de soporte (5)”. El diseño del dispositivo descrito en la Reivindicación 1 garantiza un confinamiento rígido del material de conversión del lado en que éste se coloca en contacto con la barrera biológica. Tal como se menciona en la presente solicitud de patente “la presencia de una interfaz rígida transforma el transitorio de esfuerzo consistente en una compresión seguida de una rarefacción en un impulso de compresión unidireccional”, contribuye a aumentar la eficiencia de la conversión luz-presión y “para generar transitorios acústicos intensos y mayoritariamente compresivos”. Además, este diseño garantiza “un acoplamiento acústico entre las tres

partes" (3), (4) y (5). El dispositivo descrito en el Documento D1 no incluye las partes (3) y (5) y, en consecuencia, no cumple con los requisitos para generar "un transitorio acústico de banda ancha y alto impulso" capaz de permeabilizar barreras biológicas.

Documento D2

El documento D2 se aleja completamente del dispositivo descrito en la Reivindicación 1 de la presente solicitud de patente. El documento D2 describe un dispositivo donde la luz pulsada de un láser alcanza un tejido fuera del dispositivo y la señal acústica se genera en tejidos biológicos. El objetivo del pulso del láser son tejidos que están fuera del dispositivo. Esto es absolutamente contrario al dispositivo descrito en la presente solicitud de patente, que incluye "una capa fina (4) de un material de conversión incluyendo al menos uno o más sistemas moleculares, en los cuales el sistema molecular absorba al menos parte de la energía generada por dicho pulso de láser (1) es absorbida y genera un transitorio acústico de banda ancha y alto impulso en dicho material de conversión". Así, el dispositivo descrito en la presente solicitud de patente es capaz de generar "un transitorio acústico de banda ancha y alto impulso en dicho material de conversión", lo que no sucede en el dispositivo del Documento 2. El dispositivo descrito en la presente solicitud de patente tiene características técnicas esenciales estructurales como una "capa fina (4) de un material de conversión", "un elemento de ventana (3)", "un elemento de soporte (5)" y un diseño que garantiza "un acoplamiento acústico entre las tres partes" (3), (4) y (5), que lo distinguen incuestionablemente del dispositivo descrito en el documento D2. Sólo el conjunto de las características técnicas estructurales del dispositivo descrito en la presente solicitud de patente permite resolver el problema técnico de la permeabilización de barreras biológicas.

Documento D3

El documento D3 se aleja completamente del dispositivo descrito en la Reivindicación 1 de la presente solicitud de patente. El documento D3 describe un endoscopio fotoacústico cuyo problema técnico a resolver se sitúa en el área del diagnóstico médico por imágenes. En ninguna parte de este documento se plantea el problema de la permeabilización de membranas biológicas o de la piel, o se refiere a la necesidad de obtener un “transitorio acústico de banda ancha y alto impulso” para poder permeabilizar membranas biológicas. De hecho, el problema técnico que el dispositivo descrito en el documento D3 busca resolver es el diagnóstico por imágenes fotoacústico o ultrasónico. Para resolver este problema el documento D3 describe un dispositivo con características técnicas estructurales totalmente diferentes de las que se describen en la Reivindicación 1 de la presente solicitud de patente.

Como puede verse en la Figura 1 del documento D3, así como en la descripción y su Reivindicación 1, el pulso de luz del láser es dirigido por un espejo hacia fuera del dispositivo, dado que el objetivo de la luz no se encuentra dentro del dispositivo. Así, la luz del láser sale del dispositivo para alcanzar el objetivo, donde genera la señal fotoacústica. El dispositivo descrito en la Reivindicación 1 que se ejemplifica en la Figura 5 de la presente solicitud de patente incluye “una capa fina (4) de un material de conversión incluyendo al menos uno o más sistemas moleculares, en los cuales el sistema molecular absorba al menos parte de la energía generada por dicho pulso de láser (1) absorbiéndola y generando un transitorio acústico de banda ancha y alto impulso en dicho material de conversión. Está perfectamente claro que el dispositivo descrito en la presente invención contiene “una capa fina (4) de un material” que es el objetivo del pulso de láser y que no se encuentra en el dispositivo descrito en el documento D3. Este material es indispensable para generar “un transitorio acústico de banda ancha y alto impulso en

dicho material de conversión” y sólo generando un transitorio acústico con estas características se hace posible resolver el problema técnico identificado en la presente solicitud de patente: “permeabilización temporal de una membrana biológica, incluyendo las capas externas de la piel, sin causar daños ni molestias”. No se puede confundir el objetivo del pulso del láser (4) que genera ondas acústicas, descrito en la presente solicitud de patente, con un detector de ondas acústicas descrito en el documento D3. Un detector de ondas acústicas se limita a adquirir una señal y no puede tener ningún efecto sobre barreras biológicas.

Como el dispositivo descrito en el documento D3 no incluye ningún material (4) para absorber la luz del pulso del láser y generar un transitorio acústico, tampoco incluye “un elemento estructural y/o de unión (6) colocado para mantener dicha capa fina (4) de un material de conversión y preferiblemente también un elemento de ventana (3) y un elemento de soporte (5) en contacto, garantizando de esta manera un acoplamiento acústico entre las tres partes”. Así, es evidente que el dispositivo descrito en la presente solicitud de patente tiene características técnicas estructurales como la “capa fina (4) de un material de conversión”, “un elemento de ventana (3)”, “un elemento de soporte (5)” y un diseño que garantiza “un acoplamiento acústico entre las tres partes” (3), (4) y (5), que lo distinguen incuestionablemente del dispositivo descrito en el documento D3. Sólo el conjunto de las características técnicas estructurales del dispositivo descrito en la presente solicitud de patente permite resolver el problema técnico de la permeabilización de barreras biológicas.

Novedad de las reivindicaciones 2-14

Demostrada la novedad de la Reivindicación 1 también se demuestra la novedad de las reivindicaciones que dependen de ésta. Sin embargo, para que no queden dudas sobre la novedad de todas las reivindicaciones, a

continuación se aclaran todas las cuestiones planteadas por el Examinador.

Reivindicación 2

De acuerdo con el Examinador "El dispositivo descrito en D1 menciona que la capa de conversión es generalmente metálica (...) y los metales se encuentran en forma de óxidos". Lo que realmente dice el documento D1 sobre la película conversora es: "The element consists of an opto-acoustic conversion layer applied on a portion of the optical fiber, and this conversion layer is generally metallic and consequently reflects a high percentage of the energy which reaches it, thus markedly reducing efficiency in transduction into ultrasound waves." O sea, lo que el documento D1 enseña es que las películas conversoras metálicas reflejan mucha luz y por lo tanto son malos conversores de luz en ultrasonido. Por otro lado, el documento D1 nunca menciona óxidos mesoscópicos nanocristalinos. Lo que la Reivindicación 2 revela es que la película conversora (4) puede ser "una película de óxido mesoscópico nanocristalino o partículas calcógenas con áreas de superficie internas elevadas". Un metal y un óxido son materiales completamente diferentes. Los metales reflejan luz porque tienen superficies semejantes a las de un plano con las mismas dimensiones. Por otro lado, los óxidos como el óxido de titanio (TiO₂) son semiconductores que absorben más fácilmente que lo que reflejan la luz, y cuando se encuentran en forma mesoscópica nanocristalina pueden tener superficies internas a las que pueden acceder sistemas moleculares que son 1000 veces superiores a las superficies planas. Esta enorme superficie interna es esencial para tener "un compuesto de referencia fotoacústica absorbido en las nanopartículas" y para que éste pueda absorber la luz del pulso del láser y generar "un transitorio acústico de banda ancha y alto impulso". A esta diferencia se agregan todas las demás que ya fueron enumeradas en el análisis de la Reivindicación 1.

Reivindicación 3

De acuerdo con el Examinador, el dispositivo descrito en el documento D3 "menciona que el elemento sensor ultrasónico puede estar compuesto por varios materiales como piezopolímero o piezocerámico" y se refiere métodos de detección acústica y óptica. Sin embargo, la Reivindicación 3, así como el conjunto de la presente solicitud de patente, nunca se refieren a materiales para la detección, ya sea acústica como óptica. De hecho, la Reivindicación 3 especifica que "dicha capa fina (4) de un material de conversión es una película de polímero incorporando al menos uno o más compuestos de referencia fotoacústica". Este compuesto tiene características técnicas perfectamente definidas en la presente solicitud de patente como "un compuesto que absorbe la energía radiactiva de un pulso de láser y rápidamente transforma dicha energía en calor por procesos no radiactivos, a la vez que vuelve a su estado fundamental electrónico y/o vibracional. Como es conocido en la materia, un compuesto de referencia de PAC produce una onda fotoacústica de la mayor intensidad posible mediante la absorción de un pulso de láser de una determinada energía y en una determinada configuración en ausencia de reacciones químicas en red, dentro de la duración del pulso de láser". Las características técnicas de materiales tales como "piezopolímero o piezocerámico" son totalmente diferentes de las características técnicas de "un compuesto de referencia fotoacústica" y estos tipos de materiales no pueden confundirse. A esta diferencia se agregan todas las demás que ya fueron enumeradas en el análisis de la Reivindicación 1.

Reivindicación 4

De acuerdo con el Examinador, "El dispositivo descrito en D1 menciona que la capa de conversión es generalmente metálica". No se comprende este comentario puesto que la Reivindicación 4 de la presente solicitud de patente especifica que "dicha capa fina (4) de un material de conversión es una capa de una solución" y una solución no es metálica. Además,

también se aplican aquí los argumentos presentados anteriormente para la Reivindicación 2 donde se demostró que una capa metálica es un mal conversor de pulsos de luz en pulsos de presión. A esta diferencia se agregan todas las demás que ya fueron enumeradas en el análisis de la Reivindicación 1.

Reivindicación 6

De acuerdo con el examinador, el documento D1 menciona "thickness of the transducing layer is between 0.5 micron and 20 micron, and preferably between 1 micron and 10 micron." Sin embargo, la Reivindicación 6 menciona un material de conversión "entre 0,1 y 20 μm , y el dispositivo se compone de un elemento ventana (3) dispuesto entre dicha capa fina (4) de un material de conversión y dicha fuente de láser pulsado (2), en la cual dicho elemento ventana (3) es sustancialmente rígido y sustancialmente transparente a dicho pulso de láser (1) y tiene una impedancia acústica que es elevada con respecto a la de la capa fina (4) de un material de conversión y restringe la expansión o proyección de dicho transitorio acústico en su lado de dicha capa fina (4) de un material de conversión". Así, las características técnicas estructurales del dispositivo descrito en la Reivindicación 6 no se limitan al espesor del material de conversión. Además de esta característica técnica, la Reivindicación 6 enseña que ese material de conversión debe confinarse por una ventana rígida con una impedancia acústica más elevada que el material de conversión para proyectar la onda de presión hacia el lado opuesto del láser pulsado, o sea, en la dirección de la barrera biológica. Estas características técnicas estructurales del dispositivo no se encuentran descritas en el documento D1. A estas diferencias se agregan todas las demás que ya fueron enumeradas en el análisis de la Reivindicación 1.

Reivindicación 10

De acuerdo con el Examinador, el documento D3 menciona que “La luz emitida desde la salida de la unidad de iluminación 103 se refleja desde la superficie del espejo de exploración 115 y se transmite a la superficie del tejido 114 en el punto de objetivo”. Esto es precisamente lo contrario a lo que se pretende en la Reivindicación 10 de la presente solicitud de patente. De acuerdo con la Reivindicación 10, se “evita una irradiación directa de láser, protege dicha barrera biológica objetivo (B) de la irradiación directa del láser”. O sea, mientras que la presencia de un espejo en el dispositivo descrito en el documento D3 se destina a dirigir la luz del láser hacia el tejido biológico que es su objetivo, el elemento de soporte (5) descrito en la Reivindicación 10 “es preferiblemente reflectante para reflejar la mayor parte del pulso de láser (1) que no es absorbido por dicha capa fina (1) volviendo a atravesar dicha capa fina (4) y dicho elemento ventana (3) y así proporcionar un segundo paso del pulso de láser (1) por el dispositivo”. Así, en la Reivindicación de la presente solicitud de patente el espejo tiene una orientación perpendicular con relación al pulso de luz del láser para poder orientar el paso de la luz reflejada en sentido contrario, lo que lo distingue del espejo del dispositivo descrito en el documento D3. A esta diferencia se agregan todas las demás que ya fueron enumeradas en el análisis de la Reivindicación 1.

Reivindicación 13

De acuerdo con el Examinador, el documento D1 menciona la presencia de una fibra óptica entre el láser y el transductor. La Reivindicación 1 de la presente solicitud de patente describe un dispositivo en que “una capa fina (4) de un material de conversión” se mantiene en fuerte contacto entre “un elemento de ventana (3) y un elemento de soporte (5)”. El dispositivo descrito en el Documento D1 no incluye las partes (3) y (5). La Reivindicación 13 de la presente solicitud de patente especifica la

inclusión de “una fibra óptica con el extremo proximal acoplado a la fuente de láser pulsado (2) y el extremo distal dirigido a dicho elemento ventana (3)”. Como ya se refirió, este “elemento ventana (3)” no existe en el dispositivo descrito en el documento D1, por lo cual también esta característica técnica esencial hace que el dispositivo descrito en la Reivindicación 13 sea diferente del estado de la técnica descrita en el Documento D1. A esta diferencia se agregan todas las demás que ya fueron enumeradas en el análisis de la Reivindicación 1.

Reivindicación 14

De acuerdo con el Examinador, el documento D2 “comprende un medio de control automático, que dirige una serie de pulsos de energía láser hacia un objetivo”. Sin embargo, el documento D2 define el control de la siguiente manera: “control means connected to the sound detection means and associated with the laser for preventing the laser from firing another pulse of laser energy if the signal, representative of the “loudness” of the sound caused by a pulse of laser energy striking tissue, is below a predetermined value”. La Reivindicación 14 de la presente solicitud de patente especifica la inclusión de un control para dirigir “pulsos de láser (1) sucesivos a distintas partes más pequeñas de la capa fina (4) que absorbe al menos parte del pulso de láser (1), de modo que una secuencia de pulsos de láser es absorbida en dichas partes (distintas) pero finalmente una parte sustancial de la capa fina (4) es irradiada.” El control del dispositivo D2 se destina a monitorear el volumen del sonido resultante de la ablación de tejido y a apagar el láser cuando ese volumen alcanza un determinado valor. Sin embargo, el dispositivo descrito en la presente solicitud de patente no monitorea el sonido, no se destina a la ablación de tejidos y no se apaga para determinados valores de sonido. El control descrito en la Reivindicación 14 se destina a dirigir el pulso del láser a determinados sectores de la película fina (4), que no existe en el dispositivo descrito en el documento D2. A esta diferencia se agregan

todas las demás que ya fueron enumeradas en el análisis de la Reivindicación 1.

En virtud entonces, de la nueva documentación, enmendada de acuerdo con las indicaciones del Examinador, y de los argumentos aquí vertidos, se le solicita al Examinador la reconsideración de sus objeciones y la subsecuente concesión del derecho aquí solicitado.

Anexos

1. Adjunto a la presente contestación, el texto de la solicitud de patente con el título, la descripción y las reivindicaciones ajustados de acuerdo con las recomendaciones del Examinador.

Notificaciones

Recibiré notificaciones en la secretaría de su Despacho; en mis oficinas de abogado ubicadas en la Calle 67 No. 7 – 35, oficina 1204, teléfono 3192900, fax 3210295, Bogotá D.C., Colombia, o; al correo electrónico dbotero@gpzlegal.com.

Atentamente,



MAURICIO JARAMILLO C.

C.C. 80.421.942 de Bogotá

T.P. 74.555 del C.S. de la J.

dbd Adjunto: Lo anunciado

**"DISPOSITIVO PARA LA CONVERSIÓN DE LA ENERGÍA DE UN PULSO
LÁSER EMITIDA POR UNA FUENTE DE LÁSER PULSADO EN UN
TRANSITORIO ACÚSTICO DE BANDA ANCHA Y ALTO IMPULSO, PARA LA
ADMINISTRACIÓN EFICAZ DE COMPUESTOS PARA O A TRAVÉS DE LA
PIEL O LAS BARRERAS BIOLÓGICAS"**

Antecedentes de la Invención

La presente invención hace referencia a un dispositivo capaz de convertir de forma rápida y eficiente la energía de un pulso de láser en una onda de presión de alto impulso y también a sus aplicaciones en la permeabilización temporal de una membrana biológica, incluyendo las capas externas de la piel, sin causar daños ni molestias. La invención se describe en términos de principios físicos de generación eficaz de ondas de presión por láser, de las propiedades de los materiales de absorción que maximizan la amplitud de la onda de presión y minimizan su tiempo de subida, y de la administración práctica de fármacos o compuestos activos biológicamente para la piel u otras barreras biológicas o a través de las mismas. Se proporcionan ejemplos que ilustran el uso del dispositivo y sus aplicaciones. Las características distintivas del dispositivo son el uso de películas finas (grosor $< 200 \mu\text{m}$) que absorben enormemente la luz de los láseres pulsados y el uso de láseres pulsados asequibles, como los láseres con bajas energías (energía del láser $< 500 \text{ mJ}$), con los que dicho dispositivo es capaz de generar unos transitorios acústicos de alto impulso con tiempos de subida cortos (tiempo de subida $< 50 \text{ ns}$) de bajas densidades de potencia óptica ($< 40 \text{ MW/cm}^2$ por pulso).

La piel es una protección muy eficaz contra la entrada de materias extrañas, como sustancias químicas y microbios. La capa más externa de la piel, llamada *stratum corneum* (SC), tiene un grosor de entre sólo 10 y 20 μm pero aun así, es la principal responsable de la impermeabilidad de la piel. Está hecha de una docena de capas celulares de corneocitos sin estructura vital escasamente cohesionados, dentro de una mezcla

de lípidos con una organización altamente espacial. La mayoría de las moléculas penetran en la piel por difusión a través de los lípidos intercelulares, un camino tortuoso entorno a los corneocitos que se encuentra muy condicionado por sus exigencias estructurales y de solubilidad. Bajo la capa SC existe la epidermis viable, la cual tiene un grosor entre 50-100µm y es vascular. Más abajo se encuentra la dermis, con un grosor entre 1 y 2 mm y rica en capilares, capaz de eliminar la mayoría de los penetrantes en minutos[1].

La idea de administrar fármacos a través de la piel tiene siglos de antigüedad. Los intentos por alcanzar esta meta pueden clasificarse en dos grupos: administración pasiva y administración activa de fármacos. La primera clase hace referencia a las formulaciones de vehículos optimizados para aumentar la difusión de un fármaco específico a través de la piel, incluyendo ungüentos, cremas o geles, que podían incluir potenciadores químicos de impregnación. De hecho, una amplia variedad de sustancias químicas poseen la habilidad de aumentar la permeabilidad de la piel, como el dimetilsulfóxido, laurocapramo (de Azone®), 2-n-nonil-1,3-dioxolano (SEPA), ácidos grasos y ésteres de ácidos grasos, surfactantes, y otras sustancias bien conocidas en esta materia[3]. Sin embargo, el aumento de la impregnación, incluso de pequeñas moléculas, generalmente viene acompañado de una mayor irritación de la piel[4]. Los métodos pasivos son sólo eficaces para la administración transdérmica de pequeñas moléculas (peso molecular < 500 Da) con un grado de lipofilia adecuado (coeficientes de reparto n-octanol-agua K_{OW} , en el rango $1 < (\log K_{OW}) < 3$) y con menos de 3 grupos de enlace de hidrógeno. Además, la formulación del vehículo es específica para cada fármaco. Los métodos de administración de fármacos activos emplean métodos físicos como técnicas con electricidad (iontoforesis, electroporación), procesos mecánicos (microagujas, abrasión, ablación, perforación, microproyecciones) o ultrasonidos (sonoforesis). Otro método activo de administración de fármacos consiste en la generación de ondas fotomecánicas mediante la irradiación de láser pulsado a un objetivo determinado[5]. Las ondas de esfuerzo mediante ruptura óptica, ablación o expansión termoelástica han mostrado

que permeabilizan de forma temporal la SC y facilitan el transporte de macromoléculas en la epidermis viable[6].

Las aplicaciones técnicas de las ondas de esfuerzo en la administración de compuestos mediante la capa epitelial celular se han descrito. Por ejemplo, Kollias et al [7] describieron en US 6,251,099 B1 la administración de un compuesto usando transitorios de impulso generados por láseres con fluencias entre 1 y 7 J/cm² y anchos de pulso entre 20 y 30 ns, lo que corresponde a unas densidades de potencia óptica entre 40 y 300 mW/cm². Estos pulsos intensos pero cortos de láser se dirigieron a objetivos con un grosor entre 0,8 mm (para metales) y 3 mm (para plásticos). En dichas densidades de potencia óptica, el mecanismo dominante de interacción entre el pulso de láser y el objetivo es la ablación del material del objetivo y también va acompañado normalmente por la formación de plasma. Esto produce la expulsión del material de la superficie del objetivo alcanzado por el pulso del láser y el impulso de retroceso asociado se propaga en la mayor parte del objetivo para alcanzar la superficie opuesta del mismo como onda acústica. La habilidad de esta onda acústica para aumentar transitoriamente la permeabilidad de la piel se ha relacionado con su impulso. La administración intradérmica de grandes compuestos sin dañar la piel requiere impulsos entre 2 y 5 x 10⁶ Pa/ns (2 y 50 bar/ns) [5]. La generación de ondas de presión con estos impulsos tan altos en una zona válida de un objetivo requiere láseres con densidades altas de potencia que son complejos y costosos, y por ello se han buscado otras alternativas[8].

También han sido descritos aparatos para aumentar la administración de fármacos usando densidades ópticas por debajo de 10 mJ/cm². Por ejemplo, Visuri et al [9] describieron en US 6,484,052 B1 cómo tales densidades bajas de potencia en frecuencias entre 100 Hz y 1 MHz pueden acoplarse a una fibra óptica e insertarse en una sección del cuerpo humano para generar un campo de radiación acústica en dicha sección. También describieron el acoplamiento de un transductor mecánico potenciado ópticamente al extremo distal de dicha fibra, pero falló en especificar las características de dicho transductor. A menos que el transductor posea unas características

materiales, fotoquímicas y físicas muy específicas, no podrá producir una onda de presión capaz de permeabilizar transitoriamente las barreras biológicas. El uso de altas frecuencias de pulsos de láser, más que un único o una pequeña cantidad de pulsos de láser, no cambia las propiedades de las ondas de presión. Por tanto, no se ha presentado aún un transductor mecánico potenciado ópticamente capaz de producir ondas acústicas que puedan permeabilizar las barreras biológicas.

En otro campo, el de caracterización espectral de tejidos biológicos, Biagi et al describieron en US 6,519,376 B2 un generador opto-acústico para generar ondas acústicas o ultrasonidos a partir de una fuente de energía con láser pulsado. Se presentó que la absorción de un pulso de láser por una capa con contenido de grafito depositado en la punta de una fibra óptica conectada a la fuente de láser produce eficazmente pulsos acústicos de banda muy ancha. También pueden producirse películas de grafito puras con grosores por debajo del micrómetro y aun así que tengan suficiente resistencia mecánica para ser manipuladas en piezas de 2,5 cm de diámetro[11]. Además, con un grosor de 50 nm, la absorción aparente de estas películas se acerca a la unidad a 400 nm. Las películas de grafito independientes con estados de excitación de vida corta [12] pueden prepararse mediante pirólisis de poliacrilonitrilo. Sin embargo, los pulsos acústicos generados por este método con capas que contienen grafito nunca se tuvieron en cuenta para la administración de fármacos ya que el campo de caracterización de tejidos emplea pulsos de láser [13] en microjulios y esto es insuficiente para la administración de fármacos con efectos terapéuticos. En realidad, no son deseables los efectos terapéuticos en la caracterización espectral, o en el diagnóstico, de tejidos biológicos.

La plétora de sistemas de administración transdérmica no oculta el hecho de que son una alternativa secundaria a la administración por vía oral o las inyecciones hipodérmicas. Un método de administración transdérmica sencillo y económico, capaz de administrar una amplia variedad de fármacos a través de la piel sin causar dolor ni molestias, y permitiendo que la

piel recupere su función protectora en pocos minutos tras la aplicación otorgaría a la administración transdérmica el mismo estatus en la práctica médica que la administración oral o las inyecciones hipodérmicas.

Descripción de la Invención

La presente invención muestra un dispositivo para administrar moléculas, macromoléculas e incluso materias biológicas mayores a través de las barreras biológicas, inclusive la piel, tejidos suaves o membranas celulares, que cumplen con las características ideales mencionadas anteriormente para la administración biológica. El método para administrar fármacos y compuestos biológicamente activos con este dispositivo se basa en la producción rápida y eficaz de transitorios acústicos de alto impulso, alta frecuencia y banda ancha mediante la absorción de luz de un pulso corto de láser por una película fina, y su acoplamiento acústico eficaz a la barrera biológica, incluyendo la piel o la mucosa. A continuación, emplearemos "película fina" para describir una capa de material con un grosor inferior a 200 μm y superior a una capa molecular (normalmente mayor de 1 nm), depositada en un material más grueso y más rígido (alta impedancia acústica). La presente invención tiene como objeto principal describir las propiedades moleculares de la película fina que contribuye a la generación rápida y eficaz de una onda de presión, incluyendo el requerimiento de que esta película contenga cromóforos que absorban la mayoría de la luz del láser incidente y el requisito de que estos cromóforos liberen la energía absorbida mediante procesos no radioactivos con un tiempo de vida comparable o menor a la del ancho del pulso de láser. La eficiencia del método está demostrada gracias a la administración de grandes moléculas y proteínas en la piel y la transfección de genes en las células vivas con densidades de potencia óptica de 10 MW/cm^2 por pulso, o densidades inferiores.

A. Definiciones

Para el propósito de este modo, se aplicarán las siguientes definiciones:

"Fluencia del Láser" es la energía del láser por unidad de superficie en el material de trabajo, expresada en unidades de J/cm^2 .

"Duración del pulso de láser" τ_L es el ancho total en el nivel $1/e$ del pulso de láser[14], expresada convenientemente en unidades de nanosegundos, ns.

"Densidad de potencia óptica" es la densidad de potencia de un haz de láser, donde la densidad de potencia es la potencia del láser por unidad de superficie de irradiación, expresada en W/cm^2 o más convenientemente en mW/cm^2 .

"Ablación" es la eliminación de material por una luz incidente. En los polímeros, esta eliminación puede efectuarse mediante cambios fotoquímicos que incluyen una disolución química del polímero.

"Transitorio acústico" se emplea para describir tanto las ondas de choque hipersónicas como las ondas acústicas sónicas[15].

"Impulso de un transitorio acústico" se define como la tasa de aumento de presión por unidad de tiempo, expresado en unidades de Pa/S (bar/s) o más convenientemente en Pa/ns (bar/ns).

"Tiempo de subida de un transitorio acústico" se define como el tiempo comprendido del 10% a 90% de la presión pico[5].

"Banda ancha" es una banda de frecuencia amplia que cubre un espectro de frecuencia continuo y cuando se usa para calificar una onda de presión designa una emisión acústica con componentes significativos de frecuencia de decenas de MHz.

"Compuesto de referencia fotoacústica" es un compuesto que absorbe la energía radioactiva de un pulso de láser y rápidamente transforma dicha energía en calor por procesos no radiactivos, a la vez que vuelve a su estado fundamental electrónico y/o vibracional. Como es conocido en la materia, un compuesto de referencia de PAC produce una onda fotoacústica de la mayor intensidad posible mediante la absorción de un pulso de láser de una determinada energía y en una determinada

configuración en ausencia de reacciones químicas en red, dentro de la duración del pulso de láser[16, 17].

“Profundidad de penetración óptica” δ es la profundidad en la cual la intensidad de la radiación dentro del material cae hasta $1/e$, expresada convenientemente en cm.

“Coeficiente de absorción decádica lineal” μ_a , o coeficiente de absorción lineal, es la absorbancia dividida por la longitud del camino óptico a través de la muestra, y se expresa en cm^{-1} .

B. Principios Físicos

Existen varios métodos descritos en la bibliografía en la que una onda de presión se produce como resultado de la interacción de un pulso de láser corto con un determinado material[18]. Los tres mecanismos de interacción más importantes son la ruptura dieléctrica, vaporización o ablación de material y los procesos termoelásticos. Son necesarias fluencias elevadas de láser para producir la ruptura óptica con la consiguiente formación de plasma y la posterior producción de una onda intensa de choque. Las fluencias de láser intermedias interactúan con los líquidos absorbentes o con líquidos transparentes próximos a una interfaz sólida absorbente para producir una expansión térmica rápida y una vaporización explosiva o, en algunos materiales, ablación. Las fluencias de láser inferiores en materiales absorbentes producen la expansión termoelástica de los materiales. La formación de plasma debido a la ruptura dieléctrica conduce a ondas de alta presión, pero las altas energías requeridas y su naturaleza destructiva no son prácticas para la permeabilización transitoria de la piel. La onda de presión generada por vaporización explosiva o ablación del material puede tener la forma de una onda de choque, como en la formación de plasma, ya que la expulsión del material de la superficie por el pulso del láser produce un impulso de retroceso. La onda de choque se propaga en la mayor parte del material y alcanza la superficie opuesta como una onda acústica, ya que la onda de choque se disipa rápidamente y continúa como una onda acústica que luego decrece más lentamente con la longitud de

propagación[19]. La extensión espacial de las ondas de choque se limita a décimas de milímetros[15, 19]. Por otro lado, la expansión termoelástica transitoria genera una onda acústica. Las ondas acústicas resultantes de la ablación o la expansión termoelástica se han llamado "transitorios de impulso" y empleado en la permeabilización transitoria de las capas celulares epiteliales[7].

La generación de ondas fotoacústicas por expansión termoelástica de un medio absorbente confinado puede lograrse en fluencias bajas de láser (por debajo del umbral de ablación que depende del material pero generalmente es superior a 50 mJ/cm²), puede ocurrir dentro de la duración del pulso de láser (τ_L) y no resulta destructivo. Se cree que la expansión termoelástica es un método ineficaz para producir una onda de presión de un pulso de láser[20, 21], y se asume que la típica eficiencia de sub-0,1% del mecanismo de expansión termoelástica no resulta competitiva respecto a la eficacia de 30% que puede obtenerse por ablación y mecanismos de formación de plasma [22]. Esta creencia motivó la utilización de fluencias de láser superiores al umbral de ablación para generar transitorios de impulso capaces de permeabilizar transitoriamente la capa *stratum corneum*.

Sin embargo, la amplitud de presión máxima $p_{\max}$ que puede generarse a través de la expansión termoelástica tras la absorción de un pulso de láser por un material confinado por una interfaz rígida es[18]

$$p_{\max} = \frac{c_s \alpha}{C_p} I_0 \quad (1)$$

donde α es el coeficiente de expansión térmica, C_p la capacidad de calor específico a presión constante, c_s la velocidad de sonido del medio e I_0 la densidad de potencia óptica pico. Por ejemplo, un objetivo en poliestireno confinado ($c_s=2320$ m/s, $C_p=2$ J/(g K) y $\alpha=7 \times 10^{-5}$ K⁻¹) que absorbe un pulso de láser de 5 ns con 50 mJ en 1 cm² ($I_0=10$ MW/cm²) debería ser capaz de producir una presión máxima de 80 bares. Se trata de un orden de magnitud inferior a la presión pico habitual para la administración de fármacos transdérmica con una onda de presión[5], pero si el tiempo de subida de la onda fotoacústica acompaña la amplitud del pulso de láser ($\tau_L=5$ ns), su impulso

máximo alcanzará $1,5 \times 10^6$ Pa/ns (15 bar/ns). Este impulso es más que suficiente para permeabilizar la *stratum corneum*. Por tanto, la conversión eficaz de la energía de un pulso de láser en una expansión termoelástica haciendo uso de transiciones rápidas no radiactivas desde el estado de excitación existente inicialmente al estado fundamental del cromóforo confinado rígidamente en una región estrecha, como en la técnica de la calorimetría fotoacústica (PAC) [17, 23], debería ser capaz de producir una onda acústica con un impulso capaz de permeabilizar la capa *stratum corneum*.

La amplitud de una onda fotoacústica producida en una célula de PAC de cara frontal ópticamente fina es dada por [23]

$$\Delta P = \frac{1}{Ah} \frac{\alpha}{C_p \rho \beta} H_{th} \quad (2)$$

donde A es el área irradiada, h el grosor de la célula de PAC y H_{th} la cantidad de energía térmica liberada. α , la compresibilidad isotérmica (β), C_p y la densidad (ρ) hacen referencia al medio de absorción en el interior de la célula. Las propiedades termoelásticas de un medio sólido de absorción son especificadas convenientemente por el coeficiente adimensional de Grüneisen

$$\Gamma = \frac{\alpha}{C_p \rho \beta} = \frac{\alpha \alpha_s^2}{C_p} \quad (3)$$

donde C_p es la capacidad de calor específico de la muestra. La física para muestras ópticamente finas también se aplica a casos donde la absorbancia de la muestra es aprox. 1, si la interfaz inferior es totalmente reflectante y la luz atraviesa dos veces el medio de absorción. También se observó la dependencia entre la amplitud de la onda fotoacústica y el grosor del material de absorción de luz cuando se emplearon películas muy absorbentes como objetivos del pulso de láser [13]. Se comprobó que aumenta la presión máxima producida por el proceso termoelástico ya que el grosor de la película de absorción se reduce y dicha propiedad se utiliza en el diseño de generadores fotoacústicos de ondas de ultrasonidos más eficientes [10].

Se ha omitido la importancia del grosor del material de absorción en las aplicaciones anteriores de los pulsos de

láser para producir transitorios de impulsos que permeabilizan la piel. Orientar la elección de los materiales por su opacidad y rigidez, condiciones necesarias pero no suficientes para un rendimiento óptimo del dispositivo, conduce a una elección imprecisa de objetivos de metal superiores a 1 mm como materiales de absorción[7]. La Figura 1 compara los transitorios acústicos producidos cuando la intensidad de un mismo pulso de láser es absorbida por la superficie de 1 cm² de un plástico negro de 1 mm de grosor o por películas de un grosor entre 10 y 30 micrómetros con alta absorción en la longitud de onda de excitación, ambas confinadas en una cubierta de cristal y absorbiendo más del 80% de la luz del láser. Con la disminución del grosor del objetivo, la amplitud de las ondas de presión aumenta como se observa en la Figura 2. Este hecho cambia el paradigma de la generación de impulsos transitorios de alta presión de los láseres pulsados, ya que es posible reducir drásticamente la energía de la fuente de láser pulsado optimizando el dispositivo que convierte la energía de los pulsos de láser en una onda fotoacústica.

Maximizar la eficacia de la conversión de la energía del láser en un transitorio acústico mediante procesos termoelásticos requiere la elección de materiales que conviertan la energía del pulso de láser en calor con la duración del pulso de láser, películas finas (bajo h) con absorbancias mayores que la unidad, y materiales con grandes coeficientes de Grüneisen. Por lo tanto, un dispositivo diseñado para una conversión rápida y eficaz de la energía de un pulso de láser en una onda fotoacústica debe incorporar en una capa muy fina un compuesto que absorba mucho la luz en la longitud de onda del pulso de láser y que convierta en calor toda la energía absorbida durante ese pulso de láser. Los compuestos con referencia de PAC cumplen dichas propiedades. La intensidad de la onda fotoacústica puede aumentarse si los cambios de volumen estructurales ultrarrápidos acompañan un decaimiento no radiactivo que ocurre durante el pulso de láser.

En modos anteriores de transitorios de impulso de alta presión en la administración transdérmica de compuestos no se ha apreciado que las propiedades de los materiales de absorción

sean decisivas para determinar la forma y amplitud de la presión transitoria. La Figura 3 muestra simulaciones para un transitorio con varios tiempos de decaimiento y para dos transitorios con diferentes tiempos de decaimiento y fracciones de energía de láser liberada. Cuando se mide con un transductor de 2,25MHz, la amplitud de los transitorios acústicos disminuye en un factor de 2 cuando el tiempo de vida del estado electrónico del transitorio aumenta de 10 a 100 ns, incluso cuando toda la energía del láser se convierte en calor. El tiempo de subida de un transitorio acústico también varía a tiempos mayores, como cabe esperar. Cuando se encuentran dos transitorios y uno de ellos tiene un tiempo de vida mayor que el pulso de láser, el resultado es siempre un transitorio acústico menor que el que se obtendría con un compuesto de referencia de PAC, a menos que los productos tengan un volumen mayor que los reactivos o la entalpía estándar de los productos sea menor que la de los reactivos y la reacción sea exotérmica.

Las reacciones exotérmicas pueden producir más calor, y de hecho también transitorios acústicos más intensos, que los compuestos de referencia de PAC. La amplitud de tales transitorios acústicos aumenta más si las reacciones exotérmicas van acompañadas por un aumento en el volumen estructural debido a la fragmentación de los materiales, como es habitual en el caso de la ablación inducida por láser. Sin embargo, el impulso de estos transitorios acústicos sólo aumentará si el tiempo de subida del transitorio acústico es corto. Los transitorios de esfuerzo generados por expansión termoelástica en fluencias de láser de sub-ablación continúan τ_L cuando se utilizan materiales con referencia de PAC como cromóforos ya que por definición sus tiempos de vida son inferiores a τ_L , y tienen una firma bipolar con componentes de tensión o compresión. Se sabe que cuando la fluencia del láser excede el límite de ablación, se observa una onda comprimible adicional en tiempos posteriores debido al retroceso ablativo[25]. El tiempo de subida del retroceso ablativo disminuye ya que la fluencia del láser aumenta y no depende de τ_L [25, 26]. El mecanismo de producción de presión por ablación de láser involucra el crecimiento de la burbuja, que tiene un

tiempo de crecimiento de aprox. 100 ns y coloca un límite inferior para las amplitudes de pulso de presión [20]. Para las fluencias de láser superiores al umbral de ablación, las altas intensidades de transitorios acústicos compensan sus tiempos de subida relativamente largos, y pueden crearse grandes transitorios de impulso. Aunque resulte bien conocido en esta materia [5], no cumple con la necesidad de una fuente de láser sencilla y asequible para la administración transdérmica activa de una amplia variedad de compuestos, o transfección de plásmidos a través de membranas celulares. Las películas finas de materiales con umbrales bajos de ablación con láser pulsado en nanosegundos, preferiblemente inferiores a 50 mJ/cm², pueden superar dichas limitaciones. Se han informado de umbrales de ablación con láser pulsado por debajo de 50 mJ/cm² para algunas películas de polímeros con coeficientes altos de absorción lineal en la longitud de onda de excitación[27, 28].

Los coeficientes de absorción lineal muy altos también son importantes porque la banda espectral del transitorio fotoacústico se determina por la banda espectral del pulso de láser cuando

$$\mu_a c_s t_L \ll 1 \quad (4)$$

donde t_L es la duración del pulso de láser. Así, el perfil del transitorio acústico seguirá el de un pulso de láser de $t_L=10$ ns en un polímero común ($c_s=2500$ m/s) cuando $\mu_a \gg 400$ cm⁻¹. Al incorporar cantidades suficientes de compuestos de referencia de PAC en materiales de apoyo adecuados de tal forma que la profundidad de penetración óptica ($\delta=1/(2,3\mu_a)$) sea inferior a 10 μ m, la duración del pulso de láser en nanosegundos y su potencia pico determinan el ancho de banda y la intensidad del transitorio acústico. La amplitud de los transitorios acústicos disminuye cuando t_L es significativamente mayor que la del ratio de la profundidad de penetración óptica a la velocidad de las ondas longitudinales, y la disminución de la amplitud del transitorio acústico con el aumento de t_L es más acentuada a frecuencias altas[29]. La conversión rápida y eficaz de la energía del pulso de láser genera unos transitorios acústicos de banda muy ancha, con anchos de banda en decenas o centenas de MHz, según la amplitud del pulso de láser. Para los pulsos

de láser suficientemente cortos, la frecuencia central de ultrasonido generado se desplaza a frecuencias mayores cuando disminuye la profundidad de penetración óptica del material de absorción. Por ejemplo, para una excitación de láser Nd:YAG a 1064 nm, los materiales basados en grafito poseen unas profundidades de penetración óptica de 10 a 50 micrometros, mientras que la profundidad de penetración óptica para el aluminio es de 10 nm, lo cual desplaza la frecuencia central del ultrasonido generado de 2,1 a 12 MHz[30]. Las transformadas rápidas de Fourier de los transitorios acústicos revelan esta propiedad, como se muestra en la Figura 4. Este experimento empleó un transductor de 225 MHz ya que los componentes de alta frecuencia del ancho de banda se miden mejor con transductores de alta frecuencia.

Para la permeabilización transitoria de la piel y la mucosa es aconsejable que la banda ancha del transitorio acústico se extienda a frecuencias altas (frecuencias superiores a 20 MHz) ya que con frecuencias más altas el umbral de cavitación se desplaza hacia energías más elevadas, aunque las frecuencias altas son mucho más absorbidas por los tejidos biológicos. Las burbujas de cavitación transitoria deberían evitarse ya que pueden causar daños a los tejidos biológicos al expandirse a tamaños milimétricos para luego colapsarse. La probabilidad de que la exposición a transitorios acústicos produzca cavitación inercial (o transitoria) se mide por el índice mecánico (MI)

$$MI = \frac{p_{rmax}}{\sqrt{f}} \quad (5)$$

donde p_{rmax} es la presión rarefaccional (de tracción) pico y f es la frecuencia central(nominal) de los transitorios acústicos. Un valor más elevado de MI indica una mayor probabilidad de cavitación y por tanto la ecuación anterior significa que la amplitud de presión mínima que satisface el umbral de cavitación aumenta con la frecuencia ultrasónica[31, 32]. Por otro lado, la atenuación de una frecuencia acústica de 10 MHz en una columna de agua de 3 cm es de apenas un 7%, pero aumenta hasta el 85% con un componente de presión de 50 MHz[20]. Frecuencias muy elevadas están presentes en los

transitorios acústicos cuando los pulsos de láser cortos ($\tau_L < 20$ ns) son absorbidos por las referencias de PAC confinadas en capas muy finas (con un grosor inferior a 10 micrómetros). Las referencias de PAC deben tener un coeficiente de absorción muy elevado en la longitud de onda del pulso de luz para absorber la mayoría del pulso de láser dentro del grosor de la película donde son incorporadas. En vista de la atenuación acústica mencionada anteriormente, es aconsejable que la fuente de la onda de PAC se encuentre cerca de la piel.

El diseño de dispositivo con capas de absorción muy pequeñas confinadas en soportes finos debe también estudiar los límites para los que puede considerarse la generación de una onda acústica plana. El criterio es seleccionar un radio de haz de láser r que cumpla la condición

$$r \gg \sqrt{2c_s t_L z} \quad (6)$$

donde c_s es la velocidad del sonido en la muestra, τ_L es la amplitud del pulso de láser y z es la distancia entre la superficie de la capa de absorción y el detector. Un soporte estructural con $z = 1$ mm, con valores de $c_s = 2500$ m/s y $\tau_L = 10$ ns, requiere $r \gg 0,2$ mm. Por tanto, es posible focalizar un haz de láser a un radio de 1 mm y aun así producir una onda acústica plana. La ventaja notable de un dispositivo con esta configuración es que una densidad de energía de 10 mJ/cm² por pulso sobre un área de 0,03 cm² corresponde a un pulso de láser de 0,3 mJ. Energías de esta magnitud para duraciones de pulsos de unos pocos nanosegundos están fácilmente disponibles en láseres de fibra pulsados, láseres cristalinos bombeados por diodos y otros láseres de estado sólido, que también alcanzan frecuencias de cientos de kHz. Dichos láseres son portátiles, compactos, duraderos, asequibles, fáciles de manejar y no requieren mantenimiento.

El diseño de conversores fotoacústicos eficaces de energía de pulsos de láser debe considerar también que la generación de la onda de presión en presencia de una interfaz rígida conduce a una presión más elevada que en el caso de una interfaz libre [18]. Se observó que la restricción acústica del conversor fotoacústico por placas de cuarzo aumenta la amplitud de ondas fotoacústicas de 20-MHz en un factor de casi 100 [33].

Además, en el caso del transitorio acústico generado por expansión termoelástica, la presencia de una interfaz rígida transforma el transitorio de esfuerzo consistente en una compresión seguida de una rarefacción en un impulso de compresión unidireccional[34]. La conversión eficaz de la energía de pulso de láser hace posible usar las fluencias de láser por debajo de 100 mJ/cm² para generar transitorios acústicos intensos y mayoritariamente compresivos.

La optimización de las propiedades termoelásticas de un material de soporte también contribuye a aumentar la amplitud de los transitorios acústicos generados por la expansión termoelástica de una película fina confinada incorporando un material de referencia de PAC. Los líquidos orgánicos poseen propiedades termoelásticas que pueden ser descritas por coeficientes elevados de Grüneisen, y forman excelentes interfaces acústicas con superficies sólidas. El confinamiento de una película fina entre una ventana y una capa fina de un líquido orgánico con Γ elevado contribuye enormemente a aumentar la eficacia de la conversión de la energía del pulso de láser en una onda fotoacústica. Líquidos tan diversos como tetracloruro de carbono, bromobenceno, acetona o acetonitrilo tienen propiedades termoelásticas que conducen a ondas fotoacústicas de alta amplitud.[23] Elastómeros como la goma, el neopreno, el viton o poliuretano son conocidos por tener grandes coeficientes de expansión térmica y a veces se compensa con otras propiedades.

Es bien conocido en la materia que cuando una onda acústica viaja en un medio (medio 1) y encuentra una interfaz de un segundo medio (medio 2), se generan ondas de reflejo y transmisión (o refracción). El coeficiente de transmisión es dado por

$$T = \frac{A_2}{A_1} = \frac{2\sqrt{Z_1 Z_2}}{Z_1 + Z_2} \quad (7)$$

donde A_2 y A_1 son la amplitud inicial en medio 1 y la amplitud final en medio 2, y Z_1 y Z_2 son las obstrucciones acústicas en los dos medios. Una transmisión completa entre los dos medios requiere $Z_1 = Z_2$. La presión de vacíos en el dispositivo es la causa más importante de ineficacia. Los vacíos frecuentemente

se llenan con aire y su impedancia acústica es totalmente diferente de la de los materiales que componen el dispositivo. Esto se traduce en una transmisión acústica muy deficiente y la pérdida de eficacia del dispositivo. Por tanto, es necesario garantizar un buen acoplamiento acústico entre la película fina del dispositivo donde se genera la onda fotoacústica y todas las piezas, y el dispositivo que la onda fotoacústica debe cruzar para alcanzar la piel. Además, también es necesario tener un buen acoplamiento acústico entre el dispositivo y la piel o la mucosa. La impedancia acústica de la piel es $Z_{\text{piel}}=1,54 \text{ MRayl}$ [$1 \text{ MRayl} = 1 \times 10^6 \text{ kg}/(\text{m}^2 \text{ s})$], similar a la del agua ($Z_{\text{agua}}=1,48 \text{ MRayl}$), pero muy diferente de los metales ($Z_{\text{Aluminio}}=17 \text{ MRayl}$, $Z_{\text{acero}}=46 \text{ MRayl}$), aunque relativamente cercana a la de los plásticos ($Z_{\text{Teflón}}=2,97 \text{ MRayl}$, $Z_{\text{polietileno}}=1,76 \text{ MRayl}$, $Z_{\text{poliestireno}}=2,42 \text{ MRayl}$). La parafina ($Z_{\text{parafina}}=1,8 \text{ MRayl}$), glicerol ($Z_{\text{glicerol}}=2,3 \text{ MRayl}$), grafito ($Z_{\text{grafito}}=2,7 \text{ MRayl}$), acetato de celulosa ($Z_{\text{Celulosa}}=3,2 \text{ MRayl}$) o gel de escaneo acústico son materiales interesantes para un buen acoplamiento acústico con la piel. La administración eficaz de las ondas acústicas a la piel requiere una selección de materiales con impedancias acústicas cercanas a Z_{piel} . El problema de la incompatibilidad de la impedancia acústica también puede resolverse con el uso de capas múltiples de acoplamiento en serie donde la impedancia óptica de cada capa sea igual a la media geométrica de la impedancia de las capas de cada lado.

C. QUÍMICA DE MATERIALES

Los objetivos rígidos y de alta absorción están ampliamente disponibles. Sin embargo, las consideraciones detalladas anteriormente también reclaman materiales con las propiedades de los compuestos de referencia de PAC, con coeficientes elevados de absorción lineal, incorporados en capas de absorción finas con coeficientes de Grüneisen elevados, buen acoplamiento acústico entre la capa de absorción de luz y todos los materiales donde el transitorio acústico se propaga en la dirección de la piel, con buen acoplamiento acústico con la piel y, preferiblemente, con reflexión de la luz transmitida en la parte trasera del dispositivo para

proporcionar un segundo paso a través de la capa de absorción. Como alternativa, mejor que el uso de películas finas incorporando materiales con las propiedades de los compuestos de referencia de PAC, la película fina de absorción de luz puede fabricarse de polímeros con umbrales bajos de ablación con láser pulsado de nanosegundos. Son las orientaciones para crear dispositivos que conviertan de manera eficaz la energía de un pulso de láser en transitorios acústicos de banda ancha, duración corta y alta intensidad. La Figura 5 presenta un diagrama de trabajo de la ejecución preferible de un dispositivo siguiendo dichas orientaciones. Los ejemplos proporcionados aquí intentan ilustrar los distintos métodos de obtención de los materiales apropiados para una conversión rápida y eficaz de la energía del pulso de láser en un transitorio acústico, pero la elección de materiales sólo está restringida por las orientaciones mencionadas anteriormente.

Algunos ejemplos no limitadores de los compuestos de referencia de PAC que pueden incorporarse en las capas finas son orto-hidroxibenzofenona y moléculas similares que pasan por transferencias fotoinducidas intramoleculares ultrarrápidas de átomos de hidrógeno o de protones que vuelven rápidamente a su estado fundamental original, complejos Mn^{III} de meso-tetrafenilporfirina (MnTPP) y otros complejos paramagnéticos con procesos de relajación de transferencia de carga ultrarrápidos metal-ligando y/o ligando-metal, complejos con banda de transferencia de carga que vuelven a su estado fundamental por la recombinación ultrarrápida de carga, -caroteno y otros sistemas que decaen rápidamente a su estado fundamental mediante intersecciones cónicas, grafito y otros materiales capaces de transferir de forma ultrarrápida su energía electrónica a modos de fonación seguidos de un enfriamiento en la escala de tiempo de subnanosegundos[36], materiales semiconductores con estados transitorios de vida corta, o mezclas de materiales, con procesos de relajación no radioactivos ultrarrápidos. Dichos procesos ultrarrápidos no radioactivos pueden incluir, además de una relajación térmica, cambios de volumen estructural que resulten rápidamente en intermedios con volúmenes molares mayores que los de los

reactantes. Los compuestos de referencia de PAC en la capa fina pueden también excitarse vibracionalmente con pulsos de láser infrarrojo, dado que los modos vibracionales, o la combinación de modos vibracionales, excitados con luz infrarroja devuelven muy rápidamente al estado vibracional fundamental, como se ha visto, por ejemplo en los espectros fotoacústicos del agua y otros materiales.

Las películas finas de polímero se pueden producir de forma económica mediante varias técnicas. Por ejemplo, la técnica clásica de "spin-coating" produce películas con grosores entre 1 y 10 micrómetros. Los colorantes calificados como referencias de PAC deben incorporarse en grandes cantidades dentro del polímero y el dispositivo debe ser concebido para proporcionar el confinamiento y la rigidez necesaria para un rendimiento eficaz. Se facilita la incorporación de grandes cantidades del colorante en el polímero con la introducción de cadenas largas de alquílicas como en meso-tetraundecilporfirinas. Las propiedades de las referencias de PAC también se encuentran en tales compuestos cuando son compuestos con iones paramagnéticos como Mn^{III} en presencia de contraiones como los iones haluros, carboxilatos, etc. Tales referencias de PAC son identificadas en este trabajo como MnTAP y presuponen la presencia de un contraión. Para ilustrar el uso y realización de las películas poliméricas finas, proporcionamos en el Ejemplo 1 el método para producir un dispositivo para la administración transdérmica de fármacos con una película fina polimérica incorporando grandes cantidades de MnTAP. Otra clase de compuestos con otras propiedades adecuadas para incorporar en esta película polimérica es el de los colorantes absorbentes del infrarrojo cercano, por ejemplo, para bloquear la luz de láser en el infrarrojo cercano. El Ejemplo 2 describe la fabricación de un dispositivo con uno de tales colorantes, que tiene la ventaja de usar pulsos de láser de infrarrojo cercano para producir ondas fotoacústicas. Los láseres de infrarrojo cercano pueden distribuir una determinada fluencia de láser a un coste más bajo que los láseres visibles o ultravioletas.

La fabricación de células solares sensitivas al colorante usa actualmente una capa con un grosor de pocos micrones de

nanocrystalina de titanio TiO_2 depositada sobre una lámina de vidrio. Las capas muy finas obtenidas ofrecen una gran superficie que puede utilizarse para absorber los colorantes. El Ejemplo 3 ilustra la fabricación de dispositivos con capas muy finas de TiO_2 con meso-tetra-(4-sulfonato-fenil)porfirina de manganeso (MnTTPS) absorbido, que se comporta como una buena referencia fotoacústica bajo estas condiciones[37]. El mismo ejemplo también cubre los materiales semiconductores que absorben mucho en la longitud de onda de excitación, como hematitas, en forma de películas mesoporosas y nanocrystalinas $-\text{Fe}_2\text{O}_3$, con recombinación geminal rápida electrón-hueco[38].

Las películas finas de materiales con umbrales de ablación por láser pulsado por debajo de 50 mJ/cm^2 también cumplen las orientaciones mencionadas anteriormente de conversión rápida y eficaz de la energía de un pulso de láser en un transitorio acústico. Este es el caso, por ejemplo, del tereftalato de polietileno (PET) [39], poliimida [40] y polímeros de triazina[28]. Además, estos polímeros tienen absorciones importantes en los UV, con coeficientes de absorción decádica lineal $\mu_a = 1,6 \times 10^5$ y $2,5 \times 10^5 \text{ cm}^{-1}$ a 248 nm para PET y poliimida, respectivamente[27], y $\mu_a \approx 10^5 \text{ cm}^{-1}$ a 308 nm para polímeros de triazina[28, 41]. Con tales coeficientes elevados de absorción, es posible obtener películas con grosores de 200 nm que absorban más de un 99% del pulso de láser incidente en una longitud de onda adecuada y sufren una ablación con la producción de transitorios acústicos de amplitud elevada en fluencias de láser inferiores a 100 mJ/cm^2 .

La Figura 1 compara los transitorios acústicos producidos por distintos dispositivos bajo la misma fluencia de láser y detectado por el transductor de 2,25 MHz de Panametrics (modelo A106s) y almacenadas digitalmente en un osciloscopio (Tektronix DSA 601, 1 Gs/s , dos canales). La excitación utilizó el tercer armónico de un láser Nd:YAG de Spectra-Physics Quanta Ray GCR 130 (amplitud de pulso 5-6 ns) con una energía por pulso ca. 10 mJ/cm^2 a 355 nm. Las amplitudes relativas de dichos transitorios acústicos dependen de la sensibilidad del transductor a las distintas frecuencias acústicas presentes en la onda acústica transitoria. Por ello, la amplitud de los transitorios acústicos medidos por el transductor es sólo un

indicio de la eficacia de conversión fotoacústica alcanzada por los dispositivos. No obstante, las amplitudes de los transitorios acústicos producidos por los dispositivos concebidos según las orientaciones aportadas anteriormente son más elevadas que la de la onda de presión generada por un objetivo de poliestireno negro con un grosor de 1mm.

El ejemplo 4 presenta la influencia del coeficiente de absorción lineal en la amplitud de banda de la onda acústica transitoria. Usando un transductor 225 MHz de Panametrics (modelo V2113), se observa que la transformada rápida de Fourier de los transitorios acústicos generados por las películas con coeficientes de absorción lineal más elevados posee frecuencias ultrasónicas que se extienden a los 200 MHz, Figura 4. Dichas frecuencias altas muestran que el transitorio acústico sigue la duración de un pulso de láser (ca. 6 ns).

D. Evaluación Biológica

La mejor forma de evaluar la realización de las ondas fotoacústicas generadas por estos dispositivos en la promoción de la administración transdérmica de grandes moléculas y materiales biológicos es mediante modelos animales con estructuras de piel parecidas a la piel humana. El mejor modelo de animal para probar la impregnación de la piel es el cerdito minipig, en vista de las similitudes entre las características de la piel humana y la piel del minipig y su permeabilidad similar a los distintos fármacos[42]. La prueba del principio de eficacia de los dispositivos expuestos aquí se presenta en los Ejemplos del 5 al 8 con dos entidades relevantes clínicamente: una porfirina y una proteína. Las porfirinas y los derivados de la porfirina se utilizan actualmente como fotosensibilizadores en la terapia fotodinámica contra el cáncer. Su uso en el tratamiento de los cánceres de piel y las afecciones de la misma tales como queratosis actínica, carcinoma de células escamosas, la enfermedad de Bowen (carcinoma de células escamosas intraepiteliales) carcinoma de células basales, se limita por la lenta difusión de estas grandes moléculas a través de la piel. La administración transdérmica de 5,10,15,20-tetrakis(2,6-fluoro-3-N-

metilsulfamoiilfenilo)porfirina, peso molecular de 1131 Da) en la piel del minipig con dispositivos expuestos aquí se describe en los Ejemplos 5 y 7. Las proteínas son actualmente administradas mediante agujas hipodérmicas en el tratamiento de varias enfermedades y afecciones. Un ejemplo muy relevante es la inyección subcutánea de insulina (peso molecular de 6 kDa) en el tratamiento de la diabetes. Los ejemplos 6 y 8 describen la administración intradérmica eficaz de la Proteína Verde Fluorescente (GFP, peso molecular de 27 kDa) mediante los dispositivos expuestos aquí.

Las pruebas *in vivo* e *in vitro* emplearon a cuatro minipigs obtenidos de IMIDRA (Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario) en Aranjuez (Madrid). Todos los minipigs son hembras, con edades entre 6 y 8 meses, de color blanco con manchas marrones, peso medio 56,8 kg (66,2, 57,1, 43,5, 60,6 kg). Fueron recibidos en Estação Zootécnica Nacional, Vale de Santarém, donde fueron acomodados en cajas individuales de 1,5 m², alimentados con una dieta estándar para cerdos y agua *ad libidum*, durante un período de aclimatación de tres semanas. El estudio se llevó a cabo según las orientaciones éticas portuguesas con una licencia concedida por Direcção de Serviços de Saúde e Protecção Animal, ref. 0420/000/000/2007. El acceso a los alimentos se suspendió 24 horas antes del tratamiento. Se afeitaron las espaldas de los animales 24 horas antes de la aplicación *in vivo* de las formulaciones dermatológicas. Las formulaciones fueron iguales para la administración transdérmica pasiva y para la administración transdérmica activa con ondas fotoacústicas. Los dispositivos de conversión fotoacústica y el láser utilizados en estos experimentos fueron descritos anteriormente. Todos los procesos fueron llevados a cabo con anestesia. La pre-medicación utilizada 30 minutos antes fue: Azaperone (Stresnil® - Veterinaria ESTEVE - España), inyección intramuscular de 2 mg/kg+ sulfato de atropina, 50 mg SC. La inducción fue realizada con ketamina (Clorketam® - Vétoquinol, Francia), 20 mg/kg, inyección intramuscular. La anestesia fue mantenida con intubación endotraqueal, usando ventilación espontánea con 2-3 l/min de oxígeno + 3% isoflurano (Isoflo® - Veterinária ESTEVE, España). Las muestras fueron recogidas

en 3 minipigs bajo la anestesia descrita anteriormente. Las alícuotas de la piel con tamaños de 20x20x10 (longitud, lado, profundidad) fueron obtenidas por escisión quirúrgica. Tras la recogida de las muestras de piel, los animales fueron sacrificados con una sobredosis de tiopental sódico (25 mg/kg) + 20 ml de cloruro de potasio al 7,5%. Al cuarto minipig se le realizó un seguimiento durante 3 semanas y fue alimentado con una dieta estándar para cerdos y agua *ad libidum*.

Las secciones de piel fueron cortadas de la espalda de los minipigs una vez que fueron sacrificados. Dichas secciones de piel fueron congeladas y mantenidas a -18 °C hasta su uso en pruebas *in vitro*. Antes de cada prueba *in vitro*, la cantidad necesaria de piel de minipig se exponía lentamente a la temperatura ambiente. Todas las pruebas se llevaron a cabo a temperatura ambiente.

Las muestras de piel recogidas tras los experimentos fueron analizadas por microscopio para evaluar la profundidad de penetración de los compuestos deseados, o fueron objeto de un proceso de extracción para evaluar las cantidades bajo su piel. La evaluación de la profundidad de penetración mediante una microscopia fluorescente o mediante una microscopia confocal requiere la fijación del tejido. El primer paso para la fijación fue la inmersión en paraformaldehído (4% en solución acuosa) durante al menos 24 horas. A continuación, las muestras fueron transferidas a una solución de sacarosa al 25% durante al menos 48 horas. Siguiendo este tratamiento, las muestras de piel se tornaron más densas que la solución de sacarosa. Una alícuota fue extraída con un punzón para biopsias, congelada en hielo seco y luego montada en un soporte con compuesto Tissue-Tek O.C.T. (Sakura Finetek Europe B.V., Zoeterwoude, Países Bajos) y cortada en láminas con grosores controlados entre 25 y 100 µm en un criostato. Las láminas de piel fueron recogidas en láminas para microscopio y mantenidas refrigeradas hasta que fueron analizadas con microscopia fluorescente y microscopia confocal. Como alternativa, en lugar de usar paraformaldehído como fijador, las muestras de piel fueron congeladas directamente en hielo.

Se elaboró un método específico para evaluar las cantidades de F2TPPMet administradas bajo la piel. Del área de

1 cm² de piel del experimento, se extrajo una muestra de 4 mm para seccionarla en trozos lo más pequeños posibles con un bisturí. Dichos trozos fueron transferidos a una copa de vidrio con un cierto volumen de diclorometano para ser aplastados con un triturador YSTRAL Micro Shaft 6G. Después, la piel triturada restante se somete a un proceso de extracción durante 6 horas con un disolvente adecuado. Para F2TPPMet, el diclorometano representa la elección correcta teniendo en cuenta el grado de lipofilia de la piel y la porfirina. Las curvas de calibración de fluorescencia del excipiente farmacológico administrado en la piel fueron realizadas en el extractor disolvente para validar la metodología utilizada. Finalmente, la masa administrada en la piel es determinada para cada ensayo sustituyendo su fluorescencia en la curva de calibración. La señal fluorescente de las imágenes de fluorescencia fue también cuantificada analizando la luminosidad de F2TPPMet administrado bajo la piel [43] tras delimitar las áreas donde la fluorescencia fue observada. El proceso de extracción para la administración transdérmica pasiva en comparación a la activa de F2TPPMet confirmó los datos obtenidos por microscopia fluorescente, concretamente el aumento en la cantidad de F2TPPMet administrado a la piel cuando una onda de presión de banda ancha de alto impulso es utilizada como método para la administración transdérmica activa.

La Proteína Verde Fluorescente (GFP) posee un peso molecular de 27 kDa que es mucho mayor que el de las proteínas con efectos terapéuticos como la insulina (5,8 kDa). Por otro lado, la GFP posee una emisión y absorción de luz enorme y singular, que facilita su análisis con técnicas de fluorescencias, específicamente la microscopia confocal. Aquí se usó como modelo para la administración intradérmica de proteínas. Además, los plásmidos de codificación de GFP se encuentran disponibles comercialmente, concretamente aquellos basados en vectores gWIZ. El nivel de expresión de GFP tras la transfección llevada a cabo por plásmidos gWizGFP puede monitorizarse por fluorescencia, con una excitación a 470-480 nm y emisión a 510 nm. El Ejemplo 9 presenta una prueba de principio *in vitro* de la transfección con gWizGFP.

Descripción de los Dibujos

La Figura 1 compara ondas fotoacústicas producidas por distintos dispositivos bajo la misma fluencia de láser (10 mJ/cm²) y detectadas por un transductor de 2,25 MHz de Panametrics (modelo A106S) y almacenadas digitalmente en un osciloscopio (Tektronix DSA 601,1 Gs/s, dos canales). La excitación utilizó el tercer armónico de un láser Nd:YAG Spectra-Physics Quanta Ray GCR 130 (amplitud de pulso de 5-6 ns).

La Figura 2 muestra que las amplitudes de los transitorios acústicos disminuyen cuando los grosores de la película de absorción aumentan, en este caso a través de la absorción sucesiva de capas de nanopartículas de TiO₂ en una lámina de vidrio. Cuando se absorbe una segunda capa, y se dobla el grosor, la amplitud del transitorio acústico generado por tetra-(sulfonilfenil)porfirinato de manganeso (MnTTPS) se reduce a la mitad.

La Figura 3 ilustra simulaciones de las ondas fotoacústicas observadas por el transductor 2,25 MHz, cuando fueron producidas por el decaimiento no radiactivo de un transitorio con un tiempo de decaimiento de 10 ns o por el decaimiento de un transitorio con un tiempo de decaimiento de 100 ns, y la onda fotoacústica producida en el decaimiento de dos transitorios posteriores con vidas de 10 y 100 ns, cada uno con el 50% de la energía del láser. La amplitud de las ondas fotoacústicas disminuyen por un factor de 2 cuando el tiempo de vida del estado electrónico intermedio aumenta de 10 a 100 ns y su tiempo de subida es mayor, reduciendo así el impulso del transitorio acústico.

La Figura 4 muestra la transformada rápida de Fourier de las ondas fotoacústicas detectadas por un transductor de contacto de 225 MHz de Panametrics tras la excitación con láser pulsado de un disco de poliestireno negro comercial de 634 μ m de grosor o una película de poliestireno de 38 μ m de grosor con MnTAP, ambas absorbiendo más del 99,9% de la luz del láser

a 484 nm. La excitación utilizó un modelo EKSPLA OPO PG-122 bombeado por un láser Nd:YAG EKSPLA NL301G, emitiendo pulsos con una duración de 4-6 ns.

La Figura 5 es una sección transversal esquemática, no a escala, de un ejemplo de un dispositivo para administrar compuestos en una formulación farmacológica adecuada (A) a través de barreras biológicas (B) donde el extremo próximo de una guía óptica (7) se conecta a una fuente de láser pulsado y el extremo distal es dirigido a una capa fina de absorción (4) de una película con un compuesto de referencia de PAC. La guía óptica proporciona direccionalidad con o sin contacto físico entre la fuente de láser y la capa de absorción con el compuesto de referencia de PAC. El pulso de un láser (a) puede ser guiado y/o focalizado a una parte de la película (4) y los pulsos de láser posteriores pueden ser guiados a la misma o a diferentes partes de la película (4). Un elemento rígido de ventana (3) es transparente a la longitud de onda del pulso de láser (1) que es absorbido selectivamente por el compuesto de referencia de PAC incorporado en la película fina (4). La luz transmitida a través de la película (4) es reflejada opcionalmente por un elemento de soporte reflectante en su cara frontal (5) y permite un segundo paso, con más absorción, a través de la película (4). La onda fotoacústica producida en la película (4) es transmitida opcionalmente a través del elemento de soporte (5) a la barrera biológica (B), como por ejemplo la piel, con el acoplamiento acústico favorecido por la formulación dermatológica (A) que contiene el fármaco que debe ser administrado a través de la piel (B). El contacto entre el elemento de ventana (3), la película fina (4) y el elemento de soporte (5) está asegurado mediante un elemento estructural. Dicho elemento estructural puede incorporar tecnología para orientar el pulso del láser (1) y distribuir los pulsos de láser posteriores a diferentes partes de la película (4).

La Figura 6 compara la microscopia de fluorescencia de la administración transdérmica pasiva (A) y activa (B) de una porfirina con un peso molecular ca. 1 kDa a través de la piel de un minipig, con el dispositivo del Ejemplo 1 usando 12

pulsos de láser a 355 nm con fluencias de láser de 10 mJ/cm², focalizado en un área de 1 cm², y un tiempo de incubación de 20 minutos.

La Figura 7 muestra la microscopia confocal de una administración transdérmica activa de una porfirina con un peso molecular ca. 1 kDa a través de un minipig, con el dispositivo del Ejemplo 3 y 6 pulsos de láser a 355 nm con fluencias de láser de 10 mJ/cm², y un tiempo de incubación de 20 minutos. Modo confocal: detector a 1150 V, orificio para pasador = 111,44 µm y excitación a 514 nm.

La Figura 8 muestra la microscopia de fluorescencia (A) y la microscopia confocal (B) de la administración transdérmica activa de la GFP (peso molecular 27 kDa) a través de la piel ex-vivo de un minipig con el dispositivo del Ejemplo 1 usando 6 pulsos de láser a 355 nm con fluencias de láser de 50 mJ/cm², y un tiempo de incubación de 20 minutos. Modo confocal: detector a 1150 V, orificio para pasador = 111,44 µm y excitación a 488 nm.

La Figura 9 muestra la microscopia de fluorescencia de la administración transdérmica activa de una porfirina con peso molecular ca. 1 kDa a través de la piel de un minipig *in vivo*, con el dispositivo del Ejemplo 1 usando 12 pulsos de láser a 355 nm con fluencias de láser de 10 mJ/cm², y un tiempo de incubación de 20 minutos.

La Figura 10 muestra la microscopia de fluorescencia de la administración transdérmica activa de GFP a través de la piel de un minipig *in vivo* con el dispositivo del Ejemplo 1 usando 12 pulsos de láser con fluencias de láser de 10 mJ/cm² a 355 nm, y un tiempo de incubación de 20 minutos.

La Figura 11 muestra la microscopia de fluorescencia de la GFP producida tras la administración *in vitro* del plásmido gWizGFP en células COS-7 usando el dispositivo del Ejemplo 1 con pulsos de láser a 532 nm con fluencias de láser de 55 mJ/cm². Veinticuatro horas después de la irradiación con láser,

la expresión de la GFP en las células fue observada por microscopia de fluorescencia (DMIRE200 Leica). Las muestras de células fueron excitadas a 488 nm.

Descripción Detallada de la Invención

Ejemplo 1

Generación de transitorios acústicos por dispositivos incorporando películas poliméricas con grosores micrométricos

El meso-tetraundecilporfirina de Manganeso (MnTAP) es un compuesto conveniente de referencia de PAC y fue incorporado en grandes cantidades a una película de poliestireno. La película fue producida por la técnica "spin-coating" en una ventana de vidrio. El vidrio funciona como ventana y la película se encuentra confinada en el otro lado por una cubierta de plástico reflectante. Este dispositivo rígido absorbe más del 90% de la luz a 355 nm, el material de absorción cumple los criterios de una buena referencia de PAC, la capa de absorción posee un grosor de ca. 30 μm , y el material en contacto con la piel tiene una impedancia acústica cercana a Z_{piel} . La impedancia acústica entre todas las capas puede mejorarse con medios de acoplamiento adecuados, como un gel para escaneo, parafina o glicerina. La realización de este dispositivo bajo una excitación de pulso de láser de 355 nm por el tercer armónico de un láser Nd:YAG con una densidad de energía de 10 mJ/cm² medido por un transductor de 2,25 MHz es comparado en la Figura 1 con la de un plástico estándar de poliestireno de 1mm de grosor con una ventana de vidrio similar.

Este ejemplo ilustra el aumento en la eficacia de conversión fotoacústica conseguida por un dispositivo diseñado según las orientaciones expuestas en esta invención, si lo comparamos con la eficacia de un simple objetivo de plástico negro ya conocido en esta materia.

Ejemplo 2

Generación de transitorios acústicos por dispositivos incorporando colorantes de absorción de infrarrojos con grosores micrométricos

Los colorantes de absorción de infrarrojos utilizados en la fabricación de protecciones oculares contra la radiación láser pueden también exhibir propiedades similares a las de los compuestos de referencia de PAC. Se preparó una película incorporando un polvo colorante comercial EPOLIGHT 1178 de Epolin, con una absorción fuerte a 1064 y 355 nm, según el procedimiento descrito en el Ejemplo 1. Las ondas fotoacústicas producidas por una película cargada con EPOLIGHT 1178 fueron comparadas con las ondas acústicas producidas por una película similar cargada con MnTAP, utilizando la misma absorbancia de las películas, fluencias de láser a 355 nm y otras condiciones experimentales. Las películas produjeron ondas fotoacústicas muy similares, demostrando que EPOLIGHT 1178 posee las propiedades de un compuesto de referencia de PAC. La Figura 1 compara las ondas fotoacústicas medidas con el dispositivo incorporando EPOLIGHT 1178 con las ondas fotoacústicas medidas con un dispositivo análogo pero incorporando MnTAP, con la misma fluencia de láser.

Este ejemplo muestra que puede emplearse un amplio rango de longitudes de ondas de láser en la conversión eficaz de los pulsos de láser en ondas fotoacústicas, siempre que se lleven a cabo las orientaciones expuestas en esta invención.

Ejemplo 3

Generación de transitorios acústicos por dispositivos incorporando capas de TiO₂ nanoestructurado con nanogrosores o grosores micrométricos

Los métodos para producir finas capas de TiO₂ nanoestructuradas sobre una superficie de vidrio son bien conocidos en el campo de las células solares sensibilizadas por colorantes. Contrariamente a dichas aplicaciones, los dispositivos para la administración transdérmica de fármacos no requieren el uso de sinterizaciones para potenciar una buena conductividad eléctrica entre las nanopartículas de TiO₂. Por el contrario, las sinterizaciones reducen el área de superficie de contacto.

Una vez el meso tetra-(sulfonilfenil)porfirinato (MnTTPS) es absorbido en una cantidad suficiente que garantiza una absorción de la luz de láser a 355 nm superior al 90%, la lámina es teñida y se añade una capa fina de glicerol antes de colocar una hoja de metal reflectante encima de ella. Este dispositivo es irradiado desde su parte trasera, es decir, el haz de láser impacta en la lámina de vidrio, la atraviesa y es absorbido por el colorante absorbido en los nanocristalitos de TiO_2 . Toda luz que no es absorbida por el colorante es absorbida o reflejada por la superficie de metal, bloqueando que la luz atraviese el dispositivo. También puede incorporarse una capa de partículas de TiO_2 con tamaños mayores, por ejemplo de 100-200 nm, de modo que aumente la dispersión de la luz y por tanto, aumente el camino óptico y la probabilidad de absorción de luz por el colorante absorbido. La Figura 1 compara las ondas fotoacústicas medidas con este dispositivo y la excitación a 355 nm con las ondas acústicas medidas por los dispositivos descritos en los ejemplos anteriores, en la misma fluencia de láser.

Ejemplo 4

Generación de transitorios acústicos por dispositivos con altos coeficientes de absorción lineal

El colorante MnTAP puede incorporarse en grandes cantidades en películas finas de poliestireno. Se fabricó una película fina de 38 μm con una absorbancia de 1,8 a 647 nm, que corresponde a una absorbancia mayor a 5 a 484 nm. De esta forma, esta película fina posee $\mu\alpha \gg 1300 \text{ cm}^{-1}$ y la banda espectral del transitorio fotoacústico que puede producir debe determinarse por la banda espectral del pulso de láser absorbido por la película fina. La película fue confinada entre una ventana de cuarzo y la superficie de un transductor de 225 MHz de Panametrics y excitada por el OPO de EKSPLA modelo PG-122 bombeado por un láser NL301G Nd:YAG de EKSPLA, generando pulsos con una duración de 4-6 ns a 484 nm. La transformada rápida de Fourier del transitorio fotoacústico detectado condujo a la distribución espectral presentada en la Figura 4. En la señal se observan componentes de frecuencia significativos hasta 200 MHz. La misma figura presenta también

la transformada rápida de Fourier de una señal obtenida para un disco comercial de poliestireno negro con una absorbancia mayor a 5 a 484 nm y medida en las mismas condiciones. La señal generada por ese dispositivo no contiene componentes de frecuencia significativos por encima de 50 MHz.

Ejemplo 5

Administración transdérmica in vitro de una porfirina con peso molecular ca. 1 kDa

Se obtuvo una formulación dermatológica con F2TPPMet disolviendo 5 mg de esta porfirina en 0,556 ml de etanol absoluto, y a continuación añadiendo 1,737 ml de glicol de propileno, seguido por 0,22 ml de Azone y 0,3 ml de agua. La composición fue mezclada minuciosamente en vórtice y sonicada para facilitar su solubilización, y luego añadida al gel, compuesto por agua (76,65%), 96% etanol (15%) glicerina (6%), trietanolamina (1,35%), carbopol 940 (1%). La composición fue mezclada minuciosamente para alcanzar una buena homogeneización. En esta formulación, la concentración final de la porfirina es de 0,1 % y la de Azone® es de 4%.

Esta formulación se aplicó a una muestra cuadrada de aproximadamente 2x2 cm de piel de minipig, el dispositivo del Ejemplo 1 presionó ligeramente la formulación y la piel y los pulsos de láser fueron disparados con el segundo armónico de un láser Nd:YAF (532 nm) con una energía por pulso de 50 mJ. El área irradiada fue aproximadamente de 1 cm². El dispositivo se retiró inmediatamente tras la irradiación, la zona tratada de la piel fue cubierta con una capa de 1mm de la formulación dermatológica y con un vendaje oclusivo durante 20 minutos. Una vez transcurrido este tiempo, se retiró la formulación con una espátula y se lavó con algodón de uso médico empapado de etanol, hasta que no se observasen restos de porfirina en el algodón de uso médico. Se fijaron los tejidos con el procedimiento descrito anteriormente y se analizaron por microscopia de fluorescencia (Figura 6). La Figura 6 también muestra la microscopia de fluorescencia obtenida en un ensayo con únicamente administración transdérmica pasiva, la misma formulación dermatológica y el mismo tiempo de contacto de la formulación con la piel bajo un vendaje oclusivo. La Figura 7

muestra los resultados de un experimento similar pero usando el dispositivo del Ejemplo 3 y el análisis de la muestra de piel con microscopia confocal.

Ejemplo 6

Administración transdérmica in vitro de una proteína con peso molecular ca. 27 kDa

Se preparó una formulación dermatológica con Proteína Verde Fluorescente (GFP) como en el ejemplo anterior, sustituyendo F2TPPMet por la GFP.

Dicha formulación fue aplicada a las muestras de piel del minipig con el dispositivo del Ejemplo 1 y el protocolo del Ejemplo 5, concretamente potenciando la administración transdérmica de la GFP con 12 pulsos de láser de 50 mJ cada vez y 20 minutos de contacto de la formulación con la piel bajo un vendaje oclusivo. La microscopia de fluorescencia y la microscopia confocal representativas de las láminas de piel se encuentran en la Figura 8. La administración transdérmica pasiva de la misma formulación dermatológica con el mismo tiempo de contacto de la formulación con el vendaje oclusivo no presenta una cantidad medible de la GFP en la piel.

Ejemplo 7

Administración transdérmica in vivo de una porfirina con un peso molecular ca. 1 kDa

Las pruebas transdérmicas pasivas y activas *in vivo* se realizaron en la espalda de los minipigs. En cada prueba la formulación dermatológica con porfirina fue aplicada en un área predeterminada de la piel durante el tiempo deseado, bajo un vendaje de oclusión. Una vez transcurrido este tiempo, se retiró la formulación con una espátula y se lavó con algodón de uso médico empapado de etanol, hasta que no se observasen restos de porfirina en el algodón de uso médico. Las muestras de piel fueron retiradas quirúrgicamente y los animales fueron sacrificados.

La formulación dermatológica utilizada fue la del Ejemplo 5. El tratamiento de los animales fue descrito anteriormente. Cuando los animales se encontraban quietos bajo el efecto de la anestesia, las formulaciones se aplicaban a mano, usando

guantes quirúrgicos. Cada aplicación cubrió un área circular de aproximadamente 3 cm de diámetro, con unos milímetros de gel. La zona de aplicación asignada para la administración pasiva de fármacos fue cubierta con un parche oclusivo. La aplicación asignada para la administración activa de fármacos fue cubierta con el dispositivo descrito en el Ejemplo 1 y fue objeto de 12 disparos láser a 355 nm, con energías de 10 mJ por pulso y focalizado en un área ca. 1 cm². Luego se retiró el dispositivo, se añadió una fina capa de gel y la zona de aplicación fue cubierta con un parche oclusivo. El parche fue retirado 20 minutos después de la aplicación y se limpió la espalda del animal. Se recogieron las muestras de piel como se describe antes en tres de los minipigs. Cada muestra fue aproximadamente rectangular con 2 cm de lado, y un grosor de 1 cm. El cuarto minipig fue mantenido con vida durante 10 días para su posterior evaluación. Ninguno de los animales, en particular el que fue mantenido con vida, mostró evidencia alguna de efectos secundarios derivados por el uso de la formulación con o sin tratamiento láser.

Tras el tratamiento fijador, cada muestra fue cortada en láminas para evaluaciones a través de microscopia de fluorescencia o microscopia confocal. La Figura 9 muestra ejemplos representativos de las imágenes obtenidas por microscopia de fluorescencia. En 20 minutos, la porfirina se distribuyó sobre toda la epidermis mientras que la capa *stratum corneum* permaneció intacta.

Ejemplo 8

Administración transdérmica in vivo de una proteína con un peso molecular ca. 27 kDa

La formulación dermatológica utilizada fue la del Ejemplo 6. El dispositivo fue descrito en el Ejemplo 1. El protocolo fue el del Ejemplo 7. El tiempo de incubación tras la aplicación se mantuvo en 20 minutos. Tras el tratamiento fijador, la evaluación por microscopia de fluorescencia reveló la presencia de la GFP en una parte sustancial de la epidermis, mientras que la capa *stratum corneum* permaneció intacta (Figura 10).

Ejemplo 9

Administración de genes in vitro

Para la prueba de la administración funcional de genes *in vitro* en células, se cultivaron células COS-7 en un medio DMEM (Medio Eagle Modificado por Dulbecco) con 10% de suero bovino y antibióticos (penicilina/estreptomicina), en una incubadora para el cultivo de células a 37 °C bajo una atmósfera de 5% CO₂ en aire. Tras alcanzar una confluencia del 90%, las células fueron extraídas, diseminadas en platos de cultivos e incubadas a 37°C durante 24 h. Antes de aplicar las ondas de presión a las células, fue añadida una solución acuosa del plásmido de ADN que codifica la GFP (gWizGFP, Aldevron, Fargo, ND) al medio de cultivo para obtener una concentración de 100 µg/mL. El dispositivo del Ejemplo 1 fue presionado contra la parte inferior del vial de cultivo, y se dispararon pulsos de láser durante 3 minutos con el segundo armónico de un láser Nd:YAG (532 nm, 10 Hz, 31 mJ/pulse). El área irradiada fue aproximadamente de 0,57 cm². Veinticuatro horas después de la irradiación con láser, la expresión de la GFP en las células fue observada mediante el empleo de microscopia de fluorescencia (DMIRE200 Leica). Las células también fueron visualizadas mediante microscopia de campo claro. La Figura 12 presenta la microscopia de fluorescencia de la GFP en células COS-7.

Otras Realizaciones

Personas cualificadas en la materia reconocen que existen muchas otras formas de poner en práctica la presente invención usando pulsos de láser de nanosegundos y picosegundos y películas finas de materiales de muy alta absorción con tiempos de vida de transitorios similares o menores que la duración del pulso de láser, diferentes a los ejemplos descritos anteriormente. Los compuestos a administrar en la piel o a través de ella pueden aplicarse en formulaciones aceptables farmacológicamente antes o después de la acción de los transitorios de impulso generados en la capa fina absorbente cuando éstas absorben un pulso de láser. El confinamiento y el contacto de la capa fina absorbente con la piel pueden mediar por una variedad de materiales con impedancias similares, siempre que estos sean lo suficientemente densos como para

proporcionar rigidez y lo suficientemente finos como para que la onda acústica permanezca plana. Los pulsos de láser en ultravioleta, visible e infrarrojo pueden utilizarse para excitaciones electrónicas, vibrónicas o vibracionales.

Así, los ejemplos anteriores no son limitaciones en el alcance de la invención sino simples ejemplificaciones. En consecuencia, el lector debería determinar el alcance de la invención por las reivindicaciones adjuntas y sus equivalentes legales, y no por los ejemplos proporcionados.

Lisboa, 13 de abril de 2012

REIVINDICACIONES

1. Dispositivo para la conversión de la energía de un pulso de láser (1) emitida por una fuente de láser pulsado (2) en un transitorio acústico de banda ancha y alto impulso, especialmente capaz de aumentar la administración de uno o más compuestos en una formulación farmacológica adecuada (A) en una barrera biológica objeto o a través de la misma (B), incluyendo piel o tejido suave, caracterizado porque:

dicho pulso de láser (1) posee una densidad de potencia óptica en el rango entre 0,1 y 40 MW/cm²,

y el dispositivo se compone de:

- una capa fina (4) de un material de conversión incluyendo uno o más sistemas moleculares, en los cuales parte de la energía generada por dicho pulso de láser (1) es absorbida y genera un transitorio acústico de banda ancha y alto impulso en dicho material de conversión, mediante una expansión termoelástica y/o expansión de su volumen estructural y/o una fotodescomposición;
- un elemento estructural y/o de unión (6) colocado para mantener dicha capa fina(4) de un material de conversión y también un elemento de ventana (3) y un elemento de soporte (5) en contacto, garantizando de esta manera un acoplamiento acústico entre las tres partes;
- dicha fuente de láser pulsado (2) dispuesta para iluminar dicha capa fina (4) del material de conversión con dicho pulso de láser (1) en el que dicho pulso de láser (1) posea una longitud de onda que sea absorbida por dicha capa fina (4) de un material de conversión.

2. Dispositivo de acuerdo con la reivindicación 1 caracterizado porque dicha densidad de potencia óptica en el rango entre 1 y 10 MW/cm².

3. Dispositivo de acuerdo con la reivindicación 1 caracterizado porque dicha capa fina (4) de un material de conversión es una película de óxido mesoscópico nanocristalino o partículas

calcógenas con áreas de superficie internas elevadas, incorporando una capa uno o más compuestos de referencia fotoacústica absorbidos en las nanopartículas, en la cual dichos compuestos de referencia fotoacústica absorbes parte del pulso del láser (1).

4. Dispositivo de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque dicha capa fina (4) de un material de conversión es una película de polímero incorporando uno o más compuestos de referencia fotoacústica, en la cual dichos compuestos de referencia fotoacústica absorbes parte del pulso de láser (1).

5. Dispositivo de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque dicha capa fina (4) de un material de conversión es una capa de una solución con uno o más sistemas moleculares que absorben parte del pulso de láser (1), y el disolvente posee parámetros termoelásticos elevados, como se expresan por el respectivo coeficiente de Grüneisen.

6. Dispositivo de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque dicha capa fina (4) de un material de conversión es una película de polímero, con un umbral de ablación inferior a la fluencia de láser de 50 mJ/cm² para los láseres con pulsos de nanosegundos.

7. Dispositivo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado por:
que el grosor de dicha capa fina (4) de un material de conversión es entre 0,01 y 400 µm, y el dispositivo se compone de un elemento ventana (3) dispuesto entre dicha capa fina (4) de un material de conversión y dicha fuente de láser pulsado (2), en la cual dicho elemento ventana (3) es rígido y transparente a dicho pulso de láser (1) y tiene una impedancia acústica que es elevada con respecto a la de la capa fina (4) de un material de conversión y restringe la expansión o proyección de dicho transitorio acústico en su lado de dicha capa fina (4) de un material de conversión.

8. Dispositivo de acuerdo con la reivindicación 7 caracterizado porque dicha grosor de dicha capa fina (4) de un material de conversión es entre 0,1 y 20 μm .

9. Dispositivo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizado porque dicha capa fina (4) de un material de conversión absorbe más del 99% del pulso de láser incidente en la profundidad de los primeros 100 μm de dicho material de conversión expuesto a dicho pulso de láser (1), que potencian la excitación electrónica y/o vibracional y/o rotacional en dicha capa fina (4) del material de conversión, y el dispositivo incluye como opción dicho elemento ventana (3).

10. Dispositivo de acuerdo con la reivindicación 9 caracterizado porque pulso de láser incidente es un laser de en infrarrojo.

11. Dispositivo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 10, caracterizado porque dicha fuente láser (2) genera pulsos de láser con duraciones entre 0,1 y 100 ns.

12. Dispositivo de acuerdo con la reivindicación 11 caracterizado porque dicha fuente láser (2) genera pulsos de láser con duraciones entre 0,5 y 20 ns.

13. Dispositivo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, caracterizado porque dicha fuente de láser pulsado (2) genera una energía por pulso entre 0,1 y 100 mJ/cm².

14. Dispositivo de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, caracterizado porque se compone de un elemento de soporte (5) dispuesto con respecto a dicho elemento ventana (3) al otro lado de dicha capa fina (4) de un material de conversión, específicamente entre dicha capa fina (4) de un material de conversión y una barrera biológica objetivo (B), en la cual dicho elemento de soporte (5) evita una irradiación

directa de láser, protege dicha barrera biológica objetivo (B) de la irradiación directa del láser, y posee una impedancia acústica predefinida, en el rango y/o cercana a la impedancia acústica de dicha barrera biológica objetivo (B) y es reflectante para reflejar la mayor parte del pulso de láser (1) que no es absorbido por dicha capa fina (1) volviendo a atravesar dicha capa fina (4) y dicho elemento ventana (3) y así proporcionar un segundo paso del pulso de láser (1) por el dispositivo.

15. Dispositivo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 14, caracterizado porque el grosor de dicho elemento de soporte (5), reflectante opcionalmente, es entre 0,1 y 10 mm.

16. Dispositivo de acuerdo con la reivindicación 15 caracterizado porque grosor de dicho elemento de soporte (5), reflectante opcionalmente, es entre 0,2 y 2 mm.

17. Dispositivo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, caracterizado porque dicho elemento estructural y/o de unión (6) puede ser de construcción rígida o flexible, o sellante o cemento.

18. Dispositivo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, caracterizado porque se compone de una guía óptica (7) capaz de dirigir dicho pulso de láser (1) de dicha fuente de láser pulsado (2) a dicha capa fina (4) de un material de conversión, en el cual dicha guía óptica (7) es una o más fibras ópticas con el extremo proximal acoplado a la fuente de láser pulsado (2) y el extremo distal dirigido a dicho elemento ventana (3).

19. Dispositivo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, caracterizado porque dicha guía óptica (7) es movable o dirigida a ópticas movibles, y dirige, mediante un control externo o remoto, incluyendo por medio de incorporación en el elemento estructural (6), pulsos de láser (1) sucesivos a distintas partes más pequeñas de la capa fina

(4) que absorbe parte del pulso de láser (1), de modo que una secuencia de pulsos de láser es absorbida en dichas partes (distintas) pero finalmente una parte sustancial de la capa fina (4) es irradiada.

REIVINDICACIONES 15 a 20 ELIMINADAS

RESUMEN

La presente invención hace referencia a un dispositivo capaz de convertir de forma rápida y eficiente la energía de un pulso de láser en una onda de presión de banda ancha de alto impulso y también a sus aplicaciones en la permeabilización temporal de una membrana biológica, incluyendo las capas externas de la piel, sin causar daños ni molestias. Con este dispositivo se divulga también un método para administrar fármacos y compuestos activos biológicamente para o a través de la piel o las barreras biológicas.