

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 619 612**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/74** (2006.01)

**A61P 17/00** (2006.01)

**A61P 17/06** (2006.01)

**A61K 41/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.04.2011 PCT/US2011/033161**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.11.2011 WO2011139558**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.04.2011 E 11777830 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.01.2017 EP 2571507**

54 Título: **Formulaciones y métodos de tratamiento de afecciones de la piel**

30 Prioridad:

**04.05.2010 US 331131 P**

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

**26.06.2017**

73 Titular/es:

**SOLIGENIX, INC. (100.0%)  
2500 York Road, Suite 100  
Jamison PA 18929, US**

72 Inventor/es:

**TOBIA, ALFONSO, J.;  
CABANA, BERNARD, E. y  
ROOK, ALAIN, H.**

74 Agente/Representante:

**ZUAZO ARALUZE, Alexander**

ES 2 619 612 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).

**FORMULACIONES Y MÉTODOS DE TRATAMIENTO DE AFECCIONES DE LA PIEL****DESCRIPCIÓN****5 Campo de la invención**

La presente invención se refiere a formulaciones líquidas para su uso en el tratamiento tópico de psoriasis.

**Antecedentes de la invención**

10 La terapia fotodinámica (TF) es un tratamiento que usa un compuesto, generalmente denominado fotosensibilizador o agente de fotosensibilización, y un tipo particular de luz. Los fotosensibilizadores pueden producirse de manera natural o pueden sintetizarse. Cuando los fotosensibilizadores se exponen a una longitud de onda de luz específica, ejercen un efecto citotóxico sobre las células cercanas, lo que puede producir muerte celular en estas células. Se ha  
15 mostrado que los fotosensibilizadores presentan actividades anticancerígenas y antivirales notables.

El linfoma de células T cutáneo (LCTC), que incluye micosis fungoide (MF) y síndrome de Sézary, son tumores malignos de células T que migran a la piel y representan los tipos más comunes de linfoma de células T. LCTC afecta a de aproximadamente 25.000 a 50.000 individuos en los Estados Unidos. MF presenta lo más comúnmente implicación cutánea limitada, manifestado como máculas eritematosas, escamosas o placas finas. A medida que MF progresa, los pacientes desarrollan más lesiones cutáneas infiltradas (placas gruesas o tumores), y finalmente implicación de ganglios linfáticos, sangre u órganos viscerales. Histopatológicamente, las lesiones cutáneas de MF tempranas se caracterizan por infiltrados de células T en la epidermis y dermis superior.

25 La psoriasis es una enfermedad cutánea autoinmunitaria, crónica caracterizada por inflamación mediada por células T que da como resultado una proliferación de células epidérmicas aumentada. Normalmente está asociada con infiltrados neutrófilos y linfocíticos de células T intensos superficialmente en la piel con lesiones. La psoriasis afecta a aproximadamente el 2% de la población total en los EE.UU. Según los National Institutes of Health, hasta 7,5 millones de americanos tienen psoriasis. Los sexos se ven afectados por igual, y la aparición puede producirse desde la infancia hasta la edad anciana.

Las verrugas son la manifestación más común de la infección con el virus del papiloma humano (VPH). Pueden producirse sobre cualquier superficie mucosa o cutánea. El diagnóstico de la verruga se basa principalmente en la morfología clínica. A menudo las lesiones pueden ser crónicas. Los individuos inmunodeprimidos tienen mayor riesgo de desarrollar carcinoma epidermoide en sitios de infección por VPH. Además, la infección genital con VPH se ha implicado como causa frecuente de carcinoma epidermoide de la región genital y del cuello uterino. Actualmente, las verrugas no se tratan comúnmente mediante terapia fotodinámica.

Combinaciones de agentes de fotosensibilización y luz ultravioleta (UV) son tratamientos establecidos para LCTC y psoriasis. El tratamiento con psoraleno-luz ultravioleta A (PUVA), un régimen usado comúnmente para el tratamiento de psoriasis, es una forma de TF. El tratamiento con PUVA implica la administración de un compuesto de psoraleno a un paciente, seguido por iluminación de la piel del paciente con luz que tiene una longitud de onda que corresponde a radiación ultravioleta A (UV-A). Tanto LCTC como psoriasis presentan altas tasas de respuesta clínica a la terapia con PUVA. La luz ultravioleta A, también conocida como UV de onda larga, o luz negra, tiene normalmente una longitud de onda de 315 nm - 400 nm. Aunque el tratamiento con PUVA proporciona alivio de la psoriasis, la exposición de la piel a radiación UV-A puede tener varios efectos no deseados, incluyendo una reacción similar a una quemadura solar e inducción de tumores cutáneos. Además, PUVA parece ejercer efectos carcinogénicos con tratamiento prolongado dando como resultado una tasa significativa de cánceres de piel distintos de melanoma así como melanoma maligno. El hallazgo de que psoraleno es mutágeno y se intercala en el ADN, acompañado de la asociación de la terapia con PUVA con el desarrollo de cáncer de piel, aumenta la necesidad de formas más seguras de fototerapia en el tratamiento de LCTC y psoriasis.

La hipericina es un compuesto natural encontrado en los tallos y pétalos de plantas del género *hypericum*. Dentro de este género hay ocho familias y 43 especies, incluyendo la planta de hierba de San Juan común, *Hypericum perforatum*. La hipericina es el agente fototóxico principal de la hierba de San Juan. El nombre químico es 4,5,7,4',5',7'-dimetil-meso-naftodiantrona, un compuesto que se compone de ocho anillos conjugados que contienen seis grupos hidroxilo, dos grupos carbonilo y dos metilo en un patrón simétrico cuando se invierte alrededor de un eje central. Cuando se disuelve en disoluciones de etanol produce un compuesto fluorescente brillante.

60 La hipericina se activa de manera máxima mediante luz visible a longitudes de onda producidas por una lámpara de sodio (590 nm) o luz fluorescente blanca fría, lo que reduce significativamente los efectos secundarios asociados con la irradiación UV y permite una penetración en la piel más profunda. La hipericina tiene una semivida relativamente larga (20-24 horas) lo que permite una activación repetida por la luz con dosis individuales. Se ha  
65 demostrado que este compuesto está presente en la piel tras la administración sistémica y se ha mostrado que tiene una biodisponibilidad de aproximadamente el 20% tras la administración oral. Sin embargo, los pacientes que se

trataron de manera sistémica con hipericina pueden verse afectados por fotosensibilidad sistémica e intensa.

Se han descrito las propiedades fotodinámicas de la hipericina. Tras la irradiación con luz visible o UV, la hipericina en disolución puede excitar el oxígeno a su estado singlete y generar radicales superóxido, lo que puede conducir a la oxidación de grupos imidazol de triptófano en proteínas, a la oxidación de ácidos grasos en sistemas biológicos, o a otras reacciones químicas. La hipericina se activa de manera máxima mediante luz de aproximadamente 570-650 nm de longitud de onda, es decir en la región amarilla del espectro electromagnético. Aunque la hipericina se ha conocido durante muchos años, y aunque la aplicación de hipericina no fotoactivada se ha investigado en estudios clínicos de sus actividades anticancerígenas y antivirales, se conoce muy poco sobre el mecanismo de acción de este compuesto a nivel bioquímico o molecular. Se ha demostrado que la fotorreacción de la hipericina produce oxígeno singlete. Además, existen evidencias de que la hipericina inhibe la actividad proteína cinasa y, por tanto, puede ejercer su actividad biológica a través de rutas que son muy diferentes de, por ejemplo, psoraleno. Además, la hipericina se une a fosfolípidos, tales como membranas celulares que comprenden fosfatidilcolina, y a partículas retrovirales, probablemente asociándose con la envuelta lipídica de las mismas.

Fox *et al* (documento U.S. 6.001.882) da a conocer métodos de uso de hipericina y derivados de hipericina que, cuando se fotoactivan usando luz visible o UV-A, son útiles para tratar numerosas enfermedades y trastornos en mamíferos. La hipericina y los derivados de hipericina se usan para inhibir la proliferación y acumulación de leucocitos de mamífero y para inducir apoptosis en leucocitos de mamífero. También se contemplan aplicaciones tópicas de hipericina y derivados de hipericina para el tratamiento de LCTC y psoriasis por Fox *et al*.

Floyd E. Fox *et al*. (URL:<http://www.nature.com/jid/journal/v111/n2/pdf/5600130a.pdf>) notifican estudios sobre el efecto de la hipericina en linfoma de células T cutáneo, en los que se usaron disoluciones madre de hipericina y 8-metoxipsoraleno en alcohol bencílico.

Van De Putte Marie *et al*. (International Journal of Oncology, Lychina, GR, vol. 28, n.º 3.2006-03-01) notifican estudios sobre la biodistribución de hipericina tras la inyección de hipericina suspendida en solución salina tamponada con fosfato, o disolución de hipericina en una mezcla de DMSO, polietilenglicol y agua.

El documento WO 2009/066294 A1 da a conocer dispositivos para terapia fotodinámica, que comprenden una composición para el tratamiento de trastornos de la piel, por ejemplo psoriasis. El fotosensibilizador preferido es hipericina; aunque pueden prepararse geles/cremas/pomada, el portador también puede comprender un disolvente seleccionado de agua, etanol, butilenglicol, propilenglicol, alcohol isopropílico, isoprenglicol, glicerina.

Actualmente, existe la necesidad de formulaciones terapéuticas altamente efectivas y novedosas para el tratamiento de afecciones de la piel asociadas con infiltración de linfocitos, particularmente psoriasis, y también métodos para usar dichas formulaciones para el tratamiento de tal afección de la piel.

### Descripción detallada de la invención

La hipericina es un agente fotodinámico conocido con potencial para tratar una variedad de enfermedades cutáneas caracterizadas por infiltrados linfocíticos, incluyendo psoriasis, liquen plano y LCTC. De manera similar a otros agentes de fotosensibilización conocidos, el oxígeno singlete es el producto principal en la fotosensibilización de hipericina. En presencia de irradiación con luz, la hipericina excita el oxígeno a su estado singlete y puede generar radicales superóxido que pueden conducir a la oxidación de grupos imidazol de triptófano en proteínas y a la oxidación de ácidos grasos en sistemas biológicos. La hipericina se activa de manera máxima mediante luz en la región amarilla del espectro fotodinámico a aproximadamente 570-650 nm de longitud de onda. Además, la hipericina, fotoactivada con luz o bien UV-A o bien blanca, puede casi completar la apoptosis (94%) de células de LCTC malignas cultivadas.

En un ensayo clínico de fase I realizado en sujetos sanos, se determinó que la dosis fototóxica mínima (DFM) de luz visible de hipericina administrada por vía tópica en pomada hidrófila era de 4 J/cm<sup>2</sup>, mientras que a 8 J/cm<sup>2</sup> se observaron reacciones fototóxicas enérgicas. A concentraciones del 0,1% y el 0,5%, la hipericina produce fotosensibilidad cutánea cuando se aplica por vía tópica bajo oclusión y se activa mediante luz visible 24 horas tras aplicación tópica. No hubo reacciones cutáneas con hipericina al 0,02% a ninguna dosis de luz.

Basándose en los datos obtenidos en el ensayo de fase I, que identificó concentraciones de hipericina y dosis de luz que producen respuestas fotosensibles cutáneas en voluntarios, se realizó un estudio multicéntrico, de etiqueta abierta de fase II, controlado por placebo para evaluar la seguridad, tolerancia y eficacia de hipericina tópica y luz visible en el tratamiento de psoriasis vulgar y MF temprano. Los métodos y resultados son los que se detallan en el siguiente estudio. Se descubrió de manera inesperada que las formulaciones de hipericina tópicas convencionales, tales como pomada hidrófila, no son satisfactorias en estudios clínicos para el tratamiento de psoriasis, mientras que se muestra que formulaciones líquidas de hipericina y derivados son altamente eficaces para el tratamiento de psoriasis.

Este estudio se diseña para evaluar la seguridad y eficacia de hipericina tópica en concentraciones del 0,1% y el

0,25% bajo oclusión durante 24 horas seguido por administración de luz visible en dosis que oscilan entre 8 y 20 J/cm<sup>2</sup> dos veces a la semana durante 6 semanas para el tratamiento de psoriasis o MF. Uno de los cuatro centros implicados en el estudio administró hipericina tópica en concentraciones del 0,05 y el 0,1%. La concentración de hipericina y la dosis de luz se basaron en el estudio de fase I descrito anteriormente con voluntarios normales.

Se aplicó una cantidad tópica normalizada de hipericina en o bien pomada o bien fórmula líquida a placas definidas sobre la piel de sujetos voluntarios. La cantidad de hipericina en cada aplicación tópica fue tal como sigue: el 0,05% = 0,005 mg/cm<sup>2</sup>; el 0,1% = 0,01 mg/cm<sup>2</sup> y el 0,25% = 0,025 mg/cm<sup>2</sup>. Cada paciente tratado tenía lesiones comparables tratadas con preparación de placebo y fármaco activo.

Se aplicó cada tratamiento con hipericina o placebo dos veces a la semana durante un periodo de 24 horas antes de la irradiación. Se cubrió cada sitio de aplicación con algodón Webril no absorbente de igual área y se ocluyó con cinta oclusiva (Blenderm, 3M); se retiró el exceso de fármaco antes de la irradiación (24 horas tras aplicación del fármaco).

La irradiación se realizó usando bombillas fluorescentes visibles (590-650 nm) (bombillas fluorescentes blancas frías GE, tubos fluorescentes de 20 vatios alojados en un blanco reflectante) durante un periodo que no excedía de 15 minutos (número total de Julios de aproximadamente 5/cm<sup>2</sup>). La dosis de luz se administró dos veces a la semana, separadas por al menos un día.

Se aumentó la dosis de luz una vez a la semana en 1 Julio/cm<sup>2</sup> hasta que aparecieron síntomas o signos de fototoxicidad. En ese punto, la dosis podía o bien mantenerse o bien reducirse en 1 Julio/cm<sup>2</sup> si la fototoxicidad era pronunciada (eritema cutáneo mayor de 1 + [eritema visible mínimo]).

Se evaluaron las reacciones cutáneas cada semana inmediatamente tras la irradiación y de nuevo a las 48 y 72 horas más tarde. Los sitios de irradiación se examinaron dos veces a la semana a partir de entonces y se registraron todos los cambios; por ejemplo, eritema, edema, descamación, pigmentación, etc.

En este estudio se puntuaron las respuestas de lesión según las siguientes escalas en la evaluación de cada paciente: CR de lesión=regresión completa de la lesión tratada; PR=>50% de disminución del área de lesión durante el tratamiento; estable=<50% de disminución del tamaño o <25% de aumento del tamaño durante la terapia; progresión=>25% de aumento del tamaño durante la terapia. El criterio de éxito/fracaso para cada lesión en cada paciente era si había una mejora del 50% o mejor en el área de lesión al final del ciclo de tratamiento de 6 semanas. Si era así, se puntuaba al paciente como que respondía para esa lesión. La tabla 1 indica los criterios de clasificación para la respuesta del paciente.

Tabla 1. Criterios para la respuesta al tratamiento

Descriptor	Criterio	Puntuación numérica
MF		
Peor	Aumento en el tamaño de lesión	7
Sin respuesta	Sin cambio en el tamaño de lesión	6
Respuesta escasa	< 25% de reducción del tamaño	5
Respuesta moderada	> 25% de reducción pero < 25%	4
Respuesta buena	>= 50% de reducción pero < 75%	3
Respuesta excelente	>=75% de reducción pero < 100%	2
Respuesta completa	100% de reducción/resolución completa	1
Psoriasis	La "respuesta" a las 6 semanas requería que las puntuaciones de lesión combinadas fueran del 50% o menos de las puntuaciones de lesión de nivel inicial para descamación, eritema y elevación de placas.	

En este estudio se incluyeron pacientes femeninas no embarazadas u hombres de 18 a 70 años de edad con LCTC en fase de placa o mácula estable o psoriasis vulgar de tipo placa estable de al menos 4 meses en las dos ramas de enfermedad del estudio (MF y psoriasis) en 4 centros de estudio. La inclusión de pacientes planeada fue de 10-12 pacientes con LCTC y 10-12 con psoriasis. Se incluyeron un total de 12 pacientes para la rama de MF (los 12 eran evaluables) y se incluyeron 13 pacientes en la rama de psoriasis (11 eran evaluables).

Se administró hipericina sintetizada químicamente por VimRx Pharmaceuticals de Wilmington, Delaware. Se preparó la hipericina como una disolución madre en propilenglicol con una cantidad apropiada de disolución madre de hipericina añadida a una base hidrófila fundida que contenía metilparabeno, propilparabeno, laurilsulfato de sodio, alcohol estearílico, vaselina blanca y agua purificada (pomada hidrófila USP, un ejemplo no limitativo de pomada hidrófila es una base de pomada que consiste en el 25% de cada uno de vaselina blanca y alcohol estearílico, el 12% de propilglicol emulsionado en un 37% de agua mediante un 1% de laurilsulfato; conservado en parabeno). Se usó pomada placebo como tratamiento de control.

Se trataron todos los pacientes que recibieron tratamiento para MF con la preparación de pomada (referencia). Para

los pacientes con psoriasis, se trataron 5 pacientes con disoluciones acuosas al 0,1% y al 0,25% de hipericina en dimetilsulfóxido (DMSO) y se trataron 6 pacientes con las preparaciones de pomada hidrófila USP. La forma de dosificación líquida consistió en disolver o bien 0,2 ml o bien 0,5 ml de disolución madre de hipericina (disolución en polietilenglicol) en 44,8 o 44,5 ml de DMSO al 50%/agua y mezclar con un agitador magnético.

Se analizó la respuesta o falta de respuesta, de cada lesión tratada con o bien pomada placebo o bien con una pomada que contenía hipericina como una distribución binomial (es decir, sí/no). Éste era un análisis apropiado para la respuesta que era de naturaleza cuantitativa. Para la hipótesis nula (sin respuesta al tratamiento) se supuso que no se produciría la resolución espontánea de la lesión en el punto de tiempo de 6 semanas especificado por protocolo. Es decir, se tomó la probabilidad real de regresión espontánea de la lesión (definida como < 50% de su tamaño de nivel inicial para LCTC y hasta < 50% de su puntuación de nivel inicial combinada para lesiones de psoriasis) como cero (0%). Para el análisis de MF, se empleó una regresión logística de medidas repetidas para obtener valores de p. Para el análisis de los datos de psoriasis, se empleó una prueba de chi-cuadrado de razón de probabilidad.

La población de estudio en ambas ramas de tratamiento del estudio contenía aproximadamente dos veces más hombres (n = 8 para MF y n = 7 para grupos de tratamiento de psoriasis) que de mujeres (n = 4 tanto para grupos de tratamiento de MF como psoriasis); la edad promedio de los pacientes para pacientes con MF era de 55±16,5 años (media± DE) y para los pacientes con psoriasis de 45±16,4 años (véase la tabla 2 para las características de los pacientes). Cinco pacientes abandonaron de manera prematura; un sujeto revocó la inclusión condicional y 4 abandonaron porque el protocolo era demasiado exigente. Dos de estos pacientes eran pacientes con psoriasis que se trataron durante sólo un día antes de abandonar y por tanto no eran evaluables para la eficacia.

Tabla 2. Datos demográficos para todos los pacientes evaluables tratados para LCTC o psoriasis

	Diagnóstico	
	MF	Psoriasis
Número de pacientes	12	11
Edad (media±DE)	55±16,5	45±16,5
Número de hombres/mujeres	8/4	7/4
Número tratado > 6 semanas	7	2

Resultados de eficacia para MF

Se consideró que una lesión había respondido al tratamiento si el tamaño de la lesión se redujo en un 50% o más tras 6 semanas de tratamiento con pomada de hipericina. En las tablas 3 y 4 se resumen los resultados tras 6 semanas de tratamiento.

Tabla 3. Respuestas de lesiones de MF de pacientes individuales a pomada de hipericina tras seis semanas de tratamiento

Sitio-paciente	Placebo	Tratamiento con hipericina			¿Paciente que responde?
		0,05%	0,1%	0,25%	
CW-001	N	-	S	S	S
CW-004	N	-	N	N	N
CW-007	S	-	N3	N	N
CW-010	N	-	N	S	S
CW-012	N	-	N	S	S
CW-016	N	-	N	N	N
A-001	N	-	N	N	N
A-002	N	-	S	S	S
A-003	N	-	S	S	S
C-001	N	N	N	-	N
C-002	N	S	S	-	S
MDA-001	N	-	S	n/a	S

La tendencia general en las dos dosis más altas fue similar para los efectos de la hipericina sobre la reducción de lesiones de MF 2': 50%; el tamaño de muestra para la dosis del 0,05% fue insuficiente para extraer ninguna conclusión sobre la eficacia (tabla 4). A concentraciones de hipericina del 0,1% y el 0,25%, el 41,7 (5 de 12) y el 55,6% (5 de 9) de los pacientes respondieron al tratamiento; las respuestas a ambos tratamientos fueron significativamente diferentes de las lesiones tratadas con pomada placebo (p 2: 0,04 para ambas concentraciones). La conclusión global es que la hipericina es eficaz frente a lesiones de MF cuando se aplica por vía tópica a concentraciones del 0,1% al 0,25% dos veces a la semana seguido por irradiación de luz blanca 24 horas después a 8 - 20 J/cm<sup>2</sup> de piel.

Tabla 4. Resumen de respuestas de lesiones de MF a pomada de hipericina tras seis semanas de tratamiento

Grupo de tratamiento	Pacientes responden/total <sup>a</sup>	que Porcentaje de pacientes que responden <sup>a</sup>
Todos los pacientes que responden a hipericina	7/12	58,3% <sup>b</sup>
Dosis de hipericina del 0,25%	5/9 <sup>c</sup>	55,6% <sup>b</sup>
Dosis de hipericina del 0,1 %	5/12	41,7% <sup>b</sup>
Dosis de hipericina del 0,05%	1/2	50,0%
Pacientes que responden a placebo	1/12	8,3%

a Los datos reflejan el número de pacientes que tuvieron una respuesta a cualquier dosis; algunos pacientes pueden haber sido pacientes que responden a más de una dosis de tratamiento.

b  $p \leq 0,04$  frente a placebo (límites binomiales exactos)

c No se trataron tres pacientes con la dosis del 0,25% de hipericina.

Resultados de eficacia para el tratamiento de psoriasis

5 La distribución de las respuestas de los pacientes con psoriasis a concentraciones de placebo e hipericina del 0,05%, el 0,1% y el 0,25% en el tiempo de evaluación de 6 semanas especificado por protocolo se proporciona en las tablas 5 y 6. Al examinar la tabla 6, es importante tener en cuenta que los 5 primeros pacientes en uno de los sitios, la Universidad de Pensilvania, se trataron con pomadas de hipericina (referencia) mientras que los 6 pacientes con psoriasis restantes en los otros sitios se trataron con una formulación líquida de hipericina en DMSO acuoso/agua. Las excepciones a esto incluyeron al sexto paciente de la Universidad de Pensilvania que se trató con pomada y paciente MD Anderson, MDA-002, que se trató con pomada de hipericina al 0,1% y al 0,25%.

15 Para las dos formulaciones de concentración superior (el 0,1% y el 0,25%) cuando se combinaron los datos para las formulaciones de tanto pomada como líquida, la comparación por parejas de los tratamientos al 0,25% (el 45,4% de pacientes que responden) y al 0,1% (el 36,4% de pacientes que responden) en comparación con las lesiones tratadas con placebo demostraron un efecto estadísticamente significativo ( $p < 0,02$  para ambas concentraciones) de hipericina sobre la reducción de la lesión por psoriasis. Las comparaciones por parejas para el tratamiento de concentración más baja (el 0,05% para ambas formulaciones combinadas) no mostraron una diferencia significativa en comparación con el placebo. Los resultados para los pacientes tratados con la formulación líquida sólo eran similares a aquellos cuando se combinaron los datos de ambas formulaciones (tabla 6). La tendencia de la dosis para la formulación líquida sola demostró efectos relacionados con la dosis de hipericina sobre la reducción/mejora de la lesión por psoriasis.

25 Tabla 5. Respuesta de psoriasis a hipericina tras seis semanas de tratamiento

Sitio-paciente	Placebo	Tratamiento con hipericina			¿Paciente que responde?
		0,05%	0,1%	0,25%	
CW-006	N	-	S	S	S
CW-011	N	-	N	N	N
CW-014	N	-	S	S	S
CW-015	N	-	S	S	S
CW-017	-	-	N	S	S
P-001	N	N	N	-	N
P-003	N	N	N	-	N
P-004	N	N	N	-	N
P-005	N	N	N	-	N
P-006	N	S	N	-	S
MDA-002	N	-	S	S	S

30 Los resultados de eficacia para la formulación de pomada fueron mucho más bajos que los del tratamiento líquido a todas las dosis sometidas a prueba no demostrando ninguna de las dosis de pomada una diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ) de los pacientes tratados con placebo.

35 Globalmente, la conclusión es que la hipericina en la formulación líquida era altamente eficaz frente a la psoriasis cuando se aplicaba por vía tópica a concentraciones del 0,1% al 0,25% seguido por irradiación de luz blanca 24 horas después a de 8 a 20 J/cm<sup>2</sup> de piel. La formulación de pomada no produjo efectos estadísticamente mejores que el placebo a ninguna de las dosis sometidas a prueba.

Tabla 6. Resumen de respuestas de lesiones psoriásicas a pomada de hipericina tras seis semanas de tratamiento

Todos pomada + líquido	Pacientes que responden/total <sup>a</sup>	Porcentaje de pacientes que responden <sup>a</sup>
Todos los pacientes que responden a hipericina	6/11	54,6% <sup>b</sup>
Dosis de hipericina del 0,25%	5/11	45,4% <sup>b</sup>
Dosis de hipericina del 0,1%	4/11	36,4% <sup>a,b</sup>
Respuesta a la dosis del 0,05%	1/11	9,1%
Pacientes que responden a placebo	0/11	0,00%
Todos pomada + líquido	Pacientes que responden/total <sup>a</sup>	Porcentaje de pacientes que responden <sup>a</sup>
Líquido		
Todos los pacientes que responden a hipericina	4/5	80,0% <sup>b</sup>
Dosis de hipericina del 0,25%	4/5	80,0% <sup>b</sup>
Dosis de hipericina del 0,1%	3/5	60,0% <sup>b</sup>
Pacientes que responden a placebo	0/5	0,0%
Pomada (referencia)		
Todos los pacientes que responden a hipericina	2/6	33,3%
Dosis de hipericina del 0,25%	1/6	16,7%
Dosis de hipericina del 0,1%	1/6	16,7%
Respuesta a la dosis del 0,05%	1/6	16,7%
Pacientes que responden a placebo	0/6	0/6

a Los datos reflejan el número de pacientes que tuvieron una respuesta a cualquier dosis; algunos pacientes pueden haber sido pacientes que responden a más de una dosis de tratamiento.

b  $p \leq 0,02$  frente a placebo (límites binomiales exactos)

- 5 No se notificaron muertes o acontecimientos adversos graves durante la realización de este estudio. Los únicos acontecimientos adversos notificados fueron quemadura, picor, eritema y prurito de leve a moderado en el sitio de la aplicación típico de reacciones fototóxicas esperadas del fármaco de estudio.
- 10 Basándose en las observaciones de laboratorio básicas de que la hipericina con exposición a luz visible podía inducir una alta tasa de apoptosis de linfocitos sanguíneos periféricos, tanto transformados como no transformados, se generó la hipótesis de que la hipericina sería probablemente eficaz en el tratamiento de una amplia variedad de trastornos linfocíticos de la piel incluyendo psoriasis, LCTC, liquen plano y otros. Los resultados de este estudio de fase II confirman y amplían las observaciones *in vitro* con respecto a la eficacia terapéutica tanto para psoriasis como para MF.
- 15 En la rama de MF del estudio, sólo se sometió a prueba la formulación de pomada a concentraciones del 0,05%, el 0,1% y el 0,25% (referencia). Se trataron los pacientes dos veces a la semana con pomadas placebo y activas seguido por exposición a luz visible a de 8 a 20 J/cm<sup>2</sup> 24 horas tras la aplicación. Las dos concentraciones superiores de pomada de hipericina (el 0,1 y el 0,25%) produjeron reducciones mayores del 50% de las placas de LCTC en el 41,7 y el 55,6% de los pacientes, respectivamente. Estos cambios fueron estadísticamente mayores de manera significativa a los observados para lesiones tratadas con placebo en los mismos pacientes. A la
- 20 concentración de hipericina más baja sometida a prueba, el 0,05%, uno de los pacientes tratados presentó reducciones de al menos el 50% en las lesiones de LCTC; debido al limitado tamaño de esta población, no pueden extraerse conclusiones referentes a la eficacia de esta concentración.
- 25 Para pacientes con lesiones de psoriasis, se emplearon dos formulaciones (líquida o pomada) en diferentes sitios en concentraciones del 0,05%, el 0,1% y el 0,25%. Sólo se observaron reducciones en lesiones de psoriasis de más del 50% en uno de seis (16,7%) pacientes en respuesta a las tres concentraciones de pomada de hipericina (referencia); estos resultados no eran estadísticamente diferentes de las lesiones en los mismos pacientes tratadas con placebo. Por el contrario, las lesiones tratadas con la formulación líquida produjeron reducciones estadísticamente significativas en el tamaño de las lesiones de psoriasis a concentraciones del 0,1% (el 60,0% de los pacientes) y el 0,25% (el 80%) en comparación con las lesiones tratadas con placebo en los mismos pacientes. La concentración al 0,05% de la formulación de hipericina líquida no se sometió a prueba. La base de las diferencias en la respuesta a lesiones de psoriasis con respecto a las formulaciones de pomada y líquidas se desconoce pero probablemente está relacionada con un mayor grado de penetración de la formulación líquida en las lesiones.
- 35 Ambas formulaciones de hipericina eran seguras experimentando la mayoría de los pacientes sólo fototoxicidad de leve a moderada en el sitio de aplicación tras la exposición a luz visible.
- 40 El mecanismo mediante el que la hipericina fotoactivada tópica proporciona beneficios clínicos para tratar enfermedades cutáneas inflamatorias caracterizadas por infiltrados linfocíticos incluye la generación de oxígeno

singlete y apoptosis, y es un mecanismo similar al de otros agentes, tales como ácido 5-aminolevulínico y otras porfirinas usadas en la terapia fotodinámica que se sabe que tienen eficacia clínica en el tratamiento de enfermedades cutáneas inflamatorias. Normalmente, la apoptosis mediada por especies reactivas de oxígeno se ejecuta predominantemente por medio de la ruta intrínseca (mitocondrial). Ésta es particularmente ventajosa para trastornos tales como LCTC que se ha mostrado a menudo que presentan rutas apoptóticas extrínsecas defectuosas (mediadas por receptor de muerte) incluyendo FAS y TRAIL. Además, los estudios sobre el mecanismo de actividad antitumoral indican que la hipericina se une a la proteína chaperona, proteína de choque térmico 90 (Hsp 90) lo que conduce a su ubiquitinización. Esto afecta a varias proteínas cliente críticas que regulan las rutas de crecimiento celular dando como resultado su desestabilización, rápida degradación y eliminación en última instancia lo que conduce a la muerte celular. Además, se sabe que la hipericina es un inhibidor de proteína cinasa C potente, alterando de ese modo los mecanismos de señalización celular e induciendo apoptosis.

La característica clínica que distingue la terapia con hipericina de la terapia con PUVA es su falta de actividad mutágena en contraposición con las propiedades mutagénicas de psoraleno y luz UV. Además, la hipericina se activa de manera máxima a 590 nm, que está en la frecuencia visible de luz blanca, en vez de por UV-A de onda larga, lo que requiere lámparas especializadas. Globalmente los datos de este ensayo clínico de fase II apoyan la afirmación de que el tratamiento con hipericina tópica combinado con luz visible es prometedor como alternativa más segura a la terapia con PUVA convencional para el tratamiento de MF y psoriasis de leve a moderado.

La cantidad de fotosensibilizador según la formulación líquida de la presente invención, preferiblemente fotosensibilizadores que presentan efecto citotóxico cuando se exponen a la luz en el espectro visible, es del 0,001% al 1%, preferiblemente del 0,02% al 0,5%. La cantidad típica del fotosensibilizador aplicado a la piel es normalmente de 0,0001 mg/cm<sup>2</sup> a 0,5 mg/cm<sup>2</sup>, preferiblemente de 0,0001 mg/cm<sup>2</sup> a 0,1 mg/cm<sup>2</sup>, más preferiblemente de 0,0001 mg/cm<sup>2</sup> a 0,05 mg/cm<sup>2</sup>.

Particularmente, el estudio descubre de manera inesperada que la formulación de hipericina líquida es superior en comparación con hipericina en la preparación de pomada hidrófila. Se considera que el sistema de disolvente usado en la formulación de hipericina líquida facilita la permeación de hipericina a través de las lesiones psoriásicas. En la formulación líquida de la presente invención, se usa un sistema de disolvente de DMSO y agua. Se usa el 25-75% de DMSO con esta formulación líquida, preferiblemente, se usa el 40-60% de DMSO.

También son adecuados disolventes similares que promueven la permeabilidad de las lesiones psoriásicas para la presente invención, que pueden incluir agua, disolventes próticos, disolventes apróticos polares y disolventes aromáticos polares, y combinaciones de los mismos.

Cualquier disolvente molecular que contenga H<sup>+</sup> dissociable se denomina disolvente prótico. Las moléculas de tales disolventes pueden donar un H<sup>+</sup> (protón). En cambio, los disolventes apróticos no pueden donar hidrógeno. Disolventes próticos adecuados pueden incluir agua, polietilenglicoles, propilenglicol, polivinilpirrolidona, metoxipropilenglicol, glicerol y glicofurolo.

Los disolventes apróticos polares son disolventes que comparten el poder de disolución de iones con los disolventes próticos pero carecen de un hidrógeno ácido. Estos disolventes tienen generalmente constantes dieléctricas altas y alta polaridad. Los disolventes apróticos polares pueden incluir N-metilpirrolidona, N-metil-2-pirrolidondimetilformamida, dimetilacetamida, dimetilformamida, N-metil-morfolina,  $\gamma$ -butirolactona, acetonitrilo, hexametilfosforotriamida y hexametilfosforamida.

Los disolventes aromáticos polares pueden incluir compuestos haloaromáticos, alcohol bencílico; alcohol 1-feniletílico; alcohol 2-feniletílico; 3-fenilpropanol; 2-fenilpropanol; 2-fenoxietanol; 2,2-dimetil-3-fenilpropanol; 2,2-dimetil-3-(3-metilfenil)propanol; alcohol 1,1-dimetil-2-feniletílico; 1,1-dimetil-3-fenilpropanol; 1-etil-1-metil-3-fenilpropanol; 2-metil-5-fenilpentanol; 3-metil-5-fenilpentanol; 3-fenil-2-propen-1-ol; alcohol 4-metoxi-bencílico; 1-(4-isopropilfenil)etano, acetato de bencilo; propionato de bencilo, isobutirato de bencilo; isovalerato de bencilo, acetato de 2-feniletilo; propionato de 2-feniletilo, isobutirato de 2-feniletilo, isovalerato de 2-feniletilo, acetato de 1-feniletilo, acetato de alfa-triclorometilbencilo, acetato de alfa,alfa-dimetilfeniletilo, butirato de alfa,alfa-dimetilfeniletilo; acetato de cinamilo, isobutirato de 2-fenoxietilo, acetato de 4-metoxibencilo, éteres aralífáticos tales como, por ejemplo, 2-feniletil metil éter, 2-feniletil isoamil éter, 2-feniletil-1-etoxietil éter, fenilacetaldehído-dimetil-acetal, fenilacetaldehído-diethyl-acetal, hidratopaldehído-dimetil-acetal, fenilacetaldehído-glicerol-acetal, 2,4,6-trimetil-4-fenil-1,3-dioxano, 4,4a,5,9b-tetrahidroindeno[1,2-d]-m-dioxina y 4,4a,5,9b-tetrahidro-2,4-dimetilindeno[1,2-d]-m-dioxina.

Adicionalmente, también pueden usarse tensioactivos para facilitar la permeabilidad de la piel. Los tensioactivos pueden incluir arilsulfonatos de alquilo, sulfatos de alquilo, amidas y aminas sulfonadas, éteres y ésteres sulfatados y sulfonados, sulfonatos de alquilo, ésteres polietoxilados, mono y diglicéridos, ésteres diacetiltartáricos de monoglicéridos, ésteres de poliglicerol, ésteres y etoxilatos de sorbitano, ésteres lactilados, fosfolípidos, ésteres de polioxietilen-sorbitano, ésteres de propilenglicol y ésteres de sacarosa.

También pueden usarse otros potenciadores de la permeación de la piel con la formulación de la presente invención. Otros potenciadores de la permeación de la piel incluyen decilmethylsulfóxido, 1-decil-metil-sulfóxido, análogos de 1-

5 decil-metil-sulfóxido, monoetil éter de dietilenglicol, monolaurato de polietilenglicol, monolaurato de glicerol, monolaurato de propilenglicol, etanol, eucaliptol, lecitina, las azacicloheptan-2-onas 1-sustituidas, particularmente 1-n-dodecilciclazacicloheptan-2-ona (disponible con la marca comercial Azone® de Nelson Research & Development Co., Irvine, CA), “compuestos de desordenamiento de la envuelta celular” tales como laurato de metilo o ácido oleico en combinación con N-(hidroxietil)pirrolidona, dioles C 3-C 4, o un sistema binario de ácido oleico, oleínas o alcohol oleílico en combinación con un alcohol inferior.

10 También se descubre que una formulación líquida de este tipo se usa para aumentar la eficacia de tratamiento sobre psoriasis, por ejemplo psoraleno, glucocorticoides, inhibidores de calcineurina (por ejemplo, tacrolimús), e inhibidores de histona desacetilasa.

15 También se descubre que puede usarse eficazmente un método de terapia fotodinámica que usa luz en el espectro visible para el tratamiento de una afección de la piel asociada con acumulación de leucocitos en la piel. Estas afecciones pueden incluir linfoma de células T cutáneo y psoriasis. En comparación con la terapia fotodinámica usando luz UV, el uso de luz visible es mucho más seguro, puesto que elimina el efecto mutágeno y carcinogénico perjudicial de la luz UV. Un experto en la técnica habitual seleccionaría uno o más fotosensibilizadores apropiados que presenten efecto citotóxico cuando se exponen a la luz visible de una longitud de onda particular, aplicaría el fotosensibilizador seleccionado a una lesión cutánea del paciente que estaría aquejado de la afección de la piel y expondría el área de piel tratada al espectro apropiado de luz visible. Se muestra que la hipericina es segura y eficaz para el tratamiento de LCTC y psoriasis según este método. Fotosensibilizadores adecuados para este método particular son preferiblemente permeables en la piel, o pueden hacerse permeables en la piel con disolvente o potenciadores de la permeación en la piel. También es preferible que los fotosensibilizadores produzcan oxígeno singular cuando se exponen a la luz en el espectro visible. Pueden usarse otros fotosensibilizadores según este método. Como ejemplo sin limitación, puede aplicarse ácido aminolevulínico, por vía tópica, en concentraciones del 10 al 20% y exponerse a la luz a 600-700 nm.

20 Las formaciones líquidas y métodos de tratamiento detallados anteriormente pueden adaptarse al tratamiento de verrugas. Particularmente, puede usarse terapia fotodinámica de hipericina. En este ejemplo particular, se establece que la hipericina, *in vitro*, tiene actividad viricida activada por luz. La activación por luz de hipericina (a concentraciones de 1 ~ 20 J.tg) durante 15 - 30 minutos inactiva títulos infecciosos (5 - 6 log<sub>10</sub>) de VIH y de virus de la diarrea bovina (VDVB).

25 Tal como se usa en el presente documento, el término “hipericina y derivado de hipericina” significa hipericina, protohipericina, pseudohipericina, heliantrona, o una combinación de las mismas. Está claro para un experto en la técnica que pueden realizarse numerosas modificaciones insignificantes en la estructura química de la hipericina, protohipericina, pseudohipericina o heliantrona y que muchas de tales modificaciones no alterarán significativamente la actividad biológica de la molécula. Por tanto, las moléculas de hipericina, protohipericina, pseudohipericina y heliantrona que se han modificado de manera no significativa, de manera que la actividad biológica no se ha alterado significativamente, se incluyen dentro de la definición de un derivado de hipericina apropiado. Un experto en la técnica apreciará que puedan usarse los métodos enseñados en el presente documento para distinguir moléculas de hipericina, protohipericina, pseudohipericina o heliantrona modificadas que tienen actividad biológica alterada de manera no significativa de las que tienen actividad biológica alterada significativamente.

30 Tal como se usa en el presente documento, el término “luz visible” y “luz en el espectro visible” significa la parte del espectro electromagnético que es visible para o puede detectarse por el ojo humano. La radiación electromagnética en este intervalo de longitudes de onda se denomina luz visible o simplemente luz. Un ojo humano típico responderá a longitudes de onda de desde aproximadamente 390 hasta 750 nm. Normalmente, la luz violeta está entre aproximadamente 380-450 nm, la luz azul está entre aproximadamente 450-495 nm, la luz verde está entre aproximadamente 495-570 nm, la luz amarilla está entre aproximadamente 570-590 nm, la luz naranja está entre aproximadamente 590-620 nm y la luz roja está entre aproximadamente 620-750 nm.

**REIVINDICACIONES**

1. Formulaci3n l3quida para su uso en el tratamiento t3pico de psoriasis, que comprende:
- 5 un fotosensibilizador en la cantidad del 0,001% al 1%, en la que el fotosensibilizador presenta citotoxicidad cuando se expone a la luz en el espectro visible y el fotosensibilizador es hipericina o un derivado de hipericina;
- 10 y un disolvente org3nico en la cantidad del 25% al 75%, en la que el disolvente org3nico aumenta la permeabilidad de la piel y el disolvente org3nico es dimetilsulf3xido.
2. Formulaci3n l3quida de un fotosensibilizador seg3n la reivindicaci3n 1 para su uso en el tratamiento de psoriasis que comprende las etapas de:
- 15 aplicar por v3a t3pica la formulaci3n l3quida a una lesi3n cut3nea de un paciente aquejado de psoriasis; y exponer la lesi3n cut3nea a una fuente de luz.
3. Formulaci3n l3quida para su uso seg3n la reivindicaci3n 2, en la que la fuente de luz es una fuente de luz visible que emite luz que tiene una longitud de onda de entre 500 nm y 650 nm, una longitud de onda de entre 390 nm y 750 nm, una longitud de onda de entre 380 nm y 750 nm, una longitud de onda de entre 495 nm y 570 nm, una longitud de onda de entre 450 nm y 495 nm, una longitud de onda de entre 570 nm y 590 nm, una longitud de onda de entre 590 nm y 620 nm, o una longitud de onda de entre 620 nm y 750 nm.
- 20