

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 602 107**

51 Int. Cl.:

A61K 9/107 (2006.01)

A61K 9/12 (2006.01)

A61K 31/195 (2006.01)

A61K 47/10 (2006.01)

A61K 47/44 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.12.2007 PCT/EP2007/011404**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.07.2008 WO08077641**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.12.2007 E 07857110 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.09.2016 EP 2120872**

54 Título: **Nanoemulsión**

30 Prioridad:

22.12.2006 EP 06026698

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

17.02.2017

73 Titular/es:

**BIOFRONTERA BIOSCIENCE GMBH (100.0%)
HEMMELRATHER WEG 201
51377 LEVERKUSEN, DE**

72 Inventor/es:

FOGUET ROCA, MONTSERRAT

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 602 107 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Nanoemulsión

5 La presente invención se refiere a una nanoemulsión que comprende al menos un componente acuoso y un vehículo, donde el vehículo comprende al menos un componente lipófilo, al menos un tensioactivo y al menos un alcohol. La presente invención se refiere adicionalmente a una composición que comprende dicha nanoemulsión y un agente activo. En particular, la composición se presenta como un gel y el agente activo es ácido 5-aminolevulínico (ALA), un derivado, precursor y/o metabolito del mismo. La invención se refiere adicionalmente a la
10 preparación de dicha nanoemulsión y/o composición y a su uso para el tratamiento de enfermedades dermatológicas, enfermedades asociadas a virus, así como enfermedades asociadas con la proliferación celular, en particular, enfermedades tumorales y/o psoriasis. La presente invención se refiere adicionalmente al uso de dicha nanoemulsión en cosméticos.

15 Las nanoemulsiones constituyen un sistema coloidal. Los sistemas coloidales incluyen micelas, liposomas, virosomas, nanosuspensiones, microemulsiones y soluciones poliméricas. Las nanoemulsiones, basadas en sus características físicas y químicas, pertenecen al grupo de las microemulsiones. Las microemulsiones son dispersiones acuosas de partículas homogéneas de tamaño micrométrico compuestas de un núcleo lipídico rodeado por monocapas de tensioactivo y cotensioactivo. Las nanoemulsiones se caracterizan por un tamaño medio de
20 partícula (diámetro medio) de menos de 200 nm, a menudo menos de 100 nm y una estrecha distribución de tamaños de partículas monodispersas. Además, las nanoemulsiones son transparente y ligeramente opalescentes. Generalmente se fabrican por fragmentación mecánica de una fase oleosa en una fase acuosa en presencia de un tensioactivo. El tamaño muy pequeño de los glóbulos oleosos a menudo se obtiene en virtud de al menos un pase a través de un homogeneizador de alta presión o un sonicador. La preparación de las nanoemulsiones aquí descritas
25 no requiere dichos dispositivos de alto corte. El tamaño pequeño de los glóbulos y su alta homogeneidad les confiere propiedades cosméticamente ventajosas que los distinguen de las emulsiones convencionales: son transparentes y muestran una novedosa textura. Además, pueden portar agentes activos de forma más eficaz y, por tanto, se vuelven cada vez más importantes en el campo de la medicina y la farmacia.

30 El documento US 6.165.500 se refiere a transferosomas que comprenden un lípido, un tensioactivo y una fase acuosa, que tienen partículas o vesículas con un diámetro del orden de 100 a 10.000 nm.

El documento US 2002/155084 se refiere a una composición que comprende una formulación de nanoemulsión, que comprende un componente acuoso, un componente oleoso y un componente mixto tensioactivo.

35 El documento US 2005/0208083 y el documento WO 2005/027872 describe una composición que comprende una nanoemulsión, que comprende una fase acuosa, una fase oleosa que comprende un aceite y un disolvente orgánico, y uno o más tensioactivos.

40 El documento US 2005/0158389 describe una composición que comprende al menos un tensioactivo, al menos un componente sólido, un disolvente anfífilo y un compuesto, donde la composición comprende partículas de un tamaño de menos de aproximadamente 500 nm en un medio acuoso.

45 Las microemulsiones, llamadas nanodispersiones, son conocidas en la técnica, que comprenden a) una molécula de formación de membrana, por ejemplo, lecitina de soja, a) un coemulsionante, c) un componente lipófilo, por ejemplo, triglicérido caprílico y/o cáprico (Miglyol 812 o Myritol 318) y, opcionalmente, d) alcohol, en particular, etanol (documento EP 0 956 853). Estas nanodispersiones se usan en formulaciones farmacéuticas como vehículo de transporte para agente farmacéuticamente activos.

50 Sin embargo, el uso de etanol en nanoemulsiones tiene varias desventajas.

En primer lugar, el uso de etanol como cotensioactivo conduce a nanopartículas más grandes que el uso de alcoholes con cadenas de carbono más grandes. Las partículas más grandes causan una disminución de la superficie de contacto entre la piel y la nanoemulsión, que conduce a una disminución en la tasa de penetración. En
55 segundo lugar, el etanol tiene una viscosidad relativamente baja de 0,0011 Pa·s (1,10 cp) que no es óptima para la estabilidad de las microemulsiones. Además, debido a la hidrofobicidad relativamente baja del etanol, la penetración de las nanoemulsiones a través de las membranas fisiológicas lipófilas de la piel puede alterarse. Como resultado, la estabilidad de la nanoemulsión, así como su biodisponibilidad, es decir, su penetración en tejidos, se reduce. Además, el etanol es un alcohol muy caro en comparación con otros tipos de alcohol, tales como alcohol isopropílico. Además, el etanol está sujeto a un impuesto especial de alcohol en ciertas condiciones en varios
60 países.

Por lo tanto, un objetivo de la presente invención fue proporcionar una nanoemulsión que supere las desventajas de las mencionadas en la técnica anterior y que, en particular, muestre las propiedades físicas óptimas que pueden
65 mejorar la estabilidad, así como la penetración en células y tejidos, siendo al mismo tiempo menos cara que las nanoemulsiones del estado de la técnica.

Este objetivo se consigue de acuerdo con la presente invención proporcionando una nanoemulsión que comprende a) al menos un componente acuoso y b) un vehículo, que comprende i) al menos un componente lipófilo que está presente en una cantidad el 0,1% en peso al 15% en peso, ii) al menos un tensioactivo y iii) al menos un alcohol, donde el al menos un alcohol tiene de tres a cinco átomos de carbono, y donde el diámetro medio de las partículas emulsionadas es de menos de 100 nm.

Los inventores ahora han descubierto que una nanoemulsión de acuerdo con la invención tiene un tamaño medio de partícula óptimamente inferior con una estrecha distribución de tamaños de partícula. La reducción del tamaño de partícula contribuye a una estabilidad mejorada y una mejor penetración en las células y tejidos de la nanoemulsión.

El componente i) del vehículo, es decir, el componente lipófilo, está presente en una cantidad del 0,1% en peso al 15% en peso, más preferiblemente del 1% en peso al 8% en peso y mucho más preferiblemente del 3% en peso al 4% en peso, basado en el peso total de la nanoemulsión. La cantidad de componente ii) del vehículo, es decir, el tensioactivo o tensioactivos, está preferiblemente presente en una cantidad del 1% en peso al 30% en peso, más preferiblemente del 2% en peso al 15% en peso y mucho más preferiblemente del 4% en peso al 6% en peso, basado en el peso total de la nanoemulsión. La cantidad de componente iii) del vehículo, es decir, el alcohol, está preferiblemente presente en una cantidad del 0,1% en peso al 10% en peso, más preferiblemente del 0,5% en peso al 5% en peso y mucho más preferiblemente del 1% en peso al 2% en peso, basado en el peso total de la nanoemulsión.

El componente acuoso está preferiblemente presente en la nanoemulsión en una cantidad del 50% en peso al 98% en peso, más preferiblemente del 70% en peso al 95% en peso y mucho más preferiblemente del 88% en peso al 92% en peso, basado en el peso total de la nanoemulsión. De forma ventajosa, esta constitución específica de la nanoemulsión conduce a una nanoemulsión que es muy tolerable para la piel y no provoca un tacto pegajoso durante la aplicación a la piel que se debe, entre otras cosas, a la proporción relativamente baja de tensioactivos y componentes lipófilos.

En una realización preferida de la presente invención, la nanoemulsión comprende como tensioactivo un tensioactivo de formación de membrana y un cotensioactivo de formación de emulsión de aceite/agua. La relación ponderal de la cantidad de tensioactivo de formación de membrana:cotensioactivo de formación de emulsión de aceite/agua varía de 0,1:1 a 10:1, preferiblemente de 0,2:1 a 0,8:1, más preferiblemente de 0,4:1 a 0,6:1.

De acuerdo con la invención, el al menos un alcohol tiene 3-5 átomos de carbono y mucho más preferiblemente 3 átomos de carbono. Los alcoholes particularmente adecuados que tienen 5 átomos de carbono son 1-pentanol y/o 4-metil-2-pentanol. Los alcoholes adecuados que tienen 4 átomos de carbono son alcohol 1-butílico, alcohol terc-butílico (2-metil-2-propanol) y/o alcohol sec-butílico (2-butanol). Los más preferidos son alcoholes que tienen 3 átomos de carbono, concretamente alcohol 1-propílico y alcohol isopropílico, donde se prefiere alcohol isopropílico. Usando un alcohol C3, en particular, alcohol isopropílico en la nanoemulsión de la invención, los presentes inventores han descubierto que la nanoemulsión muestra un tamaño de partícula reducido y una distribución más estrecha de los tamaños de partícula, así como una estabilidad mejorada y una penetración potenciada en tejidos, en comparación con las nanoemulsiones del estado de la técnica que usan etanol como alcohol. Esto fue sorprendente, ya que isopropanol y el etanol son muy similares en sus características fisiológicas y químicas.

Cuando se usa isopropanol como alcohol en la nanoemulsión de la invención, el tamaño de las partículas emulsionadas es más pequeño en comparación con el uso de etanol. Debido a la superficie de contacto aumentada resultante de la nanoemulsión con la piel, se aumentan las propiedades de penetración. La reducción del tamaño de partícula es también decisiva para una estabilidad mejorada de la nanoemulsión, ya que se sabe que la tasa de aglutinación de partículas que finalmente conduce a la separación de fases aumenta con el tamaño de partícula. Los efectos ventajosos del isopropanol pueden deberse a su hidrofobicidad ligeramente mayor, que puede provocar una mejor capacidad de penetrar a través de las membranas fisiológicas lipófilas. Además, el isopropanol tiene una mayor viscosidad (Pa·s (cp) a 25°C de 0,00232 Pa·s (2,32)) en comparación con etanol (viscosidad/Pa·s (cp), 25°C, 0,0011 (1,10)). Dicha mayor viscosidad del isopropanol puede servir para un mejor mecanismo de estabilización en nanoemulsiones, ya que la viscosidad reduce la movilidad de las moléculas. Una ventaja adicional del isopropanol en comparación con el etanol es que está disponible a costes relativamente bajos, que es aproximadamente 1/3 de los costes del etanol, y está libre de un impuesto adicional de alcohol.

Preferiblemente, el al menos un componente lipófilo del vehículo de la nanoemulsión de la invención es un lípido, un aceite vegetal y/o un aceite animal. Los lípidos adecuados de acuerdo con la presente invención son lípidos fisiológicamente aceptables tales como ceramida, mono-, di- y triacilglicerina (triglicéridos), en particular, triglicérido caprílico y/o cáprico y/o una mezcla de los mismos, de forma particularmente preferible Miglyol (tal como Miglyol 812 o Myritol 318 disponible, por ejemplo, en Henkel). Los aceites vegetales y animales adecuados, por ejemplo, son aceite de girasol, aceite de soja, aceite de cacahuete, aceite de colza, aceite de pescado y/o cetáceo.

Un tensioactivo de formación de membrana adecuado es un fosfolípido, un lisofosfolípido, una ceramida y/o una mezcla de los mismos. Preferiblemente, el fosfolípido es lecitina o cefalina de granos de soja o huevos de gallina,

más preferiblemente la lecitina es lecitina de soja.

Preferiblemente, la lecitina tiene un contenido de fosfatidilcolina de al menos un 80% en peso, más preferiblemente de al menos un 90% en peso y mucho más preferiblemente de al menos un 94% en peso. Los inventores han descubierto que la calidad de la lecitina, concretamente su contenido de fosfatidilcolina, desempeña un papel crucial para el tamaño de las partículas de la nanoemulsión. Cuanto mayor sea el contenido de fosfatidilcolina de la lecitina, más pequeño será el tamaño de las partículas de la nanoemulsión.

Como cotensioactivo de formación de emulsión de aceite/agua, los tensioactivos aniónicos, no iónicos, catiónicos y/o anfóteros son adecuados, así como copolímeros de bloque. Los tensioactivos aniónicos adecuados son jabones, sulfonatos de alquilbenceno, sulfonatos de alcano, alquilsulfatos y/o éter sulfatos de alquilo. Los tensioactivos catiónicos adecuados son compuestos de amonio cuaternario, preferiblemente que tienen uno o dos grupos hidrófobos (por ejemplo, bromuro de cetiltrimetilamonio y cloruro de cetiltrimetilamonio) y/o sales de aminas primarias de cadena larga. Un tensioactivo anfótero adecuado es N-(acilamidoalquil)betaina, N-alkil-β-aminopropionato y/o amina-N-óxido. Un copolímero de bloque adecuado, por ejemplo, es óxido de propileno. En el alcance de la presente invención, un tensioactivo no iónico es particularmente preferido como cotensioactivo de formación de emulsión de aceite/agua. Un tensioactivo no iónico adecuado se selecciona del grupo que consiste en poliglicoléter de alcohol graso, poliglicoléter de alquifenol, alquilpoliglucósido, glucamida de ácido graso, poliglicoléter de ácido graso, polímero de bloque de óxido de etileno-óxido de propileno, éster de ácido graso de poliglicerol, alcanolamida de ácido graso y éster de ácido graso de sorbitán (etoxilado) (sorbitán). Un éster de ácido graso de sorbitán etoxilado particularmente preferido es monooleato de polioxietileno sorbitán, mucho más preferiblemente Polisorbato 80.

El componente acuoso de la nanoemulsión de la presente invención preferiblemente comprende un sistema tamponante débil con bajo contenido salino, más preferiblemente un tampón fosfato 5 mM a 30 mM y mucho más preferiblemente tampón fosfato 10 mM. El valor de pH del tampón fosfato preferiblemente varía de pH 4 a pH 8, más preferiblemente de pH 5 a pH 7 y es mucho más preferiblemente de pH 5,5 a pH 6,5. El agua usada para preparar el tampón fosfato es preferiblemente agua desionizada estéril y/o agua para inyecciones, más preferiblemente agua para inyecciones.

El diámetro medio de las partículas emulsionadas en la nanoemulsión (nanosomas) es de 5 nm a menos de 100 nm, preferiblemente de 10 nm a menos de 100 nm, más preferiblemente de menos de 100 nm, particularmente, hasta 90 nm, preferiblemente hasta 70 nm, aún más preferiblemente de 10 nm a 50 nm y mucho más preferiblemente de 15 nm a 35 nm. La distribución de tamaños de las nanopartículas es preferiblemente monodisperso y sigue la distribución gaussiana. El diámetro de las partículas emulsionadas de la invención se determina mediante la distribución de tamaños de partículas, que se mide por el método de dispersión de luz dinámica (DLS) (también llamada espectroscopía de correlación de fotones (PCS)). El análisis estadístico de la distribución de las partículas se realiza por un método llamado distribución ponderada en número de partículas de acuerdo con la presente invención.

Un asunto adicional de la presente invención es un proceso para la preparación de la nanoemulsión de acuerdo con la invención, que comprende las siguientes etapas: a) proporcionar un componente acuoso, b) proporcionar un vehículo que comprende al menos un componente lipófilo, al menos un tensioactivo y al menos un alcohol, donde el alcohol tiene al menos tres átomos de carbono y c) mezclar el componente acuoso de la etapa a) con el vehículo de la etapa b). En la preparación de la nanoemulsión, los componentes del vehículo se proporcionan en el componente acuoso y la mezcla se convierte en una nanoemulsión por homogeneización intensiva o suave. La homogeneización puede realizarse, por ejemplo, por homogeneizadores disponibles en el mercado. Después de la preparación de la nanoemulsión, pueden añadirse aditivos y excipientes adicionales, cuya presencia no es apropiada durante la homogeneización.

El proceso para la preparación de una nanoemulsión preferiblemente se realiza en condiciones asépticas, por ejemplo, usando una campana de flujo laminar.

Los inventores descubrieron que, además de la composición, algunas etapas del proceso de preparación son decisivas para el tamaño final y la distribución de tamaños de partícula de las partículas emulsionadas en la nanoemulsión. Particularmente, la temperatura y las condiciones de homogeneización durante la etapa c desempeñan un papel principal. La etapa c se realiza a una temperatura entre 50 a 60°C. Todos los ingredientes se calientan previamente hasta esta temperatura. El recipiente y la mezcladora también deben optimizarse para conseguir una mezcla homogénea muy rápida de los componentes (en segundos) evitando la formación de espuma. Véase el Ejemplo 1 para una ilustración de dicho procedimiento. Como alternativa, la homogeneización no requiere dispositivos de alto corte tales como sonicadores o homogeneizadores de alta presión.

Un aspecto adicional de la presente invención es una composición farmacéutica y/o cosmética que comprende la nanoemulsión de la invención. La nanoemulsión de la invención es adecuada en el campo de cosmética, por ejemplo, como agente antienvjecimiento, ya que proporciona un vehículo elegante, translúcido y transparente que puede usarse para una diversidad de tipos diferentes de producto. La nanoemulsión proporciona un sistema en

equilibrio muy delicado, que tiene niveles relativamente bajos de emulsionantes que se consideran irritantes. La nanoemulsión de la invención retiene la transparencia o translucidez deseable, es capaz de acomodar una cantidad razonable de aditivos tales como fragancias o hidratantes, permaneciendo al mismo tiempo estables, suaves y delicados sobre la piel del usuario debido al bajo nivel de emulsionante. Para el uso pretendido del producto final en el caso de cosméticos, es posible añadir agentes no terapéuticos o no activos tales como emolientes, aromas, colorantes, fragancias, gelificantes, espesantes, protectores solares y similares, que potencian el uso final de un producto, particularmente con fines cosméticos tópicos, y se tiene cuidado previsto para evitar elegir componentes que interferirán con la calidad del producto. El producto final puede adoptar la forma de una leche, crema, loción, gel, suero o pulverización líquida, entre otras. En el caso de protectores solares, las nanoemulsiones de la invención pueden incorporar uno o más agentes protectores solares tales como benzofenonas, avobenzonas, cinamatos, salicilatos y similares.

Las nanoemulsiones también pueden emplearse en composiciones farmacéuticas, en particular, pueden usarse para la fabricación de un medicamento tópico para el tratamiento de enfermedades dermatológicas tales como neurodermatitis, psoriasis, queratosis, en particular, queratosis actínica y enfermedades asociadas con la proliferación celular, tales como enfermedades tumorales. Preferiblemente, la enfermedad tumoral se selecciona del grupo que consiste en carcinoma basocelular, carcinoma escamocelular, Morbus Bowen, neoplasia intraepitelial vulvar (VIN) o una enfermedad cancerosa nodular o subcutánea. Además, la nanoemulsión es adecuada para el tratamiento de enfermedades asociadas a virus causadas por un virus del papiloma humano tal como condiloma acuminado. Incorporando el componente lipófilo de la nanoemulsión, la pérdida transepidermica de agua puede verse influida ventajosamente, es decir, la función de barrera de la piel puede potenciarse y, por tanto, pueden verse afectadas ventajosamente enfermedades dermatológicas tales como neurodermatitis.

Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a una composición que comprende la nanoemulsión de la invención y un agente activo. A este respecto, la composición es particularmente útil como composición farmacéutica y/o cosmética, por ejemplo, para la aplicación a la piel o el cabello. Las nanoemulsiones de la invención comprendidas en dichas composiciones proporcionar un sistema de suministro muy eficaz para una amplia diversidad de agentes activos. Ejemplos de agentes activos que pueden ser útiles incluyen agentes para la erradicación de manchas de envejecimiento, queratosis y arrugas, analgésicos, anestésicos, agentes antiacné, antibacterianos, agentes antilevaduras, agentes antifúngicos, agentes antiviricos, agentes anticaspa, agentes antidermatitis, agentes antipruríticos, antieméticos, agentes antimareos, agentes antiinflamatorios, agentes antihiperqueratolíticos, agentes antixerosis de la piel, desodorantes, agentes antipsoriásicos, agentes antiborréicos, acondicionadores del cabello y agentes de tratamiento del cabello, agentes antienvjecimiento, agentes antiarrugas, agentes antiasmáticos y broncodilatadores, agentes protectores solares, agentes antihistamínicos, agentes de aclaramiento de la piel, agentes de despigmentación, vitaminas, corticosteroides, hormonas, retinoides tales como ácido retinoico y retinol, agentes cardiovasculares tópicos, clotrimazol, cetoconazol, miconazol, griseofulvina, hidroxizina, difenhidramina, pramoxina, lidocaína, procaína, mepivacaína, monobenzona, eritromicina, tetraciclina, clindamicina, kanamicina, meclocilina, hidroquinona, minociclina, naproxeno, ibuprofeno, teofilina, cromolina, albuterol, esteroides tópicos tales como hidrocortisona, 21-acetato de hidrocortisona, 17-valerato de hidrocortisona y 17-butilato de hidrocortisona, valerato de betametasona, dipropionato de betametasona, acetonida de triamcinolona, fluocinonida, propionato de clobetasol, peróxido de benzoilo, crotamitón, propranolol, prometazina, palmitato de vitamina A, acetato de vitamina E y mezclas de los mismos.

En una realización preferida de la presente invención, el agente activo se selecciona del grupo que consiste en ácido 5-aminolevulínico, un derivado, precursor y/o metabolito del mismo. "Derivado" debe entenderse como que es, en particular, una esterificación del grupo amino de ácido 5-aminolevulínico sustituido con uno o dos grupos alquilo, de forma particularmente preferible con un grupo metilo. El derivado más preferido es ácido metilaminolevulínico. La derivatización puede entenderse también como complejos de sales y compuestos de adición, así como compuestos alquilados. "Precursor" y "metabolito" deben entenderse como sustancias convertidas en una célula en protoporfirina IX. El agente activo ácido 5-aminolevulínico o un derivado del mismo es especialmente preferido.

El ácido 5-aminolevulínico se usa como profármaco en el campo de terapia fotodinámica. La terapia fotodinámica es un método prometedor para el tratamiento de diferentes enfermedades premalignas y malignas que están asociadas con la proliferación celular (Taylor EL y Brown SB, 2002, Journal of Dermatological treatment, 13, Supl. 1, S3-11 y Peng Q. et al., 1997, Cancer, 79, S2282-2308). El principio de la terapia fotodinámica se basa en la introducción de un llamado agente fotosensibilizante en el tejido lesionado y posterior radiación con luz de la longitud de onda apropiada para transformar el agente en un agente citotóxicamente activo que, a su vez, causa la destrucción de la célula. La selectividad de este método se debe a la concentración potenciada del agente sensibilizante en células de proliferación rápida o lesionadas en comparación con tejido normal. Además, la irradiación del fotosensibilizador da lugar a una radiación de fluorescencia característica que puede usarse con fines de diagnóstico, por ejemplo, para detectar células en proliferación.

El ácido 5-aminolevulínico es una sustancia endógena que se sintetiza a partir de glicina y succinil-CoA dentro de las células. Dentro del ámbito de la biosíntesis de hemo, la protoporfirina IX, que es fotoactiva hasta un alto grado, se forma a partir de ácido 5-aminolevulínico (5-ALA) y después se convierte en hemo. Este mecanismo de control se esquiva administrando de forma exógena ácido 5-aminolevulínico preparado de forma sintética, dando lugar de ese

modo a una producción aumentada de protoporfirina IX. Como la degradación de la protoporfirina IX se inhibe adicionalmente por el mecanismo de control natural, este compuesto queda concentrado en las células. Cuando se irradia con luz, la protoporfirina IX es capaz de experimentar una reacción de oxidación fotoquímica y por consiguiente actúa como un fotosensibilizador para la terapia fotodinámica.

Las aplicaciones sistémicas del ácido 5-aminolevulínico está asociadas con varios efectos secundarios que puede esquivarse con la aplicación tópica del fármaco. Se conocen de la técnica anterior varias investigaciones usando que usan composiciones aplicables de forma tópica de ácido 5-aminolevulínico. Aunque estas investigaciones tienen la característica en común de que el ácido 5-aminolevulínico empleado está en forma de una emulsión de aceite en agua, existen diferencias con respecto a otros parámetros tales como el periodo de penetración, el periodo de tratamiento, el tipo de luz empleada y la dosis de luz empleada.

B. Thiele et al. (H+G, Vol. 69, n.º 3, pág. 161-164 (1994)) describen investigaciones que implican usar ácido 5-aminolevulínico al 20% en forma de una emulsión de aceite en agua, con un periodo de penetración de 5 a 6 h, y posteriormente irradiar con un láser de color bombeado con iones argón (pico de emisión 630 nm) que da una dosis total cumulativa de 50 a 100 J/cm².

Wolf et al. (Journal of the American Academy of Dermatology, Vol. 28, pág. 17-21, 1993) describen investigaciones que implican usar ácido 5-aminolevulínico al 20% en forma de una emulsión de aceite en agua, con un periodo de penetración de 4, 6 u 8 h, e irradiar con luz no filtrada o luz roja, dando una dosis de luz de 30 J/cm² a 100 J/cm².

Aunque las investigaciones descritas en la técnica anterior demuestran claramente el potencial prometedor de la terapia fotodinámica usando ácido 5-aminolevulínico, las emulsiones de aceite en agua conocidas hasta ahora tienen varias desventajas.

Por ejemplo, M. Novo Rodriguez et al. (SPIE, Vol. 2371, pág. 204-209) demostraron que, en las concentraciones de luz requeridas para una aplicación clínica, el ácido aminolevulínico es inestable en soluciones acuosas en un intervalo de pH neutro a básico. Durante el periodo de investigación de 25 h, se obtuvieron resultados satisfactorios solamente a una concentración del 3% y a un pH de 5, que se especifican como las condiciones óptimas para soluciones acuosas de ácido 5-aminolevulínico. Para uso clínico, sin embargo, en general será necesario proporcionar también composiciones en un intervalo de concentración mayor; además, para usarse de forma comercial, las soluciones de 5-ALA deben ser estables durante un periodo que esté en la dimensión de semanas o meses.

V. von Arx et al. (J. Pharm. Pharmacol. 49: 652-656, 1997) describen investigaciones relacionadas con la aplicación tópica de ácido 5-aminolevulínico en una diversidad de geles. Esta publicación establece que la mejor formulación para mantener la estabilidad del ácido 5-aminolevulínico es una combinación con Novion AA-1, un ácido poliacrílico, a un pH < 6.

Hürlimann et al. (Dermatology, Vol. 197, n.º 3, 1998, pág. 248-254) describen lociones nanocoloides que contienen ácido 5-aminolevulínico, así como el uso de las mismas en terapia fotodinámica, sin especificar adicionalmente la emulsión.

El documento WO 00/28971 describe composiciones que comprenden una nanoemulsión y ácido 5-aminolevulínico, donde la nanoemulsión consiste en lecitina de huevo (83% de fosfatidilcolina), Miglyol 812 (triglicérido) y polisorbato 80 en tampón fosfato 20 mM (véase el Ejemplo 1 del documento WO 00/28971), pero no se usa alcohol como disolvente. Las formulaciones nanocoloides que contienen lecitina de huevo como emulsionante, sin embargo, tienen la desventaja de que están notablemente más coloreadas que las nanoemulsiones de ácido 5-aminolevulínico que contienen lecitina de soja como emulsionante. El cambio de color en la formulación se correlaciona con la formación de un producto de degradación del agente activo ácido 5-aminolevulínico. Debe concluirse a partir de ello que las formulaciones de nanoemulsión que contienen lecitina de huevo implican una estabilización considerablemente reducida de ácido 5-aminolevulínico en comparación con formulaciones que contienen lecitina de soja como emulsionante.

Otra desventaja de las emulsiones conocidas de aceite en agua en combinación con ácido 5-aminolevulínico es que la profundidad de penetración del fotosensibilizador en el tejido dañado no es óptima. Como resultado, el tejido enfermo es susceptible a terapia fotodinámica solamente en sus capas superiores, aunque la profundidad de penetración de la luz usada para activar el fotosensibilizador también permitiría el tratamiento de capas que descansan más profundamente.

Por lo tanto, un objetivo adicional de la presente invención fue proporcionar composiciones que comprenden ácido 5-aminolevulínico, que superan, al menos parcialmente, las desventajas conocidas del estado de la técnica.

De acuerdo con la presente invención, este objetivo se consigue proporcionando una composición que comprende la nanoemulsión de la invención y ácido 5-aminolevulínico, un derivado, precursor y/o metabolito del mismo como agente activo. En estas composiciones, las propiedades ventajosas mencionadas anteriormente con respecto a la

estabilidad, penetración en los tejidos, así como los costes inferiores de las nanoemulsiones de la invención pueden utilizarse para transportar un ácido 5-aminolevulínico a sitios diana de tejidos.

5 Se ha descubierto una interacción específica entre el ácido aminolevulínico y las nanopartículas de la emulsión. En particular, el ácido 5-aminolevulínico, un derivado, precursor y/o metabolito del mismo, se fija al exterior de la monocapa de las nanopartículas de la nanoemulsión. Por tanto, el ácido aminolevulínico se transporta por las partículas mientras no está contenido dentro del núcleo de las partículas. En su lugar, el ácido aminolevulínico se localiza fuera del núcleo de las partículas debido a interacciones entre el ácido aminolevulínico y la otra monocapa. En nanoemulsiones convencionales. En contraste con esto, el fármaco está contenido dentro del núcleo lipídico de las partículas de la nanoemulsión.

10 Sorprendentemente, se ha descubierto que la estabilidad del ácido 5-aminolevulínico puede aumentarse considerablemente cuando el ácido 5-aminolevulínico se formula con la nanoemulsión de la invención que comprende al menos un alcohol que tiene de tres a cinco átomos de carbono. Aunque las razones para esto no son conocidas, parece que un microentorno creado por nanosomas tiene un efecto particularmente favorable sobre la estabilidad del ácido 5-aminolevulínico.

15 También ha resultado que, sorprendentemente, puede conseguirse una penetración celular y tisular mejorada con las nanoemulsiones de acuerdo con la invención, provocando que enfermedades que descansan más profundamente y/o enfermedades con grosor de capa mayor queden accesibles al tratamiento. Las mayores profundidades de penetración fueron sorprendentes especialmente porque se había asumido previamente que, debido a su pequeño tamaño, el ácido 5-aminolevulínico sería en cualquier caso fácilmente capaz de penetrar a través de una epidermis dañada que está presente, por ejemplo, en tejido asociado con inflamaciones, fases precancerosas y tumores.

20 Una tercera ventaja sorprendente es que, cuando se formula con nanosomas de acuerdo con la invención, el ácido 5-aminolevulínico se capta evidentemente de forma muy eficaz desde las células. Esto, en primer lugar, mejora el direccionamiento; en segundo lugar, significa que el periodo de penetración, es decir, el tiempo entre la aplicación de la composición y la irradiación del tejido enfermo con luz, puede reducirse, lo que significa un alivio distinto para el paciente. Como puede deducirse del Ejemplo 4, Fig. 5, la captación de ácido 5-aminolevulínico en células cultivadas y la conversión de ácido aminolevulínico en PpIX dentro de las células se potencia con concentraciones crecientes de la nanoemulsión de la invención con concentración constante de ácido aminolevulínico.

25 La estabilidad en almacenamiento, además, puede mejorarse mediante las nanoemulsiones de la invención que comprenden un alcohol que tiene de 3 a 5 átomos de carbono como un disolvente en el vehículo.

30 De acuerdo con la invención, la composición preferiblemente comprende un agente activo que se selecciona de ácido 5-aminolevulínico o un derivado, un precursor y/o un metabolito del mismo. "Derivativo" debe entenderse como que es, en particular, una esterificación del grupo amino del ácido 5-aminolevulínico sustituido con uno o dos grupos alquilo, de forma particularmente preferible con un grupo metilo. Es mucho más preferido el ácido 5-aminolevulínico o ácido 5-metilaminolevulínico. La derivatización puede entenderse también como complejos de sales y compuestos adicionales, así como compuestos alquilados.

35 "Precursor" y "metabolito" deben entenderse como sustancias convertidas en una célula en protoporfirina IX. El agente activo ácido 5-aminolevulínico o un derivado del mismo es especialmente preferido.

40 El tamaño de las partículas emulsionadas en la nanoemulsión (nanosomas) es como se ha dado anteriormente. El tamaño de partícula en cada caso depende de forma óptima de parámetros adicionales tales como la viscosidad de la composición. Por ejemplo, se obtuvieron buenos resultados con una nanoemulsión que tiene una viscosidad de 1 a 10 mPas a un diámetro de partícula promedio de menos de 100 nm.

45 La cantidad de agente activo, preferiblemente ácido 5-aminolevulínico, en la composición depende esencialmente de la aplicación pretendida. En una realización preferida, está presente de aproximadamente un 1 a un 30% en peso del agente activo, basado en el peso total de la composición. También son adecuadas, sin embargo, dosis mayores o inferiores. Una cantidad de preferiblemente un 3 a un 15% en peso, ha demostrado ser adecuada para aplicaciones en relación con terapia fotodinámica.

50 La composición de la invención preferiblemente puede comprender adicionalmente al menos un conservante y al menos un disolvente.

55 En una realización particularmente preferida, la composición se formular como un gel. Los agentes formadores de gel contenidos son agentes formadores de matriz, preferiblemente goma xantana. Aunque el tamaño de partícula de la nanoemulsión en forma de un gel también es de menos de 100 nm, la viscosidad es considerablemente mayor, por ejemplo, de 500 a 2000 mPas.

60 Un aspecto adicional de la presente invención es una composición farmacéutica, cosmética y/o de diagnóstico que

- comprende la composición de la invención. En este caso, la composición puede comprender adicionalmente aditivos y/o excipientes cosmética y/o farmacéuticamente aceptables, en particular, sustancias habitualmente usadas en cosmética o farmacia. Ejemplos de dichas sustancias son tampones, estabilizantes, emulsionantes adicionales, espesantes, etc. Además, la composición está libre de constituyentes que no son farmacéutica o diagnósticamente aceptables y preferiblemente libre de constituyentes que, por ejemplo, provocan irritación y/o distorsionan el diagnóstico. Además de las sustancias de vehículo que ya se han mencionado, la preparación farmacéutica y/o de diagnóstico puede contener adyuvantes o/y aditivos adicionales que sean aceptables y preferiblemente bien tolerados.
- Preferiblemente, la composición está presente como líquido o semisólido. Los líquidos adecuados dentro del alcance de la presente invención se seleccionan del grupo que consiste en una solución, preferiblemente gotas, una pulverización, un aerosol, una emulsión o una loción. Los semisólidos adecuados dentro del alcance de la presente invención se seleccionan del grupo que consiste en una pomada, una crema (emulsión de aceite/agua), una crema grasa (emulsión de agua/aceite), un gel, una loción, una espuma, una pasta y/o una suspensión.
- Para aplicaciones dermatológicas y ginecológicas, la preparación está preferiblemente en una forma que es adecuada para administración tópica, especialmente en forma de gel. La preparación posee propiedades, por ejemplo, viscosidad y reología, que son favorables para la forma respectiva de aplicación deseada para asegurar que, después de haber administrado la preparación, los nanosomas cargados con ácido 5-aminolevulínico penetren en un grado adecuado en el tejido diana. Dichas propiedades de viscosidad y reología pueden ajustarse añadiendo espesantes tales como éteres estearílicos de polietilenglicol, estearatos de polietilenglicol y/o polisacáridos tales como polisacárido B-1459, por ejemplo.
- En una realización particularmente preferida, la composición de la invención es un gel. Los geles muestran propiedades galénicas mejoradas en comparación con las formulaciones mencionadas anteriormente. La formulación de gel de la invención muestra mejor adhesividad, estabilidad, liberación de agente activo y tolerancia sobre la piel y sobre membranas mucosas. El gel de la invención preferiblemente comprende de un 0,01% en peso a un 50% en peso, más preferiblemente de un 0,5% en peso a un 30% en peso y mucho más preferiblemente de un 1% en peso a un 20% en peso del agente activo, de un 1% en peso a un 60% en peso, más preferiblemente de un 15% en peso a un 50% en peso, mucho más preferiblemente de un 10% en peso a un 30% en peso de la nanoemulsión, de un 0,01% en peso a un 4% en peso, más preferiblemente de un 1% en peso a un 3% en peso del al menos un agente de carga, de un 1% en peso a un 3% en peso de al menos un conservante, basado en el peso total de la composición y haciendo el equilibrio el al menos un disolvente.
- Un aspecto adicional de la presente invención es un proceso para la preparación de la composición de la invención, que comprende las siguientes etapas:
- proporcionar un componente acuoso,
 - proporcionar un vehículo que comprende al menos un componente lipófilo, al menos un tensioactivo y al menos un alcohol, donde el al menos un alcohol tiene al menos de tres a cinco átomos de carbono,
 - mezclar el componente acuoso de la etapa a) con el vehículo de la etapa b), para formar una nanoemulsión,
 - añadir el agente activo antes y/o después de la formación de dicha nanoemulsión de la etapa c), y
 - opcionalmente añadir aditivos y/o excipientes adicionales a la etapa d).
- De forma particularmente preferible, el agente activo en la etapa d) se añade después de la formación de dicha nanoemulsión de la etapa c).
- El proceso se realiza preferiblemente en condiciones asépticas, por ejemplo, usando una campana de flujo laminar. El componente acuoso, el vehículo y el agente activo que se emplean en el proceso mencionado anteriormente tienen los mismos significados preferidos y adecuados mencionados anteriormente. La mezcla del componente acuoso con el vehículo se realiza preferiblemente por homogeneización intensiva. El ácido 5-aminolevulínico y opcionalmente los presentes aditivos y/o excipientes pueden añadirse antes y/o después de la homogeneización, preferiblemente después de la homogeneización.
- Preferiblemente, se excluye el aire mientras se realiza el proceso, por ejemplo, mediante la aplicación de un vacío y/o una atmósfera de gas protectora. Además, se prefiere implementar el proceso excluyendo al mismo tiempo la luz.
- El proceso se realiza a una temperatura a la que la nanoemulsión deseada puede formarse como se ha mencionado anteriormente y, para las últimas etapas, los constituyentes, en particular, la sustancia activa, es adecuadamente estable. En general, se ha descubierto que un intervalo de temperatura de aproximadamente 5 a 30°C es adecuado. Sin embargo, el procesamiento de aditivos y/o excipientes que, por ejemplo, se mezclan primero y se homogeneizan cuando sea apropiado, en una mezcla diferente, y solamente después de añadirse a la composición, también puede realizarse a temperaturas mayores, por ejemplo, hasta aproximadamente 70°C. Especialmente para aplicación farmacéutica, se tiene cuidado de asegurar que el producto resultante sea estéril, por ejemplo, usando materiales de partida estériles y manteniendo las condiciones del proceso estériles o/y mediante una etapa de esterilización

después de la preparación.

En el campo de la cosmética, la composición de la invención se usa preferiblemente como agente antienvjecimiento, por ejemplo, para la erradicación de manchas de envejecimiento, arrugas y/o contra la piel seca.

Un área importante de uso para las composiciones de acuerdo con la invención es en el campo de terapia fotodinámica, dándose particular preferencia a la aplicación de la nanoemulsión de forma tópica. La nanoemulsión de acuerdo con la invención puede emplearse en el caso de todas las enfermedades cuyo control comprende inhibir la proliferación o destruir células o tejidos fotoactivando un sensibilizador que se forma a partir de ácido 5-aminolevulínico. Las enfermedades, en particular, incluyen enfermedades asociadas a virus, seleccionándose el virus preferiblemente del grupo de virus del papiloma humano (HPV). Más preferiblemente, la enfermedad asociada a virus es condiloma acuminado. El condiloma acuminado se define como epitelomas benignos de génesis vírica que se localizan casi exclusivamente de forma genitoanal, cuyo patógeno es virus del papiloma humano (HPV) de tipo 6, 11 y 42. En el curso de la enfermedad, pápulas del tamaño de una cabeza de alfiler desarrollan proliferaciones papilares de tipo coliflor y cresta de gallo.

Las composiciones de la invención también son adecuadas para tratar enfermedades dermatológicas tales como enfermedades asociadas con queratosis, siendo la queratosis actínica especialmente preferida. La queratosis actínica es un carcinoma escamocelular de epidermis *in situ*. La queratosis actínica es una proliferación de queratinocitos transformados que se limita a la epidermis. La queratosis actínica se induce predominantemente por exposición crónica a radiación ultravioleta, especialmente la luz del sol (también llamada queratosis solar). La queratosis actínica se manifiesta en sí mismo como máculas escamosas gruesas, pápulas o placas de aproximadamente 1 mm a aproximadamente 2 cm de diámetro.

Además, las composiciones de la invención están pretendidas preferiblemente para el tratamiento de enfermedades asociadas con proliferación celular aumentada ya que, en ese caso, el fotosensibilizador se concentra hasta un grado particularmente alto por el metabolismo celular aumentado en células enfermas.

Las composiciones de acuerdo con la invención, por consiguiente, son adecuadas para tratar enfermedades tumorales tales como adenoma basocelular, carcinoma escamocelular. Morbus Bowen, neoplasia intraepitelial vulvar (VIN) y/o enfermedades cancerosas nodular y/o subcutáneas. La psoriasis es un ejemplo de una enfermedad no tumoral asociada con proliferación celular aumentada.

Las composiciones de la invención son especialmente preferidas para el tratamiento de adenoma basocelular. El adenoma basocelular se caracteriza como un tumor epitelial que crece invasiva y destructivamente de forma local, sin embargo, metastatiza solamente muy pocas veces y, por lo tanto, se considera como semimaligno. Está principalmente localizado (el 80%) en la región de la cabeza y el cuello, especialmente en la región de la frente, la esquina del ojo y la nariz. En el caso de progresión desfavorable, se produce destrucción tisular e incluso muerte, por ejemplo, por erosión del hueso y vascular y hemorragia asociada con ello, así como por invasión en el SNC. El adenoma basocelular se origina a partir de células degenerativas de la capa germinal (capa basocelular) de la epidermis y/o la vaina radicular exterior de los folículos capilares. En contraste con las células basales sanas que normalmente pierden su capacidad de división cuando pasan a través de la epidermis, se descomponen y reforman la capa córnea, las células del basalioma mantienen su capacidad de división y ya no son capaces de formar la capa córnea.

La invención se refiere adicionalmente al uso de la nanoemulsión de acuerdo con la invención para la fabricación de un medicamento en terapia fotodinámica.

Por tanto, el tratamiento de las enfermedades mencionadas anteriormente se logra, por ejemplo, aplicando de forma tópica una nanoemulsión que contiene el agente activo, por ejemplo, ácido 5-aminolevulínico, y posteriormente incubando para permitir que una cantidad adecuada del ácido 5-aminolevulínico penetre en el tejido que se está tratando. Durante la incubación, la irradiación del área tratada con luz se evita preferiblemente, por ejemplo, cubriéndola, para prevenir cualquier activación prematura indeseable. Después de que el periodo de incubación, que es generalmente de aproximadamente 1 a 8 h y habitualmente de 4 h, haya cumplido, el tejido se irradia con una dosis adecuada de radiación usando una fuente de luz. Las fuentes adecuadas de luz incluyen lámparas que emiten luz blanca y también fuentes de luz monocromática. Las dosis de radiación normalmente están en un intervalo de aproximadamente 20 J/cm² a varios 100 J/cm² por aplicación.

Otro campo de aplicación del ácido gel de 5-aminolevulínico de acuerdo con la invención se refiere a la detección de la presencia de células en proliferación en una muestra, por ejemplo, en una muestra tisular. La detección se basa en concentrar de forma selectiva un fotosensibilizador, que se produce por metabolismo del agente activo, en células en proliferación en comparación con células normales. Preferiblemente, el agente activo es ácido 5-aminolevulínico y el fotosensibilizador es protoporfirina IX. El grado al que el fotosensibilizador se ha concentrado puede determinarse mediante métodos de fotodiagnóstico, por ejemplo, irradiando con luz que tiene una longitud de onda de 405 nm y midiendo la radiación de fluorescencia generada por el fotosensibilizador. Las nanoemulsiones de acuerdo con la invención son particularmente adecuadas para su uso en diagnóstico de tumores.

- Además, la invención se refiere a un kit que comprende una composición de acuerdo con la invención, que comprende las nanoemulsiones de la invención y ácido 5-aminolevulínico, un derivado, precursor y/o metabolito del mismo, que es adecuado para aplicarse de forma tópica, y una o más sustancias auxiliares. Ejemplos de estas sustancias auxiliares son un material de cobertura fotorresistente esencial tal como una película de plástico que se aplica al sitio a tratarse después de haber aplicado la nanoemulsión a dicho sitio para prevenir la activación prematura por luz, y un medio para fijar el material de cobertura o un medio distinto para aplicar la nanoemulsión al sitio a tratarse.
- Además, la invención se refiere al uso de una nanoemulsión y/o una composición como se describe en este documento para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad asociada a virus, una enfermedad dermatológica y/o una enfermedad asociada con proliferación celular. Preferiblemente, la composición es para su administración a un mamífero, más preferiblemente a un ser humano.
- Además, la invención se refiere a una composición que comprende las nanoemulsiones como se describe en este documento para su uso para el tratamiento de enfermedades dermatológicas, para su uso para el tratamiento de una enfermedad asociada con proliferación celular, para su uso en la terapia fotodinámica, para su uso para la detección de células en proliferación y para su uso para el diagnóstico de enfermedades dermatológicas y/o tumorales.
- Además, la invención se refiere a una composición que comprende la nanoemulsión como se describe en este documento y un agente activo para su uso para el tratamiento de una enfermedad asociada a virus, para su uso para el tratamiento de enfermedades dermatológicas, para su uso para el tratamiento de una enfermedad asociada con proliferación celular, para su uso en la terapia fotodinámica, para su uso para la detección de células en proliferación y para su uso para el diagnóstico de enfermedades dermatológicas y/o tumorales.
- Se describe adicionalmente una composición que comprende un agente activo seleccionado del grupo que consiste en ácido 5-aminolevulínico, un derivado, precursor y/o metabolito del mismo, y una nanoemulsión, donde las nanoemulsiones comprenden un alcohol.
- Preferiblemente, la composición y, en particular, la nanoemulsión comprende adicionalmente al menos un componente acuoso, preferiblemente agua, y al menos un componente lipófilo y/o al menos un tensioactivo.
- Se usa el ácido 5-aminolevulínico, un derivado, precursor y/o metabolito del mismo que es adecuado para aplicarse de forma tópica. "Derivado" debe entenderse como que es, en particular, una esterificación del grupo amino del ácido 5-aminolevulínico con uno o dos grupos alquilo, de forma particularmente preferible con un grupo metilo. Lo más preferido es el ácido 5-aminolevulínico o ácido 5-metilaminolevulínico. La derivatización puede entenderse también como complejos de sales y compuestos de adición, así como compuestos alquilados. "Precursor" y "metabolito" deben entenderse como sustancias convertidas en una célula en protoporfirina IX. El agente activo ácido 5-aminolevulínico o un derivado del mismo es especialmente preferido.
- Como alcohol, se usa un alcohol C₃ a C₅, y el isopropanol y/o alcohol 1-propílico es más preferido por las razones dadas anteriormente.
- Preferiblemente, el ácido aminolevulínico, un derivado, precursor y/o metabolito del mismo se fija a la monocapa exterior de las partículas de la nanoemulsión. El ácido aminolevulínico por tanto se localiza fuera del núcleo de las partículas que se debe a interacciones entre el ácido aminolevulínico y la monocapa exterior.
- Preferiblemente, el al menos un componente lipófilo es Miglyol, el al menos un tensioactivo es lecitina, preferiblemente lecitina de soja y/o un tensioactivo de tipo polioxietileno, preferiblemente Polisorbato 80.
- Un aspecto adicional de la invención se refiere a una composición farmacéutica y/o de diagnóstico que comprende la composición mencionada anteriormente.
- Un aspecto adicional de la presente invención se refiere al uso de dicha nanoemulsión en composiciones farmacéuticas, en particular, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades dermatológicas tales como psoriasis, queratosis y, en particular, queratosis actínica. Además, la composición es adecuada para enfermedades asociadas con proliferación celular, tales como enfermedades tumorales, por ejemplo, carcinoma basocelular, carcinoma escamocelular, Morbus Bowen, neoplasia intraepitelial vulvar (VIN) o enfermedad cancerosa nodular y/o subcutánea. Además, la composición es adecuada para el tratamiento de enfermedades asociadas a virus tales como condiloma acuminado.
- Se describe adicionalmente una composición que comprende una nanoemulsión y un agente activo, donde el agente activo se fija a la monocapa exterior de las partículas de la nanoemulsión. Esto es particularmente útil para potenciar las propiedades químicas (por ejemplo, estabilidad) y propiedades farmacéuticas (por ejemplo, profundidad de penetración en la piel y biodisponibilidad) del agente activo.

Preferiblemente, la nanoemulsión y/o el agente activo se definen como para la composición descrita anteriormente (véase la página 9 ff de la descripción).

5 Se describe adicionalmente una composición farmacéutica y/o cosmética que comprende la composición, donde el agente activo se fija a la monocapa exterior de las partículas de la nanoemulsión.

10 Se describe adicionalmente también el uso de una composición que comprende una nanoemulsión y un agente activo, donde el agente activo se fija a la monocapa exterior de las partículas de la nanoemulsión para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad asociada a virus, dermatológica, asociada con la proliferación celular y/o en la terapia fotodinámica. Las realizaciones preferidas de dichas enfermedades y la terapia fotodinámica son como se ha mencionado anteriormente.

Las Figuras y los siguientes Ejemplos pretenden ilustrar adicionalmente la invención.

15 La Fig. 1 muestra la distribución de tamaños de partícula de un lote representativo de Nanoemulsión BF-200 medida por espectroscopía de correlación de fotones.

20 La Fig. 2 muestra micrografías electrónicas de fractura por congelación de Nanoemulsión B-200 (A) Aumento 1.200.000 veces, (B) Aumento 250.000 veces.

La Fig. 3 muestra micrografías electrónicas de tinción negativa de Nanoemulsión BF-200 (A) Aumento 1.200.000 veces, (B) Aumento 250.000 veces.

25 Fig. 4 muestra la fluorescencia de PpIX inducida por UV medida en células Hela incubadas durante tres horas con ALA y diferentes concentraciones de BF-200. La fluorescencia se midió dos horas después de retirar por lavado los medios.

30 La Fig. 5 muestra micrografías electrónicas de fractura por congelación del gel de ácido aminolevulínico con un aumento de 50.000 veces.

La Fig. 6 muestra micrografías electrónicas de fractura por congelación del gel de ácido aminolevulínico
(A) aumento 250.000 veces
(B) aumento 1.200.000 veces

35 Ejemplos

Ejemplo 1: Preparación de Nanoemulsión BF200

40 La composición cualitativa y cuantitativa de la nanoemulsión BF200 se da en la siguiente tabla.

Tabla 1. Composición de nanoemulsión BF200

<i>Ingrediente</i>	<i>% (p/p)</i>	<i>Función</i>	<i>Calidad</i>
Lecitina de soja	1,73	Tensioactivo	> 94% de fosfatidilcolina, para uso farmacéutico, USP
Polisorbato 80 (monooleato de polioxietilen sorbitol)	3,40	Cotensioactivo	Ph. Eur.
Triglicéridos caprílicos/cáprico	3,45	Núcleo lipídico	Ph. Eur.
Alcohol isopropílico	1,42	Disolvente	Ph. Eur.
Tampón fosfato 10 mM, pH 6	hasta 100,00	Disolvente	Agua para inyección: Ph. Eur Fosfato disódico e hidrogenofosfato sódico: Ph. Eur.

45 El proceso de fabricación para la emulsión BF200 consiste en las siguientes etapas:

Etapas 1: Preparación de un tampón fosfato 10 mM, pH 6 (componente acuoso).

Etapas 2: Preparación de un vehículo que contiene el componente lipófilo, los tensioactivos y el alcohol.

Etapas 3: Fabricación de la nanoemulsión mezclando el componente acuoso de la Etapa 1 y el vehículo de la Etapa 2.

50 **Etapas 4:** Esterilización con filtro y llenado de la nanoemulsión BF200 en frascos estériles de vidrio en campana de flujo laminar.

Descripción del proceso de fabricación para un tamaño típico de lote:

55 **Etapas 1:** Se preparó el tampón fosfato 10 mM (1000 g), pH 6, y el tampón fosfato se esterilizó por filtración a través de un filtro estéril de 0,2 µm.

Etapla 2: Preparación de un vehículo que contiene el componente lipófilo, los tensioactivos y el alcohol.

Tabla 2. Vehículo

Ingredientes	Peso (g)
Lecitina de soja	17,30
Polisorbato 80	34,00
Triglicérido caprílico, cáprico	34,50
Alcohol isopropílico	14,20

5 Se pesó la lecitina de soja (17,30 g) en un recipiente adecuado. Se añadió el alcohol isopropílico (14,20 g) y el recipiente se cubrió para evitar la evaporación del alcohol. Se disolvió la lecitina de soja en agitación continua con un agitador adecuado a temperatura ambiente. Se pesaron los triglicéridos caprílicos/cápricos (34,50 g) y el Polisorbato 80 (34,00 g) y se añadieron a la solución de lecitina de soja. La mezcla se agitó con un agitador adecuado a temperatura ambiente hasta que se obtuvo una solución transparente homogénea. Esta solución es el concentrado que contiene todos los emulsionantes y componentes lipídicos de Nanoemulsión BF200.

Etapla 3: Fabricación de una emulsión mezclando 900 g de tampón fosfato (de la Etapa 1) y 100 g de vehículo (de la Etapa 2).

15 En primer lugar, el componente acuoso que comprende el tampón fosfato se calentó hasta aproximadamente 55°C en un recipiente adecuado. Después, el vehículo (concentrado) de la etapa 2 se calentó hasta aproximadamente 55°C. Posteriormente, el vehículo se vertió al tampón fosfato en agitación continua con una mezcladora de hélice (700 rpm). La nanoemulsión resultante se agita durante 15 min. La temperatura se mantuvo a aproximadamente 55°C durante el procedimiento completo. Finalmente, la nanoemulsión se enfrió hasta temperatura ambiente en un baño de agua.

Etapla 4: La nanoemulsión se esterilizó por filtración a través de un filtro estéril de 0,2 µm y se llenó en frascos estériles de vidrio de 100 ml en campana de flujo laminar.

Ejemplo 2: Preparación de geles de ácido aminolevulínico al 1%, 3% y 10% y placebo

La composición cualitativa y cuantitativa del gel de placebo y los geles de ácido aminolevulínico al 1%, 3%, 10% se dan en la siguiente tabla.

Tabla 3. Composición de gel de placebo

Ingrediente	Cantidad por gramo de gel	Función	Calidad
Goma xantana	20,375 mg	Agente de carga	Ph.Eur.
Nanoemulsión BF200	175,0 mg	Vehículo	Propio
Propilenglicol	9,0 mg	Conservante	Ph.Eur.
Parahidroxibenzoato de metilo	0,7 mg	Conservante	Ph.Eur.
Parahidroxibenzoato de propilo	0,3 mg	Conservante	Ph.Eur.
Agua para inyección	794,625 mg	Disolvente	Ph.Eur.

Tabla 4. Composición de gel de ácido aminolevulínico al 1%

Composición	Cantidad por gramo de gel	Función	Calidad
Clorhidrato del ácido aminolevulínico	10,0 mg	Sustancia de fármaco	Propio
Goma xantana	20,125 mg	Agente de carga	Ph.Eur.
Nanoemulsión BF200	175,0 mg	Vehículo	Propio
Propilenglicol	9,0 mg	Conservante	Ph.Eur.
Parahidroxibenzoato de metilo	0,7 mg	Conservante	Ph.Eur.
Parahidroxibenzoato de propilo	0,3 mg	Conservante	Ph.Eur.
Agua para inyección	784,875 mg	Disolvente	Ph.Eur.

Tabla 5: Composición de gel de ácido aminolevulínico al 3%

Ingrediente	Cantidad por gramo de gel	Función	Calidad
Clorhidrato del ácido aminolevulínico	30,0 mg	Sustancia de fármaco	Propio
Goma xantana	19,625 mg	Agente de carga	Ph.Eur.
Nanoemulsión BF200	175,0 mg	Vehículo	Propio
Propilenglicol	9,0 mg	Conservante	Ph.Eur.
Parahidroxibenzoato de metilo	0,7 mg	Conservante	Ph.Eur.
Parahidroxibenzoato de propilo	0,3 mg	Conservante	Ph.Eur.
Agua para inyección	765,375 mg	Disolvente	Ph.Eur.

Tabla 6: Composición de gel de ácido aminolevulínico al 10%

35

Ingrediente	Cantidad por gramo de gel	Función	Calidad
Clorhidrato del ácido aminolevulínico	100,0 mg	Sustancia de fármaco	Propio
Goma xantana	17,875 mg	Agente de carga	Ph.Eur.
Nanoemulsión BF200	175,0 mg	Vehículo	Propio
Propilenglicol	9,0 mg	Conservante	Ph.Eur.
Parahidroxibenzoato de metilo	0,7 mg	Conservante	Ph.Eur.
Parahidroxibenzoato de propilo	0,3 mg	Conservante	Ph.Eur.
Agua para inyección	697,125 mg	Disolvente	Ph.Eur.

El proceso de fabricación para el gel de placebo o ácido aminolevulínico consiste en las siguientes etapas:

- 5 - Etapa 1: Fabricación de la base del gel mediante la adición de goma xantana a agua para inyección, mezcla y esterilización por vapor
- Etapa 2: Preparación de una solución concentrada de conservantes de parahidroxibenzoato de metilo y parahidroxibenzoato de propilo en propilenglicol
- Etapa 3, para placebo: Preparación de la formulación de gel final mediante la adición de la solución concentrada de conservantes a la base del gel, adición de Nanoemulsión BF200 a la base del gel y homogeneización del gel.
- 10 - Etapa 3, para geles de ácido aminolevulínico: Preparación de la formulación de gel final mediante la adición de la solución concentrada de conservantes a la base del gel. Preparación de una solución de clorhidrato del ácido aminolevulínico en Nanoemulsión BF200. Adición de la solución de clorhidrato del ácido aminolevulínico en Nanoemulsión BF200 a la base del gel y homogeneización del gel.

15 Descripción del proceso de fabricación:

Etapa 1: Preparación de base del gel con goma xantana

20 Se desinfectó un recipiente Stephan con isopropanol al 70%. Se puso agua para inyección (cantidad de 97,50 unidades) en el recipiente y después se extendió goma xantana (cantidad de 2,5 unidades) sobre el mismo. La mezcla se dispersó al vacío a una presión de aproximadamente 10.000 Pa (100 mbar) por minuto a 600 revoluciones durante 90 min. El gel base resultante se llenó en matraces Schott de 200 ml que se habían aclarado antes con agua para inyección (llenados 1/3 como mucho). El gel base en los matraces después se esterilizó con vapor en un autoclave durante 20 min a 121°C.

25

Etapa 2: Preparación de parabeni conc.

30 Se pesaron ácido metilparahidroxibenzoico (7,0 partes) y ácido propilparahidroxibenzoico (3,0 partes) en un recipiente adecuado. Se mezcló propilenglicol (90 partes) con esto y los parahidroxibenzoatos se disolvieron en propilenglicol. La mezcla se calentó en una placa de calentamiento mientras se agitaba con un agitador magnético hasta que la mezcla se disolvió (70°C) y se obtiene una solución transparente.

Etapa 3, parte 1: Preparación de gel de placebo

35

Tabla 7. Preparación de gel de placebo a partir del gel base y parabeni conc.

	Componentes	Cantidad en unidades
A	Base del gel	81,50
B	Nanoemulsión BF200	17,50
D	Parabeni conc. FH	1,0
	Total	100,0

40 Todas las siguientes etapas se realizaron en un flujo de aire laminar en condiciones asépticas. Se añadió una cantidad de 1 unidad de parabeni conc. (D) y una cantidad de 81,5 unidades de gel base (A) a un recipiente adecuado. Se filtra una cantidad de 17,5 unidades de nanoemulsión (B) a través de un filtro estéril de 0,2 µm y se añade al gel base. La mezcla se agita durante 10 min. Posteriormente, se llena una cantidad de 2 unidades del gel en cada tubo de aluminio laminado.

Etapa 3, parte 2: Preparación de gel de ácido aminolevulínico al 1%

45

Tabla 8. Preparación de gel de ácido aminolevulínico al 1%

	Componentes	Cantidad en unidades
A	Gel base	80,50
B	Nanoemulsión BF200	17,50
C	5 ALA (clorhidrato del ácido aminolevulínico)	1,00
D	Parabeni conc. FH	1,0
	Total	100,0

Todas las siguientes operaciones se realizaron en flujo de aire laminar en condiciones asépticas. Se proporcionó una cantidad de 1 unidad de parabeni conc. (D) y una cantidad de 80,5 unidades de gel base (A) en un recipiente adecuado. Se disolvió una cantidad de 1 unidad de ALA (C) en cantidades 17,5 unidades de nanoemulsión (B) por agitación suave hasta que se obtiene una solución. Dicha solución se filtra a través de un filtro estéril de 0,2 µm y se añade al gel base. La mezcla se agita durante 10 min para obtener un gel homogéneo. Posteriormente, se llenaron 2 g del gel en cada tubo de aluminio laminado.

Etapa 3, parte 3: Preparación de gel de ácido aminolevulínico al 3% y 10%

Se preparó un gel al 3% y uno al 10% de la misma manera que la descrita para el gel al 1%, sin embargo, usando una cantidad de 78,50 unidades de gel base y una cantidad de 3 unidades de ALA o una cantidad de 71,50 unidades de gel base y una cantidad de 10 unidades de ALA, respectivamente.

Ejemplo 3: Tamaño de partícula de Nanoemulsión BF-200

El tamaño medio de partícula de la nanoemulsión fabricada, evaluado por espectroscopía de correlación de fotones, PCS (también llamada dispersión dinámica de luz láser, DLS) es de menos de 100 nm. Además, la nanoemulsión se caracteriza por una distribución muy estrecha de tamaños de partícula (véase la Figura 1 a continuación).

La nanoemulsión es estable en un amplio intervalo de temperaturas, pero puede destruirse por congelación y autoclave. Las nanoemulsiones son relativamente insensibles a cambios en el pH y la fuerza iónica y a causa de su pequeño tamaño, pueden esterilizarse por filtración a través de un filtro de 0,2 µm. Las nanoemulsiones tienen el potencial de mejorar el suministro de sustancias activas en la piel, amplificando, por tanto, la eficacia de fármacos aplicados de forma tópica.

La Nanoemulsión BF-200 se fabrica usando tecnología de baja energía; es decir, la preparación de la nanoemulsión no requiere dispositivos de alto corte, tales como sonicadores u homogeneizadores de alta presión.

La investigación de las nanopartículas en Nanoemulsión BF-200 se realizó por espectroscopía de correlación de fotones y con dos técnicas de microscopía electrónica: EM de fractura por congelación y tinción negativa.

La espectroscopía de correlación de fotones confirmó que BF-200 produce una nanoemulsión con un tamaño muy constante y fiable de partículas y una estrecha distribución de partículas. Estas características son estables sobre un largo periodo de tiempo y diferentes temperaturas (véase la Tabla 9 a continuación).

Tabla 9: Resultados de un estudio de estabilidad de Nanoemulsión BF-200

Punto temporal Mes	Condición de almacenamiento	Aspecto	pH	Viscosidad 20°C	Tamaño medio de nanopartícula	Distribución de tamaño de nanopartículas	
Especificación		Líquido ligeramente opalescente	5,5-6,5	mPas informativo	<100 nm	90% <200 nm	
						Resultado	Des. típica
0	-	> opalescente	6,2	n.t.	15	90% < 21 nm	4,7
1	25°C/60% h.r.	> opalescente	6,2	n.t.	16	90% < 22 nm	4,6
	40°C/75% h.r.	> opalescente	6,2	n.t.	15	90% < 22 nm	5,7
2	5°C	> opalescente	6,2	1	12	90% < 17 nm	4,2
	25°C/60% h.r.	> opalescente	6,2	1	15	90% < 21 nm	4,7
3	5°C	> opalescente	6,2	6	14	90% < 20 nm	4,7
	25°C/60 %h.r.	> opalescente	6,1	1	14	90% < 20 nm	4,8
6	5°C	> opalescente	6,3	6	17	90% < 23 nm	5,0
	25°C/60% h.r.	> opalescente	6,3	6	14	90% < 20 nm	5,2
12	5°C	> opalescente	6,2	2	9	90% <12 nm	-
	25°C/60% h.r.	> opalescente	6,1	2	11	90% < 15 nm	-
18	5°C	> opalescente	6,2	10	13	90% < 18 nm	-
	25°C/60% h.r.	> opalescente	6,0	8	11	90% < 15 nm	-

En resumen, todos los resultados están dentro de los límites especificados después de hasta 12 meses de almacenamiento en diferentes condiciones de almacenamiento.

Se muestran micrografías electrónicas de fractura por congelación de Nanoemulsión BF-200 con un aumento de 1.200.000 veces y 250.000 en la Figura 2 a continuación. Las características más prominentes en las micrografías son una gran cantidad de vesículas esféricas muy pequeñas con un diámetro que varía entre 15 a 50 nm. Estos valores se correlacionan bien con los medidos por espectroscopía de correlación de fotones (véase la Tabla 9 anteriormente). Las vesículas son muy probablemente unilamelares ya que el grosor de la membrana de la vesícula

es de 3 - 4 nm. Esto corresponde con la longitud de una molécula de fosfatidilcolina, que es un componente principal de lecitina, el tensioactivo en la nanoemulsión. Los liposomas y otras vesículas de dos capas tienen un grosor de membrana por encima de 7 nm.

5 La estructura de las vesículas podría también observarse en micrografías electrónicas generadas por tinción negativa. Las nanopartículas en Nanoemulsión BF-200 son esféricas, de aproximadamente 20 nm de diámetro, con una cuenca de aproximadamente 3 a 4 nm de grosor y llenada con un material amorfo (véase la Figura 3 a continuación). No se encontraron partículas huecas.

10 La investigación de nanopartículas en gel de ácido aminolevulínico se realizó con microscopía electrónica usando técnicas de fractura por congelación y tinción negativa.

15 Las micrografías electrónicas de fractura por congelación de gel de ácido aminolevulínico confirman que las nanopartículas presentes en el gel tienen un tamaño similar a las de Nanoemulsión BF-200 pura. La micrografía ilustra partículas individuales, así como conglomerados (Fig. 5). La morfología y tamaño de las nanopartículas en el gel no están influenciados por las condiciones de almacenamiento. El examen de BF-200 ALA (10% de gel después de 4 meses de almacenamiento a 25°C (60% h.r.) por microscopía electrónica de fractura por congelación reveló partículas con tamaño y forma similar a los encontrados en gel recién fabricado. El estudio de estabilidad diseñado con los lotes de BF-200 gel ALA (10% de ácido aminolevulínico) y placebo respecto a BF-200 gel ALA a usarse en el estudio clínico en Fase III en paralelo con el estudio clínico incluirá el examen del tamaño de partículas por microscopía electrónica en puntos temporales posteriores.

25 La Fig. 6 muestra micrografías electrónicas de fractura por congelación del gel generado con un mayor aumento. La superficie de fractura muestra predominantemente la envuelta de las partículas cubiertas. La fractura a través de la propia partícula sucede muy raramente. Las vesículas parecen estar rodeadas por una capa de material que se interpreta que representa ácido aminolevulínico. Esto genera una imagen de tipo huevo frito (marcada con cabezas de flecha en la Parte B de la Fig. 6).

30 Las micrografías electrónicas producidas por tinción negativa de gel de ácido aminolevulínico al 10% presentaban nanopartículas con una estructura superficial difusa borrosa que puede confirmar la estratificación de material sobre las nanopartículas observadas en las micrografías electrónicas de fractura por congelación.

35 **Ejemplo 4: Absorción en células de mamífero: estudios de cultivo celular *in vitro* sobre la captación de ALA: Estudios de cultivo celular:**

La captación de ALA y la conversión en protoporfirina IX (PpIX) en células cultivadas puede controlarse midiendo la fluorescencia de PpIX inducida por UV. Los experimentos de cultivo celular se realizaron con varias líneas celulares neoplásicas: HELP, HepG2 y CCD 106 KERTr (una línea celular de queratinocitos epiteliales humanos). Las células se incubaron en medios acuosos con Metil-ALA (MAL), ALA o BF-200 con ALA durante un máximo de 3 horas. En 40 las concentraciones seleccionadas de fármaco, los tres medios de incubación tuvieron un valor de pH similar. Después de incubación, las células se lavaron suavemente y se añadieron medios frescos. La producción de PpIX se midió en diferentes puntos temporales cuantificando la fluorescencia. La Figura 5 muestra los resultados obtenidos para células HELA.

45 El efecto de concentraciones crecientes de la nanoemulsión BF-200 (a concentración constante de ALA) sobre la síntesis de PpIX se muestra en la Fig. 5. La fluorescencia de PpIX en las células fue mayor con concentración creciente de BF200 y alcanzó un máximo al 3% de BF200.

50 **Ejemplo 5**

La eficacia de la formulación de nanoemulsión de 5-ALA para la terapia fotodinámica de la queratosis actínica se ha demostrado en un estudio clínico de determinación de la dosis en Fase II que comenzó en otoño de 2006 y estuvo patrocinado por Biofrontera Bioscience GmbH. El estudio controlado con placebo, aleatorizado y de doble enmascaramiento se realizó en 13 centro clínicos en Alemania bajo la dirección médica del Prof. Dr. Rolf-Markus Szeimies, University Clinics of Regensburg. Se usaron tres dosis activas (1, 3 y 10% de ALA) y placebo. Para 55 verificar la eficacia del compuesto, se trataron 105 pacientes una vez por terapia fotodinámica con una de tres concentraciones diferentes de ALA o placebo.

60 Se incluyeron pacientes con 3 a 10 lesiones de queratosis actínica en la cara o en el cuero cabelludo. Cada paciente recibió un tratamiento (1%, 3% o 10% de ácido 5-aminolevulínico (ALA) o placebo) de todas sus lesiones. Se aplicó luz roja después de 3 horas de incubación. Después de la sesión de tratamiento, los sujetos volvieron a la clínica después de 3 semanas, 8 semanas y 12 semanas para controlar el resultado clínico y el proceso de curación. Cada vez, el investigador evaluó el área tratada de la lesión de queratosis actínica (AK) para evidencias de áreas restantes con signos de AK y síntomas clínicos. La variable principal de eficacia fue la tasa de eliminación total de 65 todas las lesiones AK en la visita de la semana 12, definida como la cantidad de lesiones que muestran remisión completa (las lesiones se han eliminado completamente y ya no son visibles placas escamosas adherentes de AK).

También se controló la aparición de dolor durante la irradiación después de la aplicación de BF-200 ALA.

Resultados: Se descubrió que el pretratamiento con ALA al 10% precediendo PDT era la más eficaz de las tres concentraciones ensayadas en eliminar las lesiones AK (superior de forma estadísticamente significativa al placebo). Cuando los pacientes se evaluaron 12 semanas después de un único tratamiento con BF-200 ALA, al menos el 60-70% de las lesiones tratadas se curaron completamente, dependiendo de la ponderación de los centros clínicos y el área de la cabeza. Las tasas de eliminación en el grupo de placebo fueron de aproximadamente el 5-15% de las lesiones tratadas, dependiendo de la ponderación de los centros clínicos. La tasa de eliminación correspondía bien con los resultados publicados de estudios de ALA-PDT con un diseño similar del estudio, pero con mayores concentraciones de las sustancias activas 5-ALA o Metil ALA. Los resultados cosméticos fueron excelentes. Solamente el 6% de los pacientes se quejaron acerca de dolor fuerte. No sucedieron efectos secundarios relevantes durante el estudio, los resultados cosméticos fueron excelentes. No hubo preocupaciones de seguridad respecto a ninguno de los cuatro grupos durante PDT y durante un periodo de 12 semanas después de PDT.

Como medida adicional de seguridad, esta parte de determinación de la dosis comprendía evaluaciones farmacocinéticas. Se midieron los niveles sistémicos en plasma y orina de ALA y su metabolito protoporfirina IX. Las concentraciones en plasma y orina de estos compuestos en pacientes tratados con ALA no estuvieron aumentadas en comparación con los valores fisiológicos de origen natural en los mismos individuos.

La invención, en particular, se refiere a los siguientes puntos:

Punto 1. Una nanoemulsión que comprende a) al menos un componente acuoso y b) un vehículo, que comprende i) al menos un componente lipófilo que está presente en una cantidad del 0,1% en peso al 15% en peso, ii) al menos un tensioactivo y iii) al menos un alcohol, donde el al menos un alcohol tiene al menos tres átomos de carbono, y donde el diámetro medio de las partículas emulsionadas es de menos de 100 nm.

Punto 2. La nanoemulsión del punto 1, donde el vehículo está presente en el componente acuoso.

Punto 3. La nanoemulsión del punto 1 o 2, donde el tensioactivo está presente en una cantidad del 1% en peso al 30% en peso y el alcohol está presente en una cantidad del 0,1% en peso al 10% en peso, basado en el peso total de la nanoemulsión.

Punto 4. La nanoemulsión de uno cualquiera de los puntos precedentes, donde el componente acuoso está presente en una cantidad del 50% en peso al 98% en peso, basado en el peso total de la nanoemulsión.

Punto 5. La nanoemulsión de uno cualquiera de los puntos precedentes, donde el al menos un alcohol es alcohol isopropílico y/o alcohol 1-propílico.

Punto 6. La nanoemulsión de uno cualquiera de los puntos precedentes, donde el al menos un componente lipófilo es triglicéridos y/o una mezcla de los mismos.

Punto 7. La nanoemulsión de uno cualquiera de los puntos precedentes, donde el al menos un tensioactivo es lecitina y/o un tensioactivo de tipo polioxietileno.

Punto 8. La nanoemulsión del punto 7, donde la lecitina es lecitina de soja y el tensioactivo de tipo polioxietileno es Polisorbato 80.

Punto 9. La nanoemulsión del punto 8, donde la lecitina de soja tiene un contenido de fosfatidilcolina de al menos un 80% en peso.

Punto 10. La nanoemulsión de uno cualquiera de los puntos precedentes, donde el diámetro medio de las partículas emulsionadas varía de 10 a 50 nm.

Punto 11. Un proceso para la preparación de la nanoemulsión de uno cualquiera de los puntos precedentes, que comprende las siguientes etapas:

- a) proporcionar un componente acuoso,
- b) proporcionar un vehículo que comprende al menos un componente lipófilo, al menos un tensioactivo y al menos un alcohol, donde el al menos un alcohol tiene al menos tres átomos de carbono, y
- c) mezclar el componente acuoso de la etapa a) con el vehículo de la etapa b).

Punto 12. Composición farmacéutica y/o cosmética que comprende la nanoemulsión de uno cualquiera de los puntos 1 a 10.

Punto 13. Una composición que comprende una nanoemulsión como se define en uno cualquiera de los puntos

precedentes y un agente activo.

5 Punto 14. La composición del punto 13, donde el agente activo se selecciona del grupo que consiste en ácido 5-aminolevulínico, un derivado, precursor y/o metabolito del mismo.

Punto 15. La composición del punto 14, donde el ácido 5-aminolevulínico, un derivado, precursor y/o metabolito del mismo se fija a la monocapa exterior de las partículas de la nanoemulsión.

10 Punto 16. Composición farmacéutica, cosmética y/o de diagnóstico que comprende la composición de uno cualquiera de los puntos 13 a 15.

15 Punto 17. La composición de uno cualquiera de los puntos 13 to 16, donde la composición está presente como un gel y comprende de un 0,01% en peso a un 50% en peso del agente activo, de un 1% en peso a un 60% en peso de la nanoemulsión, de un 0,01% en peso a un 4% en peso del al menos un agente de carga, de un 1% en peso a un 3% en peso del al menos un conservante, basado en el peso total de la composición, y haciendo el equilibrio el al menos un disolvente.

20 Punto 18. Un proceso para la preparación de una composición como se define en uno cualquiera de los puntos 13 a 17, que comprende las siguientes etapas:

- a) proporcionar un componente acuoso,
- b) proporcionar un vehículo que comprende al menos un componente lipófilo, al menos un tensioactivo y al menos un alcohol, donde el al menos un alcohol tiene al menos tres átomos de carbono,
- 25 c) mezclar el componente acuoso de la etapa a) con el vehículo de la etapa b), para formar una nanoemulsión,
- d) añadir el agente activo antes y/o después de la formación de dicha nanoemulsión de la etapa c), y
- e) opcionalmente añadir aditivos y/o excipientes adicionales a la etapa d).

30 Punto 19. El proceso del punto 18, donde el agente activo en la etapa d) se añade después de la formación de dicha nanoemulsión de la etapa c).

35 Punto 20. Uso cosmético de una nanoemulsión de cualquiera de los puntos 1 a 10 o de una composición de uno cualquiera de los puntos 12 a 17 como agente antienvjecimiento.

Punto 21. Uso de una nanoemulsión de uno cualquiera de los puntos 1 a 10 y/o una composición de uno cualquiera de los puntos 12 a 17 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad asociada a virus.

40 Punto 22. El uso del punto 21, donde la enfermedad asociada a virus está causada por un virus del papiloma humano (HPV).

Punto 23. El uso del punto 22, donde la enfermedad asociada a virus es condiloma acuminado.

45 Punto 24. Uso de una nanoemulsión de uno cualquiera de los puntos 1 a 10 y/o una composición de uno cualquiera de los puntos 12 a 17 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades dermatológicas.

50 Punto 25. El uso del punto 24, donde el trastorno se selecciona del grupo que consiste en neurodermatitis.

Punto 26. El uso del punto 25, donde la enfermedad dermatológica es acné y/o una enfermedad asociada con queratosis.

55 Punto 27. Uso del punto 26, donde la queratosis es queratosis actínica.

Punto 28. Uso de una nanoemulsión de uno cualquiera de los puntos 1 a 10 y/o de la composición de uno cualquiera de los puntos 12 a 17 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad asociada con proliferación celular.

60 Punto 29. El uso del punto 28, donde la enfermedad asociada con proliferación celular es enfermedad tumoral.

Punto 30. El uso del punto 29, donde la enfermedad tumoral se selecciona del grupo que consiste en adenoma basocelular, carcinoma escamocelular, Morbus Bowen, neoplasia intraepitelial vulvar (VIN) y/o una enfermedad cancerosa nodular y/o subcutánea.

65 Punto 31. El uso del punto 24 o 28, donde la enfermedad es psoriasis.

- Punto 32. Uso de una composición de uno cualquiera de los puntos 14 a 17 para la fabricación de un medicamento en la terapia fotodinámica.
- 5 Punto 33. El uso del punto 32, donde dicha composición se administra a un paciente en una cantidad eficaz y se incuba durante un periodo de time adecuado para proporcionar una cantidad suficiente del agente activo en el tejido a tratarse, y donde el tejido se somete a radiación de luz.
- 10 Punto 34. Uso de una composición de uno cualquiera de los puntos 14 a 17 para la detección de células en proliferación.
- Punto 35. Uso de una composición de uno cualquiera de los puntos 14 a 17 para el diagnóstico de enfermedades dermatológicas y/o tumorales.
- 15 Punto 36. Kit, que comprende una composición de uno cualquiera de los puntos 14 a 17 y al menos un componente, seleccionado de
- 20 a) una cobertura fotorresistente
b) un medio para fijar dicha cobertura a un sitio de aplicación, y
c) un medio para aplicar dicha composición a un sitio de aplicación.
- Punto 37. Método de tratamiento de una enfermedad asociada a virus, una enfermedad dermatológica y/o una enfermedad asociada con proliferación celular, que comprende administrar una cantidad farmacéuticamente eficaz de una nanoemulsión de uno cualquiera de los puntos 1 a 10 y/o de una composición como se define en uno cualquiera de los puntos 12 a 17 a un sujeto que lo necesita.
- 25 Punto 38. Una composición que comprende un agente activo seleccionado del grupo que consiste en ácido 5-aminolevulínico, un derivado, precursor y/o metabolito del mismo, y una nanoemulsión, donde la nanoemulsión comprende un alcohol.
- 30 Punto 39. La composición del punto 38, que comprende adicionalmente al menos un componente acuoso, preferiblemente agua, al menos un componente lipófilo y/o al menos un tensioactivo.
- Punto 40. La composición de uno cualquiera de los puntos 38 a 39, donde el alcohol es un alcohol C₂ a C₈, en particular, un alcohol C₃ a C₈.
- 35 Punto 41. La composición del punto 40, donde el alcohol es alcohol isopropílico y/o alcohol 1-propílico.
- Punto 42. La composición de uno cualquiera de los puntos 38 a 41, donde el ácido 5-aminolevulínico, un derivado, precursor y/o metabolito del mismo se fija en la monocapa exterior de la nanoemulsión.
- 40 Punto 43. La composición de uno cualquiera de los puntos 38 a 41, donde el al menos un componente lipófilo es Miglyol, el al menos un tensioactivo es lecitina, preferiblemente lecitina de soja y/o un tensioactivo de tipo polioxietileno, preferiblemente Polisorbato 80.
- 45 Punto 44. Composición farmacéutica y/o de diagnóstico que comprende la composición de uno cualquiera de los puntos 38 a 43.
- Punto 45. Uso de una composición de uno cualquiera de los puntos 38 a 43 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad asociada a virus.
- 50 Punto 46. El uso del punto 45, donde la enfermedad asociada a virus está causada por un virus del papiloma humano (HPV).
- 55 Punto 47. El uso del punto 46, donde la enfermedad asociada a virus es condiloma acuminado.
- Punto 48. Uso de una composición de uno cualquiera de los puntos 38 a 43 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades dermatológicas.
- 60 Punto 49. El uso del punto 48, donde la enfermedad dermatológica es acné y/o una enfermedad asociada con queratosis.
- Punto 50. Uso del punto 43, donde la queratosis es queratosis actínica.
- 65 Punto 51. Uso de una composición de uno cualquiera de los puntos 38 a 43 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad asociada con proliferación celular.

Punto 52. El uso del punto 51, donde la enfermedad asociada con proliferación celular es enfermedad tumoral.

5 Punto 53. El uso del punto 52, donde la enfermedad tumoral se selecciona del grupo que consiste en adenoma basocelular, carcinoma escamocelular, Morbus Bowen, neoplasia intraepitelial vulvar (VIN) y/o una enfermedad cancerosa nodular y/o subcutánea.

Punto 54. El uso del punto 48 o 51, donde la enfermedad es psoriasis.

10 Punto 55. Uso de una composición de uno cualquiera de los puntos 38 a 43 para la fabricación de un medicamento en la terapia fotodinámica.

15 Punto 56. El uso del punto 55, donde dicha composición se administra a un paciente en una cantidad eficaz y se incuba durante un período de tiempo adecuado para proporcionar una cantidad suficiente del agente activo en el tejido a tratarse, y donde el tejido se somete a radiación de luz.

Punto 57. Uso de una composición de uno cualquiera de los puntos 38 a 43 para la detección de células en proliferación.

20 Punto 58. Uso de una composición de uno cualquiera de los puntos 38 a 43 para el diagnóstico de enfermedades dermatológicas y/o tumorales.

25 Punto 59. Una composición que comprende una nanoemulsión y un agente activo, donde el agente activo se fija a la monocapa exterior de las partículas de la nanoemulsión.

Punto 60. La composición del punto 59, donde la nanoemulsión y/o el agente activo se define como en uno cualquiera de los puntos 38 a 43.

30 Punto 61. Composición farmacéutica y/o cosmética que comprende la composición del punto 59 o 60.

Punto 62. Uso de una composición del punto 59 o 60 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad asociada a virus, dermatológica, asociada con la proliferación celular y/o en la terapia fotodinámica.

35

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una nanoemulsión que comprende a) al menos un componente acuoso y b) un vehículo, que comprende i) al menos un componente lipófilo que está presente en una cantidad del 0,1% en peso al 15% en peso, ii) al menos un tensioactivo y iii) al menos un alcohol,
 en la que el al menos un alcohol tiene de tres a cinco átomos de carbono y
 en la que el diámetro medio de las partículas emulsionadas es de menos de 100 nm.
- 10 2. Las nanoemulsiones de la reivindicación 1, en las que el vehículo está presente en el componente acuoso y/o en las que el tensioactivo está presente en una cantidad del 1% en peso al 30% en peso y el alcohol está presente en una cantidad del 0,1% en peso al 10% en peso, basado en el peso total de la nanoemulsión, y/o en las que el componente acuoso está presente en una cantidad del 50% en peso al 98% en peso, basado en el peso total de la nanoemulsión, y/o
 15 en las que el al menos un alcohol es alcohol isopropílico y/o alcohol 1-propílico y/o en las que el al menos un componente lipófilo es triglicéridos y/o una mezcla de los mismos, y/o en las que el al menos un tensioactivo es lecitina y/o un tensioactivo de tipo polioxietileno, y/o en las que el diámetro medio de las partículas emulsionadas varía de 10 a 50 nm.
- 20 3. Un proceso para la preparación de la nanoemulsión de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende las siguientes etapas:
 a) proporcionar un componente acuoso,
 b) proporcionar un vehículo que comprende al menos un componente lipófilo, al menos un tensioactivo y al menos un alcohol, en el que el al menos un alcohol tiene de tres a cinco átomos de carbono, y
 25 c) mezclar el componente acuoso de la etapa a) con el vehículo de la etapa b).
- 30 4. Composición farmacéutica, cosmética o de diagnóstico que comprende la nanoemulsión de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2.
5. Una composición de acuerdo con la reivindicación 4, que comprende un agente activo.
- 35 6. Un proceso para la preparación de una composición como se define en la reivindicación 5, que comprende las siguientes etapas:
 a) proporcionar un componente acuoso,
 b) proporcionar un vehículo que comprende al menos un componente lipófilo, al menos un tensioactivo y al menos un alcohol, en el que el al menos un alcohol tiene de tres a cinco átomos de carbono,
 c) mezclar el componente acuoso de la etapa a) con el vehículo de la etapa b), para formar una nanoemulsión,
 40 d) añadir el agente activo antes y/o después de la formación de dicha nanoemulsión de la etapa c).
7. El proceso de acuerdo con la reivindicación 6, que comprende adicionalmente la etapa e) añadir aditivos y/o excipientes adicionales a la etapa d).
- 45 8. Uso cosmético de una nanoemulsión de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 o de una composición de la reivindicación 4 como vehículo.
9. Uso cosmético de una nanoemulsión de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 o de una composición de la reivindicación 5 como agente antienviejecimiento.
- 50 10. Composición de la reivindicación 5 para su uso para el tratamiento de una enfermedad asociada a virus.
11. Nanoemulsión de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 y/o composición de una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 5 para su uso para el tratamiento de enfermedades dermatológicas.
- 55 12. Nanoemulsión de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 y/o composición de una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 5 para su uso para el tratamiento de una enfermedad asociada con proliferación celular.
13. Composición de una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 5 para su uso en la terapia fotodinámica.
- 60 14. Composición de una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 5 para su uso para la detección de células en proliferación.
15. Composición de una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 5 para su uso para el diagnóstico de enfermedades dermatológicas y/o tumorales.
- 65 16. Kit, que comprende una composición de la reivindicación 5 y al menos un componente, seleccionado de

- a) una cobertura fotorresistente
- b) un medio para fijar dicha cobertura a un sitio de aplicación, y
- c) un medio para aplicar dicha composición a un sitio de aplicación.

5

17. La composición de la reivindicación 5, en la que el agente activo es ácido 5-aminolevulínico.

18. Composición de la reivindicación 5 para su uso para el tratamiento de queratosis, preferiblemente queratosis actínica.

10

Fig. 1 /6

RESUMEN GAUSSIANO:

Diámetro medio	= 32,2 nm	Varianza (P.I.)	= 0,340
Desviación típ.	= 18,8 nm (58,3%)	Chi cuadrado	= 3,022
Des. típ. norm. (coef. de var.)	= 0,583	Aj. basal	= 0,000 %
		Coef. dif. Z-prom	= 1,44E-007 cm²/s

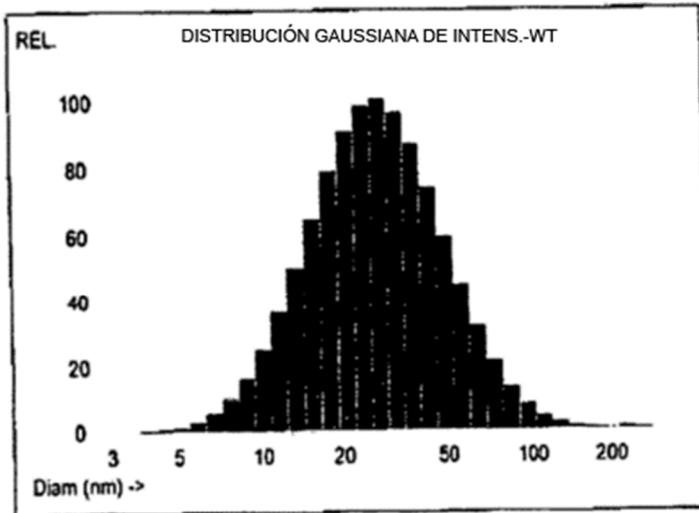


Fig. 2/6

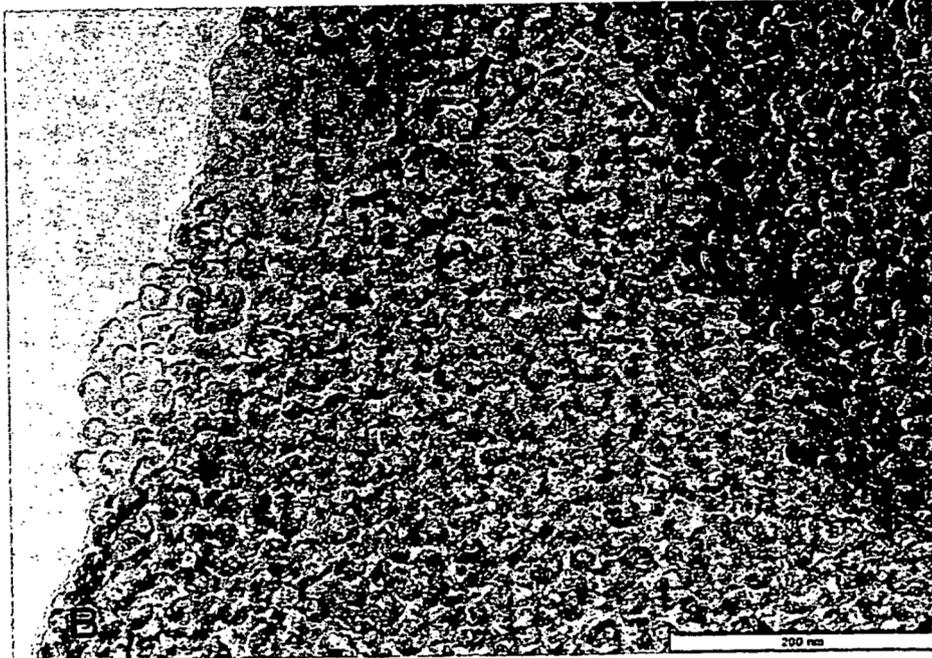
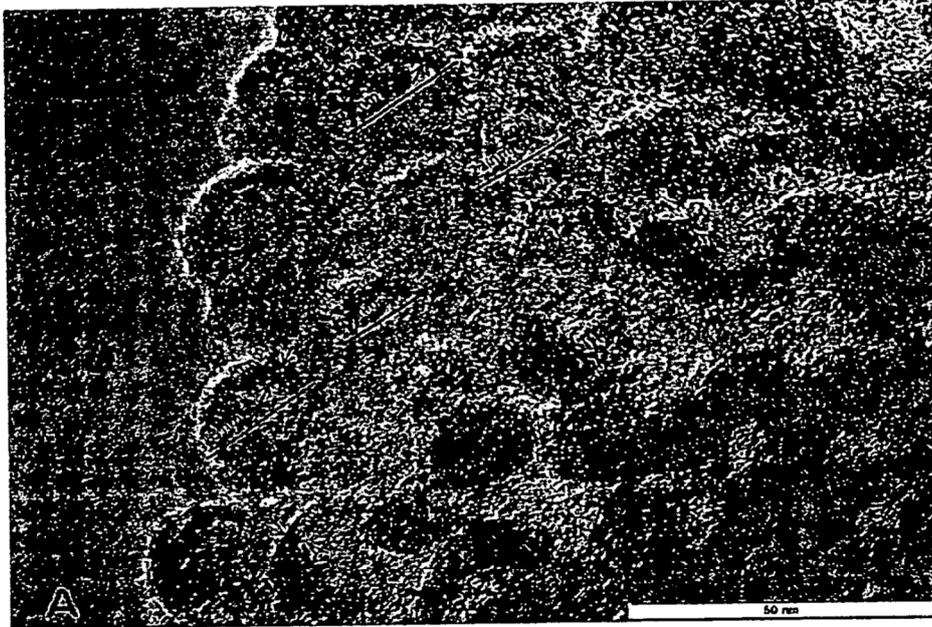


Fig. 3/6

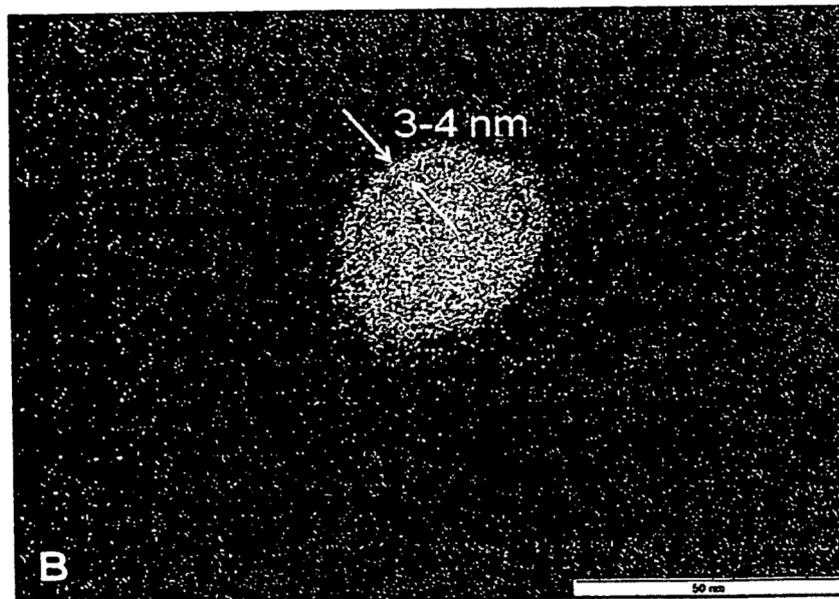
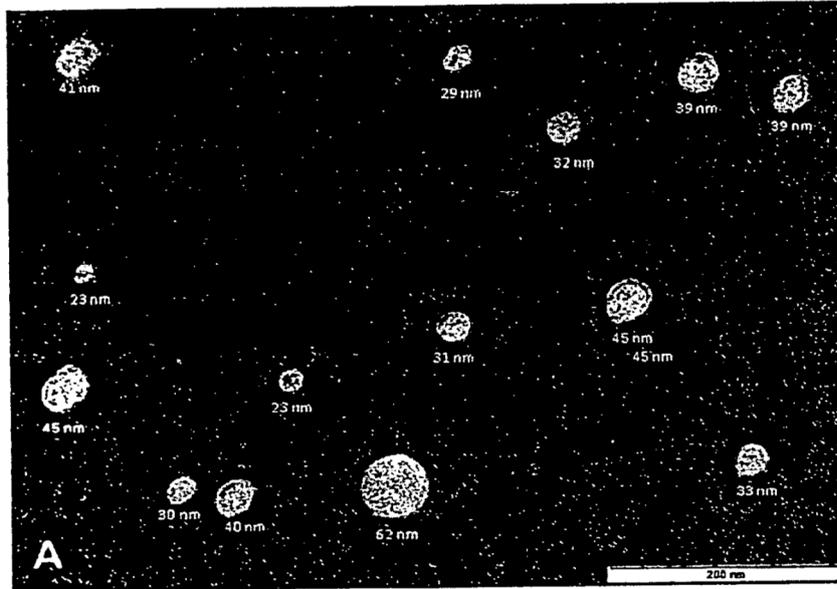


Fig. 4/6

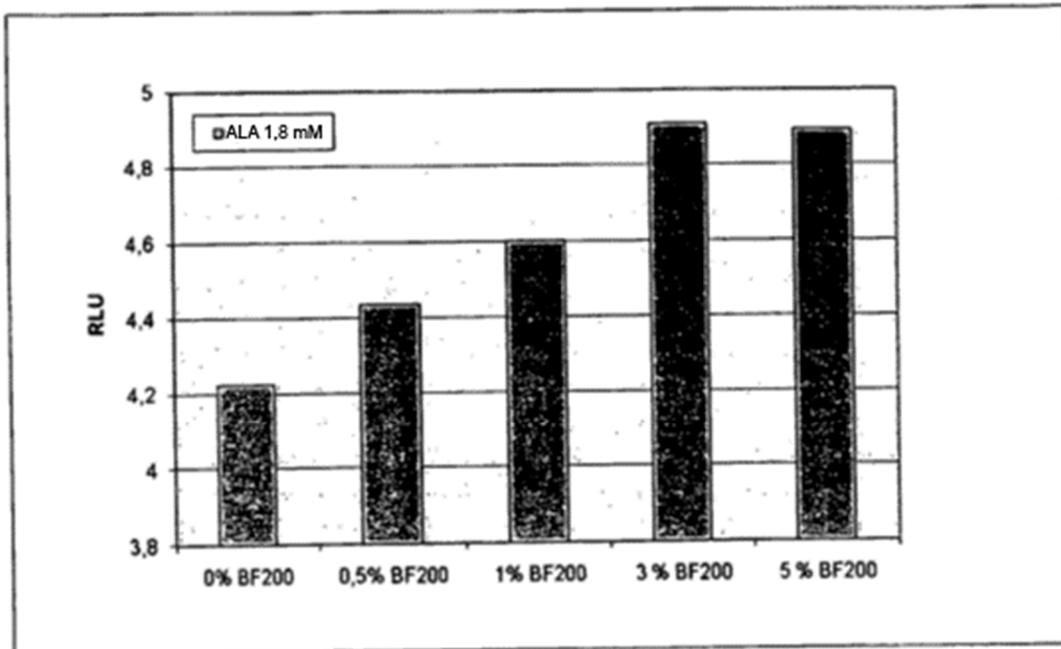
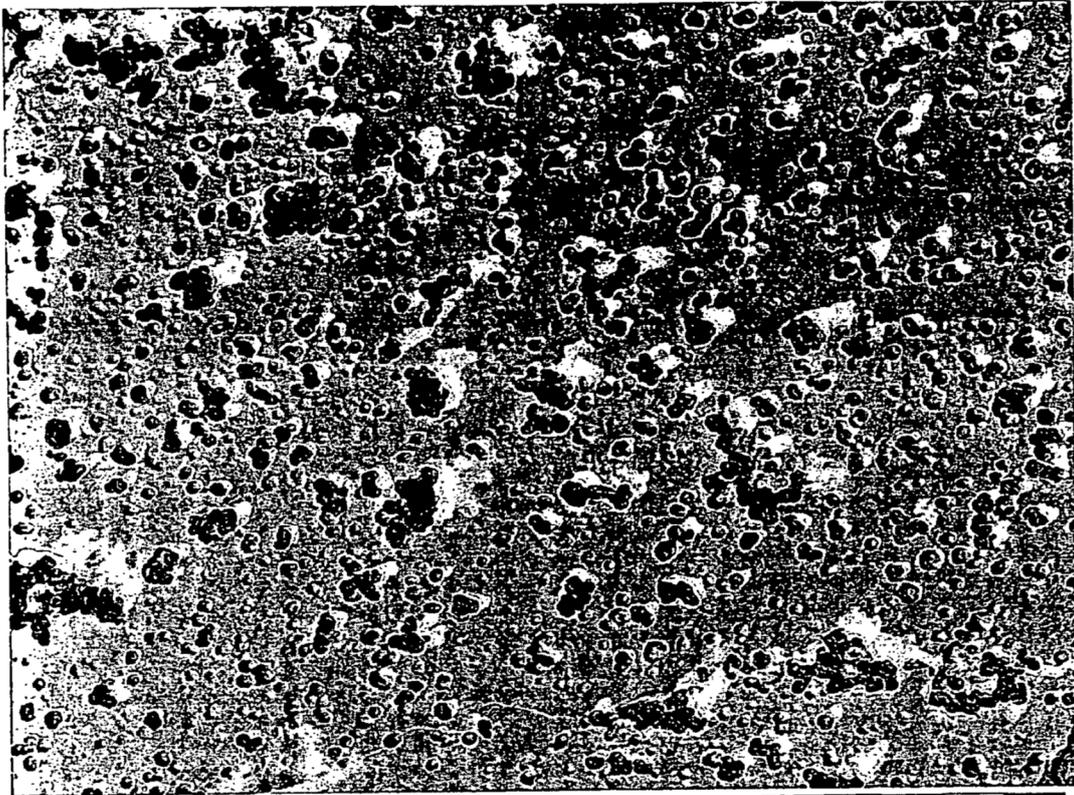


Fig. 5/6



50000:1

D012201cTE1

1µm

Fig. 6/6

