

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 637 373**

51 Int. Cl.:

A61Q 9/04	(2006.01) A61N 5/067	(2006.01)
A61Q 9/00	(2006.01) A61N 5/06	(2006.01)
A61K 9/00	(2006.01) A61Q 19/00	(2006.01)
A61K 41/00	(2006.01) A61K 8/02	(2006.01)
A61B 17/50	(2006.01) A61K 8/11	(2006.01)
A61B 18/06	(2006.01) A61K 8/19	(2006.01)
A61B 18/20	(2006.01)	
A61K 9/51	(2006.01)	
B82Y 5/00	(2011.01)	
A61B 18/00	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.08.2011 PCT/US2011/049464**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **01.03.2012 WO12027728**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.08.2011 E 11820765 (3)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.07.2017 EP 2608762**

54 Título: **Composiciones y métodos para la termomodulación dirigida**

30 Prioridad:

27.08.2010 US 402305 P
13.12.2010 US 422612 P
01.04.2011 US 201161516308 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.10.2017

73 Titular/es:

SIENNA BIOPHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
30699 Russell Ranch Road, Suite 140
Westlake Village, CA 91362, US

72 Inventor/es:

HARRIS, TODD JAMES y
CHEN, ALICE ANN

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 637 373 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

Composiciones y métodos para la termomodulación dirigida

Campo de la invención

El campo de la invención es nanopartículas para uso en procedimientos cosméticos, de diagnóstico y/o terapéuticos.

5 Antecedentes de la invención

10 Los tratamientos de la piel con láser son ampliamente conocidos y han sido muy promocionados para uso terapéutico y cosmético. Terapéuticamente, los usos potenciales para la terapia de piel con láser incluyen la ablación con láser de células cancerosas en pacientes con cáncer y la ablación con láser de tejido dañado en víctimas de quemaduras. Las aplicaciones cosméticas para la terapia de la piel con láser son mucho más numerosas e incluyen la eliminación/ reducción del vello, el tratamiento de la discromía, el encogimiento de la piel después de operaciones 15 como la liposucción, el tratamiento del acné, la abrasión química o física de marcas no deseadas en la piel, tratamientos quirúrgicos que incluyen reducción de la nariz y levantamientos faciales y de cuello, y otros fines estéticos para remodelación de la piel. Varias opciones de tales tratamientos se describen, por ejemplo, en los documentos US 2006/078578 A1, WO 2006/122222 A2, US 2005/203495, US 2005/175649 A1, US 2010/057068 A1, WO 2005/092286 A2 y WO 2006/051542 A1.

Sumario de la invención

20 A pesar de la promesa de terapia con láser para productos terapéuticos y cosméticos para la piel, los procedimientos actuales con láser tienen una eficacia limitada, requiriendo un número prohibitivo de tratamientos repetidos y aumento de los costes. Los tratamientos no óptimos con láser también tienen una especificidad limitada, lo que resulta en efectos secundarios clínicos debilitantes, tales como daño cutáneo no específico, irritación de la piel y cicatrización.

25 Los sistemas de depilación a base de luz adolecen de tasas particularmente bajas de eficacia en la eliminación del cabello claro (vello, rubio, gris, pelirrojo). Los tratamientos múltiples (incluso 6 o más) son insuficientes para lograr un resultado terapéutico en pacientes con cabello rubio-gris o pelirrojo, incluso con el uso de cromóforos aplicados tópicamente como el carbono. Además de la depilación del cabello claro, la tecnología por termoablación tiene potencial sin explotar en los campos de la cicatrización de heridas, remodelación de tejidos, reparación vascular y tratamiento del acné.

30 El acné vulgar es el resultado de la obstrucción de la unidad pilosebácea, que consiste en el vástago capilar, el folículo capilar, la glándula sebácea y el músculo erector capilar, lo que conduce a la acumulación de sebo producido a partir de la glándula sebácea y la posterior colonización de bacterias dentro del folículo. Los microcomedones se forman como resultado del progreso de sebo acumulado hasta manchas de la piel no inflamadas (blancas/espinillas), o hasta imperfecciones de la piel que reclutan células inflamatorias y conducen a la formación de pápulas, nódulos y quistes llenos de pus. Las secuelas del acné vulgar no tratado a menudo incluyen hiperpigmentación, cicatrización y desfiguración, así como un malestar psicológico significativo. Por lo tanto, los 35 tratamientos del acné buscan ampliamente para reducir la acumulación de sebo y microorganismos dentro de los folículos y la glándula sebácea.

40 Los métodos que implican luz y láser son prometedores para el tratamiento de trastornos cutáneos, pero son todavía insuficientemente eficaces. La luz ultravioleta (UV)/azul está aprobada por la FDA para el tratamiento del acné leve a moderado solamente, debido a sus efectos antiinflamatorios mediados en células de la piel (queratinocitos), potencialmente a través de la acción de fotosensibilizadores endógenos de porfirina dentro de los folículos. Los precursores de porfirina exógenos tales como el ácido 5-aminoluveulínico (5-ALA) se han formulado para administración tópica u oral y se muestra que se acumulan dentro de los folículos sebáceos, absorben los fotones por la exposición a la luz roja y forman especies reactivas de oxígeno que dañan directamente las membranas celulares y las proteínas. Este procedimiento que combina aplicación de porfirina y luz roja de alta intensidad, 45 denominado "terapia fotodinámica", ha demostrado que reduce la producción de sebo y el acné en un 50% durante 20 semanas después de la irradiación. Sin embargo, se requieren energías de alta intensidad (50-150 J/cm²) para dañar las estructuras cutáneas de las glándulas sebáceas, y la penetración transdérmica de porfirina conduce a efectos secundarios no deseados que incluyen sensibilidad a la luz, dolor, inflamación, hiper/hipopigmentación y cicatrices permanentes.

50 Para que la terapia con láser alcance su utilidad completa en el tratamiento de trastornos de la piel humana, se deben conseguir métodos para inducir localmente la fotodestrucción en estructuras de la piel sin afectar los tejidos circundantes.

55 Se proporcionan en la presente memoria, véanse las reivindicaciones anexas, nuevas composiciones y métodos útiles en la termomodulación dirigida de poblaciones de células objetivo y tejidos objetivo, para los fines de tratamientos cosméticos y el tratamiento y prevención de enfermedades y trastornos crónicos y agudos.

Se describen aquí composiciones que comprenden un portador cosméticamente aceptable y una pluralidad de nanopartículas plasmónicas en una cantidad eficaz para inducir termomodulación en una región de tejido objetivo con la cual se pone en contacto tópicamente la composición.

5 La composición comprende nanopartículas plasmónicas que se activan por exposición a la energía suministrada desde una fuente de resonancia de plasmón de superficie de excitación no lineal a la región de tejido objetivo. Se describen en la presente memoria composiciones que comprenden al menos una nanopartícula plasmónica que comprende un metal, un compuesto metálico, un óxido metálico, una sal metálica, un conductor eléctrico, un superconductor eléctrico, un semiconductor eléctrico, un dieléctrico, un punto cuántico o un compuesto a partir de
10 una combinación de los mismos. Se describe en la presente memoria una composición en la que una cantidad sustancial de las partículas plasmónicas presentes en la composición comprenden nanoestructuras con ajuste geométrico. Se describe en la presente memoria una composición en la que las partículas plasmónicas comprenden cualquier forma geométrica actualmente conocida o que se crea que absorba luz y genere resonancia de plasmón a una longitud de onda deseada, incluyendo nanoplacas, nanocorazas sólidas, nanocorazas huecos, nanobarras, nanoarrozcos, nanoesferas, nanofibras, nanoalambres, nanopirámides, nanoprismas, nanoestrellas o una
15 combinación de los mismos. Las partículas plasmónicas comprenden plata y/u oro, y pueden comprender además níquel, cobre, titanio, silicio, galio, paladio, platino o cromo.

En algunas realizaciones, se proporciona aquí una composición que comprende un portador cosméticamente aceptable que comprende un aditivo, un colorante, un emulsionante, una fragancia, un humectante, un monómero polimerizable, un estabilizador, un disolvente o un surfactante. En una realización, se proporciona aquí una
20 composición en la que el surfactante se selecciona del grupo que consiste en: lauret 2-sulfato de sodio, dodecil sulfato de sodio, lauril sulfato de amonio, octech-1/deceth-1 sulfato de sodio, lípidos, proteínas, péptidos o derivados de los mismos. En una realización, se proporciona una composición en la que un surfactante está presente en una cantidad entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 10,0% peso a peso del portador. En otra realización más, el disolvente se selecciona del grupo que consiste en agua, propilenglicol, alcohol, hidrocarburo, cloroformo, ácido,
25 base, acetona, éter dietílico, dimetilsulfóxido, dimetilformamida, acetonitrilo, tetrahidrofurano, diclorometano y acetato de etilo. En una realización, la composición comprende partículas plasmónicas que tienen una densidad óptica de al menos aproximadamente DO 1 a una o más longitudes de onda de resonancia de pico.

Las partículas plasmónicas comprenden un recubrimiento hidrofílico o alifático, en el que el recubrimiento no se adsorbe sustancialmente en la piel de un sujeto mamífero, y en el que el recubrimiento comprende polietilenglicol, sílice, óxido de sílice, polivinilpirrolidona, poliestireno, una proteína o un péptido. En incluso una realización
30 adicional, la termomodulación comprende daño, ablación, lisis, desnaturalización, desactivación, activación, inducción de inflamación, activación de proteínas de choque térmico, perturbación de la señalización celular o alteración del microambiente celular en la región de tejido objetivo. Aún más, en ciertas presentaciones, la región tisular objetivo comprende una glándula sebácea, un componente de una glándula sebácea, un sebocito, un
35 componente de un sebocito, sebo o un infundíbulo de folículo piloso. En otras formas de realización, la región de tejido objetivo comprende una protuberancia, un bulbo, una célula madre, un nicho de células madre, una papila dérmica, una corteza, una cutícula, una vaina de pelo, una médula, un músculo erector del pelo, una capa de Huxley o una capa de Henle.

Se describen en la presente memoria métodos para realizar la ablación dirigida de tejido que comprende las etapas de i) administrar tópicamente a una superficie de la piel del sujeto la composición de la reivindicación 1; ii) proporcionar medios de penetración para redistribuir las partículas plasmónicas desde la superficie de la piel a un
40 componente del tejido dérmico; y iii) provocar la irradiación de la superficie de la piel por la luz. En otras realizaciones o realizaciones adicionales, se proporciona un método en el que la fuente de luz comprende excitación de mercurio, xenón, deuterio o un haluro metálico, fosforescencia, incandescencia, luminiscencia, diodo emisor de
45 luz o luz solar. En otras realizaciones o realizaciones adicionales, se proporciona un método en el que los medios de penetración comprenden ultrasonido de alta frecuencia, ultrasonido de baja frecuencia, masaje, iontoforesis, flujo de aire de alta presión, flujo de líquido a alta presión, vacío, tratamiento previo con fototermólisis fraccionada o dermoabrasión, o una combinación de los mismos. En otras realizaciones adicionales, se proporciona un método en el que la irradiación comprende luz que tiene una longitud de onda de luz entre aproximadamente 200 nm y
50 aproximadamente 10.000 nm, una fluencia de aproximadamente 1 hasta aproximadamente 100 julios/cm², un ancho de pulso de aproximadamente 1 femptosegundo hasta aproximadamente 1 segundo, y una frecuencia de repetición de aproximadamente 1 Hz hasta aproximadamente 1 THz.

También se describe aquí una composición que comprende un portador cosméticamente aceptable, una cantidad eficaz de dodecilsulfato de sodio y una pluralidad de nanopartículas plasmónicas en una cantidad eficaz para inducir
55 daño térmico en una región de tejido objetivo con la cual la composición se pone en contacto tópicamente, en donde las nanopartículas tienen una densidad óptica de al menos aproximadamente DO 1 a una longitud de onda de resonancia de aproximadamente 810 nanómetros o 1.064 nanómetros, donde las partículas plasmónicas comprenden un recubrimiento de sílice de aproximadamente 5 hasta aproximadamente 35 nanómetros, en donde el portador aceptable comprende agua y propilenglicol.

60 También se describe un sistema para la ablación por láser de pelo o tratamiento de acné que comprende una composición y una fuente de energía plasmónica adecuada para su aplicación a la piel humana.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 es ilustrativa de esquemas que representan ciertas realizaciones del uso de formulaciones para la depilación y el tratamiento del acné. Se representa (A) para la eliminación de pelo, la formulación plasmónica de nanopartículas (negro) que es 1. aplicada tópicamente a la piel humana, 2. introducida profundamente en el folículo y lavada de la superficie de la piel, 3. irradiada con un láser clínico a una longitud de onda resonante a la longitud de onda de absorción máxima de la partícula plasmónica, y 4. se desprenden del folículo junto con el folículo piloso dañado; y (B) para el tratamiento del acné, la formulación plasmónica de nanopartículas (negro) que es 1. aplicada tópicamente a la piel humana, 2. suministrada específicamente a la glándula sebácea y lavada de la superficie de la piel, 3. irradiada con un láser clínico a una longitud de onda resonante a la longitud de onda de absorción máxima de la partícula plasmónica, y 4. se desprenden del sitio objetivo donde se destruyen el sebo acumulado y la capacidad de producción de sebo de la glándula sebácea.

La Figura 2 es ilustrativa de un perfil de temperatura de ciertas formas de realización de las formulaciones de nanopartículas plasmónicas (SL-001, triángulos) proporcionadas en este documento en comparación con ejemplos de colorantes clínicos actuales, loción de carbono (círculos), aerosol de meladina (diamantes) y verde de indocianina (cuadrados), después de la exposición a 1.064 nm, 20 J/cm², pulsos láser de 55 ms. SL-001 y los colorantes se diluyeron igualmente 1:1.000 a partir de la concentración clínica (SL-001 1.000 DO, carbono 20-200 mg/ml, meladina 1 mg/ml, ICG 5 mg/ml) .n = 3, error estándar de la media.

La Figura 3 es ilustrativa de la penetración del folículo piloso de nanopartículas marcadas fluorescentemente, que se determinan usando explantes de piel porcina y formación de imagen confocal de ciertas realizaciones del objeto descrito en la presente memoria. Se representa (A) un esquema de la piel porcina tratada, seccionada y formando una imagen en ángulo con el folículo, en dos planos seriales de 60 µm: 'plano 1' (mostrando el infundíbulo folicular) y 'plano 2' (mostrando el folículo profundo); (B) las imágenes confocales representativas muestran nanopartículas fluorescentes rojas (548 nm) dentro del folículo superficial y profundo, pero no en la dermis subyacente; y (C) nanopartículas fluorescentes rojas retenidas en el folículo profundo (~ 400 µm) con gran aumento. El verde es la autofluorescencia del tejido.

La Figura 4 es ilustrativa de una penetración de folículos pilosos de nanopartículas plasmónicas determinada usando explantes de piel porcina y formación de imágenes de campo oscuro. Se muestra (A) un esquema de la piel porcina tratada, seccionada y formando una imagen horizontal con el folículo; (B) las partículas plasmónicas de color azul brillante son visibles en una sección de 1,2 mm de profundidad, y se diferencian de (C) piel de porcino no tratada (control negativo), donde no hay pigmentos visibles.

La Figura 5 representa las observaciones clínicas en piel humana viva tratada con láser únicamente (antebrazo izquierdo) o partículas plasmónicas + láser (antebrazo derecho), demostrando daños fototérmicos no específicos y específicos. (A, B) En el panel superior, se irradió piel humana con pulsos de láser de 810 nm (30 J/cm², 30 ms, 2 pasadas) solo (A), o después del tratamiento con una formulación resonante a 830 nm, nanopartículas plasmónicas no recubiertas en propilenglicol al 20% (B). La formulación de nanopartículas plasmónicas se aplicó con un masaje de 3 minutos, y la superficie de la piel se limpió con 3 aplicaciones de agua y etanol en forma alternante antes de la irradiación con láser. A los 30 minutos siguientes a la irradiación láser, se observaron quemaduras clínicas no específicas en B en comparación con A, debido a un calentamiento fototérmico significativo de las partículas residuales, no recubiertas sobre la superficie de la piel. (C, D) En el panel inferior, se irradió piel humana con pulsos de láser de 1.064 nm (40 J/cm², 55 ms, 3 pasadas) solo (C), o después del tratamiento con una formulación resonante a 1.020 nm, nanopartículas plasmónicas recubiertas con sílice en propilenglicol al 20% (D). La formulación de nanopartículas plasmónicas se aplicó con un masaje de 3 minutos, y la superficie de la piel se limpió con 3 aplicaciones de agua y etanol en forma alternante antes de la irradiación con láser. A los 30 minutos siguientes a la irradiación con láser, no se observó evidencia de quemadura de la piel o eritema en D o C, ya que las partículas recubiertas con sílice podrían ser suficientemente limpiadas de la superficie de la piel. La fotografía ampliada de D mostró un daño fototérmico específico (eritema perifolicular y edema) en el sitio objetivo de las nanopartículas.

La Figura 6 es una fotografía que muestra daño fototérmico específico de nanopartículas en piel humana viva tratada con una formulación de nanopartículas plasmónicas y láser clínico. Se puso en contacto una formulación de nanopartículas plasmónicas resonantes a 1020 nm, recubiertas con sílice (200 nm de diámetro) en propilenglicol al 20% y un masaje de 3 minutos con piel humana viva. El procedimiento se repitió 3 veces y se limpió la superficie de la piel con 3 aplicaciones de agua y etanol en forma alternante para eliminar las partículas residuales. La piel tratada se irradió con pulsos de láser de 1.064 nm (40 J/cm², 55 ms, 3 pasadas). Después de la irradiación con láser, la observación clínica del eritema perifolicular y el edema fueron visibles en los folículos pilosos donde se dirigieron las nanopartículas, pero no eran visibles en el tejido circundante o no tratado con partículas.

La Figura 7 es ilustrativa de la administración de una formulación de nanopartículas plasmónicas a una glándula sebácea de la piel humana. (A) Imagen microscópica confocal de una biopsia y sección de piel humana, inmunotefñida para la membrana basal del colágeno IV (azul) y marcador del nervio PGP 9.5 (verde), muestra la microanatomía del folículo piloso (HF) y de la glándula sebácea (SG). El rojo es de nanopartículas de sílice (200 nm). (B) Imagen esquemática y de microscopio de campo oscuro de piel humana extirpada tratada con una

formulación de nanopartículas plasmónicas, luego seccionada y formando una imagen horizontal con el folículo. Las partículas plasmónicas azules brillantes son visibles hasta 400 μm de profundidad y dentro de la glándula sebácea humana.

5 La Figura 8 es ilustrativa de formulaciones cosméticas de nanopartículas plasmónicas para la selección de glándulas sebáceas que incluyen surfactantes. Se formularon nanopartículas recubiertas con sílice (200 nm de diámetro, DO 100) en propilenglicol al 20% con adición de surfactantes de dodecilsulfato de sodio (SDS) o de lauret 2-sulfato de sodio (SLES), aplicados a la piel humana con masaje + ultrasonido y se seccionó la piel en planos horizontales para microscopía de campo oscuro. (A) Formulaciones de partículas plasmónicas en SDS al 1%/PG al 20% penetraron en la glándula sebácea hasta 400 μm como en la Figura 7. (B) Las formulaciones de partículas plasmónicas en SLES al 10 1%/PG al 20% penetraron en la glándula sebácea hasta 600 μm . La inserción muestra una sección de piel sin partículas visibles (barra de escala 40 μm). La glándula sebácea está pseudoesbozada.

15 La Figura 9 es una imagen que representa el impacto del masaje frente al ultrasonido en nanopartículas destinadas al folículo humano y la glándula sebácea. Se formularon nanopartículas recubiertas con sílice (200 nm de diámetro, DO 100) en SDS al 1%/propilenglicol al 20% y se aplicaron a la piel humana con masaje o ultrasonido. Las imágenes de campo oscuro de secciones planas horizontales tomadas con una ampliación baja (20x) y alta (50x) muestran (A) poca o ninguna acumulación de partículas plasmónicas en el infundíbulo folicular después del masaje solo, comparado con (B) expansión del infundíbulo folicular y acumulación significativa de partículas plasmónicas después del ultrasonido solo.

20 La Figura 10 representa una realización de las formulaciones cosméticas de nanopartículas plasmónicas destinadas a las glándulas sebáceas. Las nanopartículas plasmónicas que comprenden diferentes formas y recubrimientos se formularon en SDS al 1%/propilenglicol al 20% y se aplicaron a piel humana con masaje + ultrasonido, y la piel se seccionó en planos horizontales para microscopía de campo oscuro. (A) Se observaron nanobarras recubiertas con polietilenglicol (PEG) (oro, dimensión 15 x 30 nm) dentro del infundíbulo folicular hasta 200 μm de profundidad (flecha blanca). (B) Concentración más baja (DO 10). Se observaron nanoplacas recubiertas con sílice (plata, diámetro 200 nm) hasta 600 μm de profundidad en el folículo y en la glándula sebácea (flecha sin relleno). El 25 recuadro muestra secciones de piel sin partículas visibles (barra de escala 100 μm).

Descripción detallada de la invención

30 La biología del crecimiento y remodelación fisiológico y fisiopatológico del tejido y las alteraciones en la morfología celular son más complejas de lo que generalmente se aprecia, implicando una red interactiva de compuestos biológicos, fuerzas físicas y tipos de células.

35 Un objeto del asunto descrito en la presente memoria es proporcionar composiciones, métodos y sistemas para el tratamiento no invasivo y mínimamente invasivo de la piel y tejidos subyacentes, u otros espacios de tejido accesibles con el uso de nanopartículas. El tratamiento incluye depilación y eliminación o reducción del acné. También se describen en el presente documento crecimiento y regeneración del cabello, rejuvenecimiento o resurgimiento de piel, reducción de arrugas, reducción de poros, ablación de celulitis y otras deposiciones de lípidos 40 dérmicos, eliminación de verrugas y hongos, adelgazamiento o eliminación de cicatrices incluyendo cicatrices hipertróficas y queloides, pigmentación anormal (tal como manchas de vino de puerto), eliminación de tatuajes e inconsistencias de la piel (por ejemplo, en textura, color, tono, elasticidad, hidratación). Otros métodos terapéuticos o preventivos descritos en la presente memoria incluyen, pero sin limitación, el tratamiento de la hiperhidrosis, la anhidrosis, el síndrome de Frey (sudación gustativa), el síndrome de Horner y el síndrome de Ross, queratosis 45 actínica, queratosis folicular, dermatitis, vitíligo, pitiriasis, psoriasis, liquen plano, eccema, alopecia, psoriasis, tumores de piel malignos o no malignos.

45 A menos que se explique lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente memoria tienen el mismo significado que comúnmente entiende un experto en la técnica al que pertenece esta descripción. Aunque pueden usarse métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente memoria en la práctica o prueba de la presente descripción, se describen aquí métodos y materiales adecuados. Los materiales, métodos y ejemplos son sólo ilustrativos y no pretenden ser limitativos. Otras características de la descripción son evidentes a partir de la siguiente descripción detallada y las reivindicaciones.

50 "Administrar" y "administración" tal como se usan en el presente documento, incluyen proporcionar o provocar la provisión de un material a un sujeto, tal como por vía tópica, subdérmica, subcutánea, intradérmica, enteral, parenteral, rectal, nasal, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal u otra vía.

55 Un "portador adecuado para administración" a un sujeto es cualquier material que sea fisiológicamente compatible con una vía tópica o ruta de administración a un sujeto vertebrado deseado. Los portadores pueden incluir materiales sólidos, secos para la formulación; o el portador puede incluir materiales líquidos o basados en gel para formulaciones en formas líquidas o en gel. El tipo específico de portador, así como la formulación final depende, en parte, de la ruta o rutas seleccionadas de administración y del tipo de producto.

Una "cantidad comparable" es una cantidad que es sensiblemente similar a una referencia o patrón dado.

Los "componentes" de una formulación incluyen cualquier producto o compuesto asociado o contenido dentro de los mismos.

5 Una "dosis eficaz", "cantidad eficaz" o "cantidad terapéutica" es una cantidad suficiente para provocar los efectos farmacológicos, cosméticos o terapéuticos deseados, dando como resultado una prevención o tratamiento eficaz de una enfermedad o trastorno, o proporcionar un beneficio en un sujeto vertebrado.

10 Un "efecto terapéutico" o "efecto terapéuticamente deseable" se refiere a un cambio en un dominio o región que se está tratando de tal manera que exhibe signos de que se efectúa de la manera deseada, por ejemplo, el tratamiento del cáncer provoca la destrucción de células tumorales o detenciones del crecimiento de las células tumorales, el tratamiento del acné causa una disminución en el número y/o la severidad de las imperfecciones, el tratamiento de depilación conduce a la pérdida evidente del cabello, o el tratamiento de reducción de arrugas hace que las arrugas desaparezcan.

Un componente biológico "aislado" (tal como una molécula de ácido nucleico, proteína o célula) ha sido sustancialmente separado o purificado lejos de otros componentes biológicos en los que se produjo el componente, incluyendo cualquier otra proteína, lípidos, carbohidratos y otros componentes.

15 Una "nanopartícula", como se usa en la presente memoria, se refiere generalmente a una partícula que tiene al menos una de sus dimensiones de aproximadamente 0,1 nm hasta aproximadamente 9.000 nm.

Un "sujeto" o "paciente" tal como se usa en la presente invención es cualquier especie vertebrada.

Como se usa en este documento, un compuesto "sustancialmente puro" o "sustancialmente aislado" está sustancialmente libre de uno o más de otros compuestos.

20 Un "tejido objetivo" incluye una región de un organismo en la que se desea una fuerza o cambio físico o químico. Como se describe en la presente memoria, los ejemplos de tejidos objetivo para el tratamiento del acné incluyen una glándula sebácea, mientras que los ejemplos de tejidos objetivo para la eliminación del vello incluyen una unidad pilosebácea, un infundíbulo capilar, un folículo piloso o una epidermis no folicular. Una "región" de un tejido objetivo incluye uno o más componentes del tejido. Los ejemplos de regiones de tejido objetivo incluyen el nicho de células madre, la protuberancia, la glándula sebácea, la papila dérmica, la corteza, la cutícula, la vaina interna de la raíz, la vaina externa de la raíz, la médula, la capa de Huxley, la capa de Henle o el músculo erector del pelo. Un "dominio" de una región de tejido objetivo incluye la membrana basal, la matriz extracelular, las proteínas de la superficie celular, las proteínas/analitos no enlazados, las glicomatrices, las glicoproteínas o la bicapa lipídica.

30 Un compuesto que está "sustancialmente libre" de algunos contenidos adicionales está total o casi totalmente sin dichos contenidos.

Una "nanopartícula plasmónica" es una estructura metálica de tamaño nanométrico dentro de la cual los plasmones de superficie localizados son excitados por la luz. Estos plasmones superficiales son ondas electromagnéticas superficiales que se propagan en una dirección paralela a la interfaz metal/dieléctrica (por ejemplo, metal/aire o metal/agua).

35 Un "nanomaterial absorbente de luz" incluye un nanomaterial capaz de demostrar un efecto de tamaño cuántico.

Como se describe aquí, se proporcionan composiciones que contienen nanopartículas plasmónicas para inducir termomodulación selectiva en un tejido objetivo.

Nanopartículas plasmónicas.

40 Dichas composiciones contienen de aproximadamente 10^9 hasta aproximadamente 10^{16} nanopartículas, tales como 10^9 , 10^{10} , 10^{11} , 10^{12} , 10^{13} , 10^{14} , 10^{15} , 10^{16} partículas. Preferiblemente, las composiciones contienen aproximadamente 10^{11} a 10^{13} partículas de modo que la cantidad de partículas localizadas en un volumen de tratamiento eficaz de 1 ml es de 10^9 a 10^{11} . En ciertas realizaciones en las que se desea una mayor concentración de nanopartículas en una región objetivo, las composiciones contienen concentraciones de partículas con densidades ópticas (DO) de 10 - 1.000, o densidades ópticas mayores de 1.000. En algunas realizaciones, éstas corresponden a concentraciones de aproximadamente 1-10% p/p o más de nanopartículas.

45 Las nanopartículas pueden ser homogéneas o heterogéneas en tamaño y otras características. El tamaño de la nanopartícula es generalmente de aproximadamente 0,1 nm hasta aproximadamente 5.000 nm en al menos una dimensión. Es de esperar cierta variación en el tamaño de una población de nanopartículas. Por ejemplo, la variación puede ser menor al 0,01%, 0,1%, 0,5%, 1%, 5%, 10%, 15%, 25%, 50%, 75%, 100%, 200% o más de 200%. En ciertas realizaciones en las que se desea una resonancia plasmónica óptima, se proporciona un tamaño de partícula en el intervalo de aproximadamente 10 nm hasta aproximadamente 100 nm. Alternativamente, en realizaciones en las que se desea una penetración mejorada de las nanopartículas en una región de tejido objetivo tal como un folículo piloso, se proporciona un tamaño de partícula en el intervalo de aproximadamente 100 nm hasta aproximadamente 1.000 nm. La modulación del tamaño de partícula presente en la composición es también un

5 medio útil para concentrar la composición en un dominio objetivo. Además, como se describe en la presente memoria, se pueden usar nanopartículas que tienen un intervalo de tamaños desde aproximadamente 10 nm hasta aproximadamente 100 nm como componentes de una estructura molecular más grande, generalmente en el intervalo de aproximadamente 100 nm hasta aproximadamente 1.000 nm. Por ejemplo, la nanopartícula plasmónica puede recubrirse superficialmente para aumentar su tamaño, embeberse en un portador aceptable, o puede ser entrelazada o agregada a otras partículas, o a otros materiales, que generan una partícula mayor. En ciertas realizaciones en las que al menos una dimensión de al menos una nanopartícula dentro de una solución de nanopartículas plasmónicas está por debajo de 50-100 nm, la superficie de las nanopartículas puede recubrirse con una matriz (por ejemplo, sílice) de 10-100 nm de espesor o más con el fin de aumentar esa dimensión o partícula hasta 50-100 nm o más. Este mayor tamaño puede incrementar el suministro de todas las nanopartículas a una región objetivo (por ejemplo, folículo piloso) y limitar el suministro a una región no objetivo (por ejemplo, dermis).

15 Consideraciones importantes al generar nanopartículas incluyen: 1) el potencial zeta (positivo, negativo, o neutro) y densidad de carga de las partículas y composiciones resultantes; 2) la hidrofiliidad/hidrofobicidad de las partículas y las composiciones resultantes; 3) la presencia de una capa de adsorción (por ejemplo, un plano de deslizamiento de partículas); y 4) propiedades de adhesión a las células objetivo. A las superficies de las nanopartículas se les puede añadir grupos funcionales con fracciones tioladas que tienen cargas negativas, positivas o neutras (por ejemplo, ácido carboxílico, amina, hidroxilos) en diversas proporciones. Además, pueden emplearse recubrimiento superficial mediado por un anión (por ejemplo, acrilato, citrato y otros), un recubrimiento de surfactante (por ejemplo, dodecilsulfato de sodio, lauret 2-sulfato de sodio, laurilsulfato de amonio, octech-1/deceth-1 sulfato de sodio, lecitina y otros surfactantes incluyendo bromuro de cetil trimetilamonio (CTAB), lípidos, péptidos), o recubrimientos de proteína/péptido (por ejemplo, albúmina, ovoalbúmina, proteína de huevo, proteína de leche, otros alimentos, plantas, animales, bacterias, levaduras o proteína derivada de forma recombinante). También son útiles copolímeros en bloque. Además, se apreciará la utilidad de cualquier otro compuesto o material que se adhiera a la superficie de partículas que absorben la luz para promover o impedir interacciones moleculares específicas y mejorar la entrada de partículas en los poros o folículos. En algunas realizaciones, la superficie de partícula no está modificada. La modulación de la hidrofiliidad frente a la hidrofobicidad se lleva a cabo modificando las superficies de las nanopartículas con productos químicos conocidos en la técnica, incluyendo silanos, isotiocianatos, polímeros cortos (por ejemplo, PEG) o hidrocarburos con adición de grupos funcionales. Las cadenas de polímeros (por ejemplo, biopolímeros tales como proteínas, polisacáridos, lípidos e híbridos de los mismos; polímeros sintéticos tales como polietilenglicol, PLGA y otros; e híbridos sintéticos de biopolímeros) de diferentes longitudes y densidad de empaquetamiento son útiles para variar la capa de adsorción/plano de deslizamiento de las partículas.

35 Absorción óptica. Las nanopartículas preferidas tienen cualidades de absorción óptica de aproximadamente 10 nm hasta aproximadamente 10.000 nm, por ejemplo, 100-500 nm. En realizaciones específicas, las nanopartículas tienen absorción óptica útil para excitación mediante dispositivos láser estándar u otras fuentes de luz. Por ejemplo, las nanopartículas absorben a longitudes de onda de aproximadamente 755 nm (láseres de alexandrita), en el intervalo de aproximadamente 800 a 810 nm (láseres de diodo), o alrededor de 1.064 nm (láseres de Nd:YAG). De forma similar, las nanopartículas absorben luz pulsada intensa (IPL), por ejemplo, en un intervalo de alrededor de 500 nm hasta alrededor de 1.200 nm.

40 Ensamblaje. Las nanopartículas proporcionadas aquí pueden contener generalmente una colección de nanopartículas no ensambladas. Por nanopartículas "no ensambladas" se entiende que las nanopartículas de dicha colección no están unidas entre sí a través de una fuerza física o un enlace químico, ya sea directamente (partícula-partícula) o indirectamente a través de algún intermediario (por ejemplo, partícula-célula-partícula, partícula-proteína-partícula, partícula-analito-partícula). En otras realizaciones, las composiciones de nanopartículas se ensamblan en matrices ordenadas. En particular, dichas matrices ordenadas pueden incluir cualquier matriz tridimensional. En algunas realizaciones, sólo una parte de las nanopartículas están ensambladas, por ejemplo, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 86, 90, 95, 99% o más del 99% de las nanopartículas se ensamblan en una matriz ordenada. Las nanopartículas se ensamblan mediante atracción de van der Waals, una fuerza de London, un enlace de hidrógeno, una interacción dipolo-dipolo, o un enlace covalente, o una combinación de los mismos.

50 Matriz ordenada. Las "matrices ordenadas" pueden adoptar la forma de una macroestructura a partir de partes individuales que pueden estar modeladas o no modeladas en forma de esferas, coloides, perlas, óvalos, cuadrados, rectángulos, fibras, alambres, barras, corazas, películas delgadas o superficies planas. Por el contrario, una "matriz desordenada" carece de una macroestructura sustancial.

55 Nanoestructuras con ajuste geométrico. Las nanopartículas proporcionadas en la presente invención pueden ser conformadas en todas las formas actualmente conocidas o que se creen de forma que absorban luz y generen una resonancia de plasmón a una longitud de onda máxima o composición de longitudes de onda de 200 nm a 10.000 nm. En los ejemplos no limitativos, las nanopartículas tienen forma de esferas, óvalos, cilindros, cuadrados, rectángulos, barras, estrellas, tubos, pirámides, estrellas, prismas, triángulos, ramas o placas o forman una superficie plana. En los ejemplos no limitativos, las partículas plasmónicas comprenden nanoplacas, nanocorazas sólidos, nanocorazas huecos, nanobarras, nanoarroses, nanoesferas, nanofibras, nanoalambres, nanopirámides, nanoprismas, nanoplacas o una combinación de los mismos. Las partículas plasmónicas presentes en la composición comprenden una cantidad sustancial de nanoestructuras con ajuste geométrico definidas como 5, 10, 15, 25, 50, 75, 80, 85, 90, 95, 98, 99, 99,9 o más del 99,9% de las partículas.

5 Composición. La nanopartícula comprende oro y/o plata. La nanopartícula descrita en la presente memoria es un metal, compuesto metálico (por ejemplo, de plata y sílice, oro y sílice), óxido metálico (por ejemplo, óxido de hierro, óxido de titanio), sal metálica (por ejemplo oxalato de potasio, cloruro de estroncio), intermetálico (por ejemplo, aluminuro de titanio, alnico), conductor eléctrico (por ejemplo, cobre, aluminio), superconductor eléctrico (por ejemplo, óxido de itrio bario cobre, óxido de bismuto estroncio calcio cobre), semiconductor eléctrico (por ejemplo, silicio, germanio), dieléctrico (por ejemplo, sílice, plástico) o punto cuántico (por ejemplo, sulfuro de cinc, cadmio selenio). En la presente memoria los materiales descritos son oro, plata, níquel, platino, titanio, paladio, silicio, galio. Alternativamente, se describe en la presente memoria, que la nanopartícula contiene un compuesto que incluye un metal y un dieléctrico, un metal y un semiconductor, o un metal, un semiconductor y un dieléctrico.

10

ES 2 637 373 T3

Tipo de material	Propiedades	Ejemplos de materiales
Material de biorreconocimiento	Fracción con afinidad o aidez por un sustrato o analito	Anticuerpo, péptido, fago, ADN, ARN
Material bioactivo	Fracción (por ejemplo, proteína, analito) que interroga o modula la actividad de una entidad biológica o célula	Factor de crecimiento (por ejemplo, VEGF), citoquina, receptores de superficie celular, ligandos de receptor, proteína G, quinasa/fosfatasa
Material biológico	Material que se obtiene de la materia viva	albúmina, ovoalbúmina, proteína de huevo, proteína de leche, otros alimentos, plantas, animales, bacterias, levaduras, o proteína derivada en forma recombinante; péptidos; enzimas, lípidos, ácidos grasos, azúcares
Material biocida	Material activo para matar, destruir o perturbar materia biológica	Plaguicidas sintéticos o naturales, antimicrobianos sintéticos o naturales
Materiales dieléctricos	Un aislador que puede ser polarizado por un campo eléctrico	Silicio, semiconductores dopados
Material de quimiorreconocimiento	Material que es capaz de interactuar con una fracción para las reacciones de unión, biológicas o químicas	Receptor, ligando receptor, molécula química
Material químicamente activo	Material que causa la transformación de una sustancia	Aldehído, halógenos, metales
Polímero/dendrímero	Molécula de cadena larga (lineal o ramificada, bloque o copolímero en bloque)	PLGA, PEG, PEO, poliestireno, carboxilato estireno, cauchos, náilonos, siliconas, polisacáridos
Polímero sensible al medio ambiente	Molécula superficial que cambia por su medio ambiente (por ejemplo, ácido)	Enlace sensible al pH, enlace sensible a la luz, enlace sensible al calor, enlace sensible a una enzima, enlace hidrolítico
Hidrogel	Polímero con alta hidrofiliidad y capacidad "ordenadora" del agua	A base de metacrilato de 2-hidroxi etilo sintético (HEMA), a base de polietilenglicol (PEG), PLGA, PEG-diacrilato; geles iónicos naturales, alginato, gelatina, ácidos hialurónicos, fibrina
Metal	Recubrimiento de metal fino para lograr una resonancia mejorada y/o capacidad de funcionalización	Oro, plata, níquel, platino, titanio y paladio.
Semiconductores	Capa o núcleo semiconductor que mejora la resonancia del plasmón	Silicio y galio...
Polímero que contiene un marcador fluorescente	Fluoróforo entrelazado con un recubrimiento polimérico o directamente a la superficie de la partícula	Colorantes de fluoresceína, rodamina, Cy5, Cy5.5, Cy7, Alexa, colorantes Bodipy
Matriz	Revestimiento de matriz que aumenta la solubilidad de las nanopartículas y/o reduce la "adherencia" a las estructuras biológicas	Sílice, polivinilpirrolidona, polisulfona, poliácridamida, polietilenglicol, poliestireno, celulosa, carbopol.

Moléculas biológicas. La composición puede contener un péptido, un ácido nucleico, una proteína o un anticuerpo. Por ejemplo, una proteína, un anticuerpo, un péptido o un ácido nucleico que se une a una proteína de una célula

madre folicular (por ejemplo, queratina 15), una proteína, glicomatriz o lípido en la superficie de una célula o célula madre, una proteína, péptido, glicomatriz de la matriz extracelular o membrana basal.

5

Fraciones cargadas. Las nanopartículas recubiertas pueden contener fracciones cargadas por lo que dichas cargas median la unión aumentada o disminuida a componentes dentro o fuera del folículo piloso mediante interacciones electrostáticas o químicas.

Clase de fracción	Propiedades	Ejemplos de fracciones
Fraciones polares	Carga neutra, pero aumenta la hidrofiliidad en el agua	Grupos hidroxilo, isotiocianatos
Fraciones no polares	Aumenta la hidrofobicidad y/o mejora la solubilidad	Hidrocarburos, compuestos miristoilados, silanos, isotiocianatos
Fraciones cargadas	Modificaciones funcionales de la superficie que cambian el potencial zeta, punto isoeléctrico, o pKa, y adsorción/unión de impacto a compuestos complementarios de carga	Aminas, ácidos carboxílicos, hidroxilos
Fraciones iónicas	Grupos de superficie que tienen un solo ion	Sales de amonio, sales de cloruro
Fraciones básicas	Grupos que donan iones hidrógeno	Amidas, hidróxidos, óxidos metálicos, fluoruro
Fraciones ácidas	Fraciones que aceptan iones hidrógeno	Ácidos carboxílicos, ácidos sulfónicos, ácidos minerales
Fraciones oxidantes	Fraciones que oxidan	Iones manganeso, especies reactivas de oxígeno
Fraciones hidrófobas	Fraciones que mejoran la solubilidad en solución no acuosa y/o mejoran la adsorción en la piel dentro de un folículo piloso	Hidrocarburos, compuestos miristoilados, silanos
Fraciones hidrofílicas	Fraciones que son amantes del agua y evitan la adsorción	PEG, PEO, PLGA
Fraciones agnósticas	Fraciones que unen una célula objetivo, estructura o proteína de interés	Anticuerpos, péptidos, proteínas
Fraciones antagónicas	Fraciones que bloquean la unión a un objetivo de interés	Anticuerpos, péptidos, proteínas
Fraciones reactivas	Fraciones que reaccionan con componentes biológicos o no biológicos con un cambio resultante en la estructura del objetivo o	Aldehídos

Descripción de los tejidos objetivo.

10

Aplicaciones tópicas y dermatológicas. Los tejidos objetivo para aplicaciones tópicas y dermatológicas incluyen la superficie de la piel, la epidermis y la dermis. Las enfermedades o afecciones adecuadas para el tratamiento con aplicaciones tópicas y dermatológicas incluyen acné y depilación. También se describen aquí verrugas, infecciones fúngicas, psoriasis, eliminación de cicatrices, crecimiento de cabello, reducción de cicatrices hipertróficas o queloides, inconsistencias de la piel (por ejemplo, textura, color, tono, elasticidad, hidratación) y tumores de la piel malignos o no malignos.

15

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "acné" incluye el acné vulgar, así como otras formas de acné y afecciones cutáneas relacionadas, incluyendo el acné estival, el acné conglobata, el acné cosmético, el acné fulminante, el acné queloides de la nuca, el acné mecánico, el acné miliar necrótico, el acné necrótico, el cloracné, el acné inducido por fármacos, el acné escoriado, el acné halógeno, lupus miliar diseminado facial, acné pomada, acné por alquitrán y acné tropical.

Aplicaciones subdérmicas. Los tejidos objetivo descritos en la presente memoria para aplicaciones subdérmicas

incluyen el tejido adiposo y el tejido conectivo por debajo del sistema tegumentario. Las enfermedades o afecciones adecuadas para el tratamiento con aplicaciones subdermatológicas descritas aquí incluyen arrugas y tatuajes. Otras aplicaciones descritas incluyen rejuvenecimiento de la piel y/o renovación de la capa superficial, la eliminación o reducción de estrías y la ablación de la grasa.

5 De acuerdo con la invención, una región específica del tejido objetivo es un folículo piloso, una glándula sebácea, una glándula sudorípara merocrina, una glándula sudorípara apocrina o un músculo erector piloso, dentro del cual se dirige a un dominio específico. Por ejemplo, se dirige a la región protuberante del folículo piloso. Debido a que en una realización las nanopartículas son útiles para ablacinar térmicamente las células madre de folículos pilosos para la eliminación del vello, es de particular interés el direccionamiento hacia las regiones que contienen células madre de folículo piloso. Por lo tanto, la región de tejido objetivo puede incluir un nicho de células madre, protuberancia, glándula sebácea, papila dérmica, corteza, cutícula, vaina de raíz interna, vaina de raíz externa, médula, capa de Huxley, capa de Henle o músculo erector del pelo. Cada una de estas regiones puede contener células, células madre, membrana basal, matriz extracelular, factores de crecimiento, analitos u otros componentes biológicos que median el rejuvenecimiento del folículo piloso. La interrupción o destrucción de estos componentes tendría un efecto terapéutico, por ejemplo, ralentizar o detener los procesos que median el crecimiento del cabello, prevenir la secreción de sebo de la glándula sebácea, dañar o detener las células tumorales, reducir la aparición de las arrugas. También se pueden dirigir a estructuras que están muy cerca de un objetivo deseado para la ablación, especialmente cuando son capaces de conducir el calor eficazmente.

20 Dominios de localización. Se describen composiciones que contienen nanopartículas que se localizan preferentemente en un dominio de una región tisular objetivo de un sujeto mamífero al que se administra la composición.

25 Fracciones de direccionamiento. Las nanopartículas pueden diseñarse para unirse selectivamente a un dominio del tejido objetivo. Por ejemplo, las nanopartículas están unidas operativamente al dominio a través de una fracción biológica, con el fin de dirigir eficazmente las nanopartículas al dominio tisular objetivo. Preferiblemente, la fracción contiene un componente de una célula madre, una célula progenitora, un componente de matriz extracelular, un componente de membrana basal, un componente del vástago del pelo, un componente epitelial folicular o un componente epidérmico no folicular. Las fracciones biológicas incluyen proteínas tales como receptores de superficie celular, glicoproteínas o proteínas de matriz extracelular, así como carbohidratos, analitos o ácidos nucleicos (ADN, ARN) así como componentes de membrana (componentes de bicapa lipídica, microsomas).

30 Dominios de deslocalización. Las nanopartículas presentes en la composición preferentemente se deslocalizan lejos de un dominio de una región de tejido objetivo. Los dominios de deslocalización incluyen regiones específicas de un tejido en el que las nanopartículas no se agregan sustancialmente o, alternativamente, se eliminan del dominio más eficazmente. En las realizaciones preferidas, el dominio de deslocalización es una epidermis no folicular, una dermis, un componente de un folículo piloso (por ejemplo, una célula madre capilar, un nicho de células madre, una protuberancia, una glándula sebácea, una papila dérmica, una corteza, una cutícula, una vaina de la raíz interna, una vaina de la raíz externa, una médula, una capa de Huxley, una capa de Henle, un músculo erector del pelo), un infundíbulo del folículo piloso, una glándula sebácea, un componente de una glándula sebácea, un sebocito, un componente de un sebocito o sebo.

40 Fuentes de energía. Se describen aquí fuentes de resonancia de plasmón de superficie de excitación no lineal, que incluyen diversas fuentes de luz o fuentes ópticas. Los ejemplos de fuentes de luz incluyen un láser (láser iónico, láser semiconductor, láser conmutado Q, láser de funcionamiento libre o láser de fibra), diodo emisor de luz, lámpara, el sol, fuente de luz fluorescente o una fuente de luz electroluminiscente. Típicamente, la fuente de energía es capaz de emitir radiación a una longitud de onda de aproximadamente 100, 200, 300, 400, 500, 1.000, 2.000, 5.000 nm hasta aproximadamente 10.000 nm o más. La fuente de resonancia de plasmón superficial de excitación no lineal es capaz de emitir radiación electromagnética, ultrasonido, energía térmica, energía eléctrica, energía magnética o energía electrostática. Por ejemplo, la energía es radiación a una intensidad de aproximadamente 0,00005 mW/cm² hasta aproximadamente 1.000 TW/cm². La intensidad óptima se elige para inducir altos gradientes térmicos a partir de nanopartículas plasmónicas en regiones de aproximadamente 10 micrómetros a cientos de micrómetros en el tejido circundante, pero tiene un efecto residual mínimo sobre el tejido de calentamiento en el que las partículas no residen en un radio de aproximadamente 100 micrómetros o más de la nanopartícula. En ciertas realizaciones, un gradiente de calor diferencial entre la región de tejido objetivo y otras regiones de tejido (por ejemplo, la piel) es mayor a 2 veces, 3 veces, 5 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 50 veces, 100 veces o más de 100 veces.

55 La energía se puede ajustar controlando gradientes térmicos de calor en la superficie de la piel con una cámara térmica/infrarroja. Como se demuestra aquí, los métodos y sistemas de la presente descripción proporcionan una eficacia superior cuando se genera un plasmón superficial sobre las nanopartículas por la acción de la radiación. Típicamente, el plasmón se genera en forma de un fotón o, alternativamente, en forma de dos fotones, en forma de fotones múltiples, en forma escalonada o en forma de conversión ascendente.

60 Suministro de radiación. Los medios físicos de suministro de la energía desde la fuente de resonancia de plasmón de superficie de excitación no lineal a la región de tejido objetivo incluyen una fibra, guía de ondas, una punta de

contacto o una combinación de los mismos.

Las fuentes ópticas incluyen una fuente óptica CW o una fuente óptica pulsada, que puede ser una fuente óptica de una única longitud de onda polarizada (o, alternativamente, no polarizada) capaz de emitir radiación a una frecuencia de aproximadamente 200 nm hasta aproximadamente 10.000 nm. Alternativamente, la fuente óptica es una fuente óptica de polarización múltiple de longitud de onda (o, alternativamente, no polarizada) capaz de emitir radiación a una longitud de onda de aproximadamente 200 nm hasta aproximadamente 10.000 nm. La fuente óptica pulsada es generalmente capaz de emitir radiación pulsada a una frecuencia de aproximadamente 1 Hz hasta aproximadamente 1 THz. La fuente óptica pulsada es capaz de un pulso de menos de un milisegundo, microsegundo, nanosegundo, picosegundo, o femtosegundo en duración. La fuente óptica puede acoplarse a un dispositivo de enfriamiento de la superficie de la piel para reducir el calentamiento de partículas o estructuras sobre la superficie de la piel y enfocar el calentamiento a componentes dentro de folículos o estructuras de tejido en capas más profundas.

Composiciones que contienen nanopartículas. Con el fin de proporcionar una penetración dérmica óptima en el tejido objetivo, las nanopartículas plasmónicas en ciertas realizaciones se formulan en diversas composiciones. Preferentemente, las nanopartículas se formulan en composiciones que contienen agentes surfactantes 1-10% v/v (por ejemplo, dodecilsulfato de sodio, lauret 2-sulfato de sodio, laurilsulfato de amonio, octech-1/deceth-1 sulfato de sodio). Los surfactantes alteran y emulsionan el sebo u otros fluidos hidrófobos para permitir una focalización mejorada de las nanopartículas hidrofílicas en el folículo piloso, el infundíbulo, la glándula sebácea u otras regiones de la piel. Los surfactantes también disminuyen la energía libre necesaria para suministrar nanopartículas hidrofílicas en hendiduras hidrofóbicas pequeñas tales como el espacio entre el vástago del cabello y el folículo o en la glándula sebácea. Las composiciones que contienen nanopartículas también pueden incluir emulsiones a diversas concentraciones (1-20% p/v) en soluciones acuosas, disolventes de silicona/aceite, propilenglicol o cremas (por ejemplo, alcoholes, aceites, parafinas, sílices coloidales). En otras realizaciones, la formulación contiene un polímero degradable o no degradable, por ejemplo, copolímero sintético de poliláctido/coglicólido, copolímero poroso de nailon de laurilactama/caprolactama, hidroxietilcelulosa, monocapas de polielectrolito, o alternativamente, en hidrogeles naturales tales como ácido hialurónico, gelatina y otros. En realizaciones adicionales, se incluye en la formulación un PLGA en hidrogel, acrilato de PEG en la formulación. Alternativamente, en la formulación se proporciona un componente de matriz tal como sílice, poliestireno o polietilenglicol. Otras formulaciones incluyen componentes de surfactantes, una bicapa lipídica, un liposoma o un microsoma. Una nanopartícula puede comprender una partícula de tamaño micrométrico mayor.

Dosis efectivas. Como se describe en el presente documento, una dosis eficaz de las composiciones que contienen nanopartículas incluye una cantidad de partículas requerida, en algunos aspectos, para generar un gradiente de calor efectivo en una región de tejido objetivo, de modo que una porción de la región de tejido objetivo sea sometida a la acción de energía térmica de nanopartículas excitadas. Una "dosis eficaz mínima" es el número más pequeño o la concentración más baja de nanopartículas en una composición que son eficaces para conseguir el efecto biológico, físico y/o terapéutico deseado. Preferentemente, las nanopartículas plasmónicas tienen una densidad óptica DO de 10 a 1.000 en una o una pluralidad de longitudes de onda de resonancia pico.

Portadores cosméticamente aceptables. Se proporcionan composiciones cosméticas o farmacéuticas con una pluralidad de nanopartículas plasmónicas y un portador cosmético o farmacéuticamente aceptable. Generalmente, el portador y la composición deben ser adecuados para administración tópica a la piel de un sujeto mamífero, de manera que las nanopartículas plasmónicas estén presentes en una cantidad eficaz para la termomodulación selectiva de un componente de la piel. Preferentemente, las nanopartículas se formulan con un portador que contiene surfactantes 1-10% v/v (por ejemplo, dodecilsulfato de sodio, lauret 2-sulfato de sodio, laurilsulfato de amonio, octech-1/deceth-1 sulfato de sodio) para permitir la ruptura de la barrera de epidermis de la piel, emulsionar el sebo, mejorar la mezcla de nanopartículas hidrofílicas con soluciones hidrófobas y reducir las barreras entrópicas para suministrar partículas hidrofílicas a regiones hidrófobas de la piel (por ejemplo, entre el vástago capilar y la vaina o folículo circundante). En algunas realizaciones, el portador contiene un disolvente polar o no polar. Por ejemplo, los disolventes adecuados incluyen alcoholes (por ejemplo, n-butanol, isopropanol, n-propanol, etanol, metanol), hidrocarburos (por ejemplo pentano, ciclopentano, hexano, ciclohexano, benceno, tolueno, 1,4-dioxano), cloroformo, éter dietílico, agua, agua con propilenglicol, ácidos (por ejemplo, ácido acético, ácido fórmico), bases, acetona, isooctanos, dimetilsulfóxido, dimetilformamida, acetonitrilo, tetrahidrofurano, diclorometano, acetato de etilo, hidróxido de tetrametilamonio, isopropanol y otros. En otras realizaciones, un agente estabilizante tal como antioxidantes, previenen la oxidación no deseada de los materiales, secuestrantes, formando complejos de quelatos e inactivando trazas de iones metálicos que de otro modo actuarían como catalizadores, emulsionantes, surfactantes iónicos o no iónicos, colesterol o fosfolípidos, para la estabilización de emulsiones (por ejemplo, lecitina de yema de huevo, estearoilactilato de sodio, bis(2-etilhexil-sulfosuccinato de sodio (AOT)), estabilizadores ultravioleta, materiales protectores, especialmente plásticos, de los efectos nocivos de la radiación ultravioleta. En otras realizaciones, se genera un portador cosméticamente aceptable de tal manera que las nanopartículas están sustancialmente en una suspensión.

También se incluyen opcionalmente otros componentes, incluyendo una emulsión, polímero, hidrogel, matriz, bicapa lipídica, liposoma o microsoma. Adicionalmente, es opcional la inclusión de un colorante detectable (por ejemplo, un pigmento), una fragancia, un humectante y/o un protector de la piel. En algunos ejemplos, la formulación tiene una

viscosidad por encima, por debajo o dentro de 0,1-1.000 medida en milipascales-segundos (mPa·s).

Las cantidades de nanopartículas por mililitro en una composición están sujetas a modificación para la unión específica y pueden variar desde 10^9 a 10^{18} partículas, pero generalmente alrededor de 10^{11} a 10^{13} nanopartículas por mililitro. En ciertas realizaciones en las que se desea un aumento de la concentración de nanopartículas a una región objetivo, las composiciones contienen concentraciones de partículas con densidades ópticas de DO 10 a DO 1.000, o densidades ópticas mayores de DO 1.000. En algunas realizaciones, éstas corresponden a concentraciones de aproximadamente 0,1-10% p/p o más de nanopartículas.

Antes de la aplicación de formulaciones de nanopartículas, la piel y los folículos pilosos pueden tratarse previamente para aumentar el suministro de nanopartículas a una región objetivo. En algunas realizaciones, los cabellos se cortan o eliminan mediante afeitado, depilación, exfoliación de la superficie con cianoacrilato, tratamiento con tioglicolato de calcio u otras técnicas para eliminar el vástago del pelo y/o los tapones del folículo piloso y crear un espacio en el que las nanopartículas pueden acumularse. Los orificios de folículos activos o inactivos pueden ser bloqueados por tapones formados de corneocitos y/u otro material (por ejemplo, desechos celulares, hollín, hidrocarburos, cosméticos). En algunas realizaciones, el tratamiento previo con exfoliación superficial incluyendo exfoliación mecánica (por ejemplo, exfoliación con sales o microdermoabrasión) y exfoliación química (por ejemplo, enzimas, alfa hidroxácidos o beta hidroxácidos) elimina los tapones del orificio de los folículos para aumentar el direccionamiento de las formulaciones de nanopartículas a regiones objetivo dentro del folículo piloso.

Se describen en la presente memoria formulaciones de nanopartículas formuladas para su aplicación por un aplicador de esponja, aplicador de tela, contacto directo por una mano o mano enguantada, atomizador, aerosol, succión por vacío, flujo de aire a alta presión o flujo de líquido a alta presión, rodillo, cepillo, superficie plana, superficie semiplana, cera, ultrasonido y otras fuerzas sónicas, vibraciones mecánicas, manipulación del vástago del pelo (incluyendo tirón, masaje), fuerza física, manipulación térmica y otros tratamientos. Los tratamientos de formulación de nanopartículas pueden realizarse solos, en combinación, secuencialmente o repetidos 1-24 veces. Se describen aquí nanopartículas plasmónicas capaces de localizar selectivamente un primer componente de la piel, donde el masaje físico o la presión, el ultrasonido o el calor aumentan la localización selectiva de las nanopartículas a este primer componente. Además, las nanopartículas se pueden separar selectivamente de componentes de la piel distintos del primer componente, tal eliminación se realiza con acetona, alcohol, agua, aire, exfoliación de la piel, exfoliación química, depilación con cera o reducción del compuesto plasmónico. Además, las nanopartículas tienen una capa de recubrimiento para aumentar la solubilidad de las nanopartículas en el portador y/o reducir la "adhesividad" y la acumulación en áreas no objetivo. El objeto descrito en la presente memoria incluye nanopartículas en las que se modifica al menos una porción de una superficie exterior de la nanopartícula, tal como para incluir una capa de un polímero, monómero polar, monómero no polar, compuesto biológico, metal (por ejemplo, película metálica delgada, compuesto metálico, óxido metálico o sal metálica), un dieléctrico o un semiconductor. Alternativamente, la modificación de la superficie exterior es polar, no polar, cargada, iónica, básica, ácida, reactiva, hidrófoba, hidrofílica, agonista o antagonista. Cuando al menos una dimensión de al menos una nanopartícula dentro de una solución de nanopartículas plasmónicas es inferior a 50-100 nm, la superficie de la nanopartícula puede recubrirse con una matriz (por ejemplo, sílice) de 10-100 nm de espesor o más para aumentar dicha dimensión o partícula hasta 50-100 nm o más. Este mayor tamaño puede aumentar el suministro de todas las nanopartículas a una región objetivo (por ejemplo, folículo piloso) y limitar el suministro a regiones no objetivo (por ejemplo, dermis).

Medios de penetración

Las composiciones de la presente descripción se administran tópicamente. En el presente documento se proporcionan medios para redistribuir partículas plasmónicas desde la superficie de la piel a un componente de tejido dérmico que incluye un folículo piloso, un componente de un folículo piloso, un infundíbulo folicular, una glándula sebácea o un componente de una glándula sebácea usando ultrasonido de alta frecuencia, ultrasonido de baja frecuencia, masaje, iontoforesis, flujo de aire de alta presión, flujo de líquido a alta presión, vacío, tratamiento previo con láser de fototermólisis fraccionada o dermoabrasión, o una combinación de los mismos. Por ejemplo, las composiciones se pueden administrar mediante el uso de un aplicador de esponja, aplicador de tela, atomizador, aerosol, succión de vacío, flujo de aire de alta presión, contacto directo de flujo de líquido de alta presión por ultrasonido manual y otras fuerzas sónicas, vibraciones mecánicas, manipulación del vástago capilar (incluyendo tirón, masaje), fuerza física, manipulación térmica u otros tratamientos. Los tratamientos de formulación de nanopartículas se realizan solos, en combinación, secuencialmente o repetidos 1-24 veces.

Usos cosméticos y terapéuticos de nanopartículas plasmónicas.

En términos generales, el solicitante o solicitantes han creado sistemas y métodos para el tratamiento cosmético y terapéutico de afecciones dermatológicas, enfermedades y trastornos usando métodos de tratamiento basados en nanopartículas.

Tratamiento contra el acné

El acné es causado por una combinación de dieta, desequilibrio hormonal, infección bacteriana (*Propionibacterium*

- 5 *acnes*), predisposición genética y otros factores. Los métodos y sistemas basados en nanopartículas descritos aquí para el tratamiento del acné son capaces de focalizar las regiones causantes de la dermis, la glándula sebácea y el folículo piloso, y por lo tanto tienen ventajas comparadas con las técnicas existentes conocidas en la técnica, incluyendo el tratamiento químico (peróxidos, hormonas, antibióticos, retinoides y compuestos antiinflamatorios), dermoabrasión, fototerapia (láseres, tratamiento con luz azul y roja, o tratamiento fotodinámico), o procedimientos quirúrgicos.
- 10 En particular, las técnicas basadas en láser se están convirtiendo en un tratamiento de acné cada vez más popular, pero una limitación sustancial es la falta de propiedades de absorción selectiva entre pigmentos naturales (por ejemplo, grasa, sebo) para longitudes de onda de luz específicas de tal manera que el calentamiento selectivo de una célula, estructura o componente de tejido, particularmente en las glándulas sebáceas, infundíbulo y regiones del folículo piloso, no se logra sin calentamiento del tejido adyacente fuera del objetivo. Las nanopartículas descritas en el presente documento proporcionan una conversión fototérmica significativamente mayor que los pigmentos naturales, lo que permite enfocar la energía del láser a células, estructuras o componentes específicos de tejido dentro de la glándula sebácea, infundíbulo, o regiones del folículo piloso para daño fototérmico selectivo.
- 15 El uso de los materiales y técnicas aquí descritos puede proporcionar tratamientos de acné de mayor duración que las metodologías existentes. En ciertas realizaciones, se consigue la ablación selectiva ajustada de la glándula sebácea o infundíbulo como se describe en la presente memoria. En particular, las nanopartículas plasmónicas están específicamente localizadas en regiones de folículos pilosos en o próximas a la glándula sebácea o infundíbulo.
- 20 Las nanopartículas plasmónicas exhiben una fuerte absorción a las longitudes de onda emitidas por los dispositivos estándar de eliminación del vello con láser (por ejemplo, 755 nm, 810 nm, 1.064 nm) con respecto al tejido epidérmico circundante. Por lo tanto, la irradiación de nanopartículas plasmónicas dirigidas con luz láser induce radiación térmica desde las partículas al sebo adyacente, la glándula sebácea, el infundíbulo y otros agentes causantes del acné.
- 25 **Depilación**
- Los métodos y sistemas basados en nanopartículas descritos en la presente memoria para el tratamiento de la piel tienen ventajas comparadas con las técnicas existentes conocidas en el estado del arte, incluyendo técnicas basadas en láser, técnicas químicas, electrólisis, técnicas de ondas electromagnéticas y técnicas mecánicas (por ejemplo, depilación con cera, pinzas). Tales técnicas no proporcionan adecuadamente la depilación permanente a través de una amplia gama de sujetos. En particular, los sujetos que tienen cabello pigmentado en forma ligera o media no son adecuadamente ayudados por estas técnicas, que adolecen de efectos secundarios incluyendo dolor y la falta de efectos cosméticos beneficiosos incluyendo la depilación. Las técnicas basadas en láser son populares en una variedad de aplicaciones, pero una limitación sustancial es la falta de propiedades selectivas de absorción entre pigmentos naturales (por ejemplo, melanina) para longitudes de onda específicas de luz, de manera que el calentamiento selectivo de una célula, estructura o componente de tejido es alcanzado sin calentamiento de tejidos adyacentes fuera del objetivo. Las nanopartículas descritas en este documento proporcionan una conversión fototérmica significativamente mayor que los pigmentos naturales, permitiendo que la energía láser se enfoque en células, estructuras o componentes específicos de tejido para causar un daño fototérmico selectivo.
- 30 Se proporciona aquí una reducción o eliminación más permanente de todos los tipos de pelo, en relación con los tratamientos de eliminación del vello conocidos en la técnica. En ciertas realizaciones, se proporciona una ablación selectiva ajustada del vástago capilar y la destrucción de células madre en la región protuberante, como se describe en el presente documento. En particular, las nanopartículas plasmónicas se localizan específicamente en regiones de folículos pilosos en o próximas a la región protuberante, un dominio rico en células madre del folículo piloso. Además, las nanopartículas plasmónicas se localizan cerca al ~ 50-75% de la estructura del vástago capilar.
- 35 Las nanopartículas plasmónicas exhiben una fuerte absorción a las longitudes de onda emitidas por dispositivos láser estándar de depilación (por ejemplo, 755 nm, 810 nm, 1.064 nm) con respecto al tejido epidérmico circundante. Por lo tanto, la irradiación de nanopartículas plasmónicas dirigidas con luz láser induce radiación térmica de las partículas a las células madre adyacentes (o en algunos casos, a la arquitectura misma del vástago capilar), resultando en la muerte celular y una alteración de la vía regenerativa normal.
- 40 **Tumores cutáneos malignos y no malignos**
- Las terapias con láser para la prevención y el tratamiento de cánceres de piel no malignos, malignos, de melanoma y no melanoma se han centrado en gran medida en enfoques de terapia fotodinámica, por lo que las porfirinas fotosensibles se aplican a la piel y se utilizan para localizar la luz láser, producir especies reactivas de oxígeno y destruir las células cancerosas a través de radicales tóxicos. Por ejemplo, el 5-ALA combinado con el tratamiento con láser ha sido aprobado por la FDA para el tratamiento de queratosis actínicas de cáncer de piel no melanoma, y se usa sin marcadores para el tratamiento de carcinomas de células basales (BCC) ampliamente diseminados, quirúrgicamente intratables o recurrentes. Sin embargo, este procedimiento hace que los pacientes experimenten fotosensibilidad, ardor, descamación, cicatrización, hipo e hiperpigmentación y otros efectos secundarios debidos a
- 45
- 50
- 55

la captación transdérmica no específica de moléculas de porfirina. Las nanopartículas descritas en este documento proporcionan una conversión fototérmica significativamente mayor que los pigmentos y colorantes naturales, permitiendo enfocar la energía láser a células, estructuras o componentes específicos de tejido para termomodulación selectiva.

5 El uso de los materiales y técnicas descritos aquí puede proporcionar tratamientos contra el cáncer de mayor grado y duración que las metodologías existentes. Se describe aquí la ablación selectiva ajustada de células objetivo específicas. En particular, se describen nanopartículas plasmónicas específicamente localizadas para regiones de folículos pilosos donde surgen células madre protuberantes foliculares para formar carcinomas de células basales nodulares y otros carcinomas. Las nanopartículas plasmónicas también pueden administrarse a otras células objetivo que causan tumores, por ejemplo, el epitelio interfolicular, que incluye la célula de origen para los carcinomas de células basales superficiales.

10 Las nanopartículas plasmónicas exhiben una fuerte absorción a las longitudes de onda emitidas por dispositivos láser estándar de depilación (por ejemplo, 755 nm, 810 nm, 1.064 nm) con respecto al tejido epidérmico circundante. Por lo tanto, la irradiación de nanopartículas plasmónicas dirigidas con luz láser induce la radiación térmica de las partículas al queratinocito, melanocito, célula madre protuberante folicular, célula cancerosa o precursor de célula cancerosa adyacente, resultando en muerte celular o crecimiento celular inhibido para la prevención y el tratamiento del cáncer.

15 Aplicaciones subdérmicas. Los tejidos objetivo aquí descritos para aplicaciones subdérmicas incluyen el tejido adiposo y el tejido conectivo por debajo del sistema tegumentario. Las enfermedades o afecciones adecuadas para el tratamiento con aplicaciones subdermatológicas descritas aquí incluyen arrugas y tatuajes. Otras aplicaciones descritas incluyen rejuvenecimiento de la piel y/o renovación de la capa superficial, la eliminación o reducción de estrías y la ablación de la grasa.

20 Aplicaciones vasculares. Los tejidos objetivo descritos aquí para aplicaciones vasculares incluyen arterias, arteriolas, capilares, venas y vénulas. Las enfermedades o afecciones adecuadas para el tratamiento con las aplicaciones vasculares descritas aquí incluyen venas de araña, válvulas con fugas y estenosis vascular. En particular, las anomalías venosas representan una proporción sustancial de enfermedades cosméticas o afecciones que afectan a la vasculatura. Los individuos con anomalías de las venas tales como venas de araña o válvulas venosas defectuosas sufren de dolor, comezón, o de una estética indeseable.

25 Además, se describen aquí varias indicaciones para las cuales la ablación de otros vasos incluyendo arterias, arteriolas o capilares podría proporcionar beneficios terapéuticos o cosméticos incluyendo: 1) ablación de vasculatura suministrando almohadillas de grasa y/o células de grasa, 2) ablación de la vasculatura que brinda soporte a células tumorales/cancerosas, 3) ablación de marcas de nacimiento vasculares (manchas de vino de puerto, hemangiomas, manchas maculares), y 4) cualquier otra indicación por la cual la ablación de vasos medie la destrucción de tejido y apoptosis o necrosis de células soportadas por aquellos vasos con beneficio terapéutico o cosmético. Se describen aquí métodos para usar las composiciones aquí descritas para la destrucción selectiva de un componente o componentes de las venas a partir de nanopartículas plasmónicas focal o difusamente distribuidas en la sangre. Las nanopartículas plasmónicas se pueden combinar con un portador farmacéuticamente aceptable como se ha descrito anteriormente e introducir las en el cuerpo mediante inyección intravenosa. Las nanopartículas se difunden en la sangre y se localizan en tejidos vasculares específicos. Posteriormente, las nanopartículas pueden activarse con sistemas láser o basados en luz como se conoce en la técnica para el tratamiento de afecciones cutáneas tales como la eliminación del vello o la ablación de venas de araña. Alternativamente, se pueden usar sistemas láser o de luz basados en guías de fibra óptica guiados por imágenes o no guiados, para ablacinar el vaso o los componentes sanguíneos en venas más grandes. Puede utilizarse un dispositivo con funciones duales para inyectar nanopartículas y administrar luz a través de una guía óptica de ondas. Las nanopartículas activadas calientan la sangre y el tejido adyacente (vasos, paredes de vasos, células endoteliales, componentes sobre o en células endoteliales, componentes que comprenden membrana basal endotelial, tejidos mesenquimales de soporte, células o componentes celulares alrededor del vaso, células sanguíneas, componentes sanguíneos, otros componentes sanguíneos) a temperaturas ablativas (38-50 grados C o superiores).

30 Se describe aquí una composición que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y una pluralidad de nanopartículas plasmónicas en una cantidad eficaz para inducir termomodulación de una región de tejido objetivo vascular o intravascular con la que la composición se pone en contacto en forma intravenosa. Además, la composición de la nanopartícula plasmónica puede comprender un medio de direccionamiento microvascular seleccionado del grupo que consiste en anticuerpos y ligandos de células endoteliales antimicrovasculares para receptores de superficie de células endoteliales microvasculares. También se describe un método para realizar termoablación de un tejido vascular objetivo en un sujeto mamífero, que comprende las etapas de poner en contacto una región del tejido vascular objetivo con una composición que comprende una pluralidad de nanopartículas plasmónicas y un portador farmacéuticamente aceptable bajo condiciones tales que una cantidad efectiva de las nanopartículas plasmónicas se localiza en un dominio de la región vascular objetivo; y exponer la región de tejido objetivo a energía suministrada desde una fuente de resonancia de plasmón de superficie de excitación no lineal en una cantidad eficaz para inducir la termoablación del dominio de la región vascular objetivo.

Aplicaciones orales y nasales. Los tejidos objetivo para aplicaciones orales descritos en el presente documento incluyen la boca, la nariz, la faringe, la laringe y la tráquea. Las enfermedades o afecciones adecuadas para el tratamiento con aplicaciones vasculares descritas aquí incluyen cáncer oral, pólipos, cáncer de garganta, cáncer nasal y síndrome de Mounier-Kuhn.

- 5 Aplicaciones endoscópicas. Los tejidos objetivo para aplicaciones endoscópicas descritos en la presente memoria incluyen el estómago, el intestino delgado, el intestino grueso, el recto y el ano. Las enfermedades o afecciones adecuadas para el tratamiento con aplicaciones vasculares descritas en la presente memoria incluyen cáncer gastrointestinal, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, síndrome del intestino irritable, enfermedad celíaca, síndrome de intestino corto o una enfermedad infecciosa tal como giardiasis, esprue tropical, infección por tenia, ascariasis, enteritis, úlceras, enfermedad de Whipple y megacolon.

- 10 Métodos de termomodulación. Se proporcionan métodos para realizar la termomodulación de una región de tejido objetivo. Una composición de nanopartículas que comprende una pluralidad de nanopartículas plasmónicas bajo condiciones tales que una cantidad eficaz de las nanopartículas plasmónicas se localiza en un dominio de la región de tejido objetivo; y exponer la región de tejido objetivo a energía suministrada desde una fuente de resonancia de plasmón de superficie de excitación no lineal en una cantidad eficaz para inducir termomodulación del dominio de la región de tejido objetivo.

- 15 Eliminación de nanopartículas unidas de forma no específica. La eliminación de nanopartículas localizadas en la superficie de la piel puede realizarse poniendo en contacto la piel con acetona, alcohol, agua, aire, un agente de desbridamiento o cera. Alternativamente, se puede realizar desbridamiento físico. Alternativamente, se puede realizar una reducción del compuesto plasmónico.

- 20 Cantidad de energía suministrada. La piel se irradia a una fluencia de 1-60 julios por cm^2 con longitudes de onda de láser de aproximadamente, por ejemplo, 750 nm, 810 nm, 1.064 nm, u otras longitudes de onda, particularmente en el intervalo de luz infrarroja. Se usan diversas velocidades de repetición de continua a pulsada, por ejemplo, a 1-10 Hz, 10-100 Hz, 100-1.000 Hz. Aunque se refleja cierta energía, es una ventaja de la materia descrita aquí que una cantidad sustancial de energía es absorbida por las partículas, con una menor cantidad absorbida por la piel. Las nanopartículas se suministran al folículo piloso, infundíbulo o glándula sebácea a una concentración suficiente para absorber, por ejemplo, 1,1-100 veces más energía que otros componentes de la piel de volumen similar. Esto se consigue en algunas realizaciones al tener una concentración de partículas en el folículo piloso con absorbancia en el pico del láser de 1,1-100 veces con respecto a otros componentes de la piel de volumen similar.

- 25 Para permitir la destrucción ajustable de estructuras de piel objetivo (por ejemplo, glándulas sebáceas, infundíbulo, folículos pilosos), se utilizan nanopartículas absorbentes de luz junto con un láser u otra fuente de excitación de la longitud de onda apropiada. La luz láser puede aplicarse continuamente o en pulsos con un solo o múltiples pulsos de luz. La intensidad de calentamiento y la distancia sobre la que se producirán daños fototérmicos se controlan mediante la intensidad y duración de la exposición a la luz. En algunas realizaciones, los láseres pulsados se utilizan con el fin de proporcionar una destrucción térmica localizada. En algunas de tales realizaciones, se proporcionan impulsos de duraciones variables para localizar regiones de daño térmico dentro de 0,05, 0,1, 0,5, 1, 2, 5, 10, 20, 30, 50, 75, 100, 200, 300, 500, 1.000 micras de las partículas. Los pulsos son al menos femptosegundos, picosegundos, microsegundos o milisegundos de duración. En algunas realizaciones, la temperatura máxima obtenida en el tejido procedente del calentamiento de nanopartículas es de al menos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300 o 500 grados Celsius. En algunas realizaciones que utilizan calentamiento pulsado, se obtienen localmente temperaturas de pico elevadas dentro del cabello sin elevar la temperatura macroscópica del tejido más de 0,1, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 12, 15, o 20 grados Celsius. En algunas realizaciones, se utilizan pulsos cortos (100 nanosegundos - 1.000 microsegundos) para dirigir gradientes de calor transitorios muy elevados en y alrededor de la estructura de piel objetivo (por ejemplo, glándula sebácea y/o folículo piloso) a partir de partículas embebidas para localizar daños en las proximidades de la ubicación de la partícula. En otras realizaciones, se utilizan longitudes de pulso más largas (1-500 ms) para dirigir gradientes de calor más lejos de la estructura objetivo para localizar energía térmica a células madre en la región protuberante u otros componentes mayores de 100 μm de distancia de las partículas localizadas. Fluencias de 1-30 julios por cm^2 son generalmente suficientes para ablacionar térmicamente los folículos que tienen altas concentraciones de partículas y por lo tanto mayor absorbancia que la piel (por ejemplo, 1,1 - 100 veces por volumen de absorbancia de la piel). Estas fluencias son a menudo más bajas que las que se emplean actualmente (por ejemplo, diodo: 25-40 J/cm^2 , Alejandrita: 20 J/cm^2 , Nd:YAG: 30-60 J/cm^2) y que produce menos daño a regiones no foliculares, y potencialmente menos dolor.

- 30 Sistemas de resonancia de plasmón. Se describen aquí sistemas de resonancia de plasmón que contienen una superficie que incluye una pluralidad de nanopartículas plasmónicas, y una fuente de excitación no lineal. La superficie es un componente de la piel destinada a tratamiento cosmético o terapéutico (por ejemplo, región protuberante para la depilación, infundíbulo o glándula sebácea para la prevención del acné). También se describe como un componente del sistema es un medio para suministrar nanopartículas plasmónicas a la superficie de la piel, tales como un aplicador, un atomizador, un aerosol, succión al vacío, un flujo de aire de alta presión o un flujo de líquido a alta presión. También se proporcionan medios para localizar nanopartículas plasmónicas en un componente de la piel (por ejemplo, folículo piloso, región protuberante, glándula sebácea, infundíbulo). Los medios de suministro de superficie útiles incluyen un dispositivo que genera ultrasonidos de alta frecuencia, ultrasonidos de

baja frecuencia, calor, masaje, presión de contacto, o una combinación de los mismos.

Se describen adicionalmente sistemas que contienen un medio de remoción para eliminar nanopartículas sobre una porción no folicular de la piel. Los medios de remoción incluyen al menos uno de acetona, alcohol, agua, aire, exfoliación química, cera, o un compuesto que reduce el compuesto plasmónico.

- 5 Además, los sistemas de la presente descripción proporcionan una fuente de excitación no lineal que genera una fuente óptica de onda continua o una fuente óptica pulsada. Alternativamente, la fuente de excitación no lineal es capaz de generar radiación electromagnética, ultrasonido, energía térmica, energía eléctrica, energía magnética o energía electrostática. Se describen sistemas en los que la fuente de excitación no lineal es capaz de irradiar las nanopartículas con una intensidad de aproximadamente 0,00005 mW/cm² hasta aproximadamente 1000 TW/cm².
- 10 Además, la fuente de excitación no lineal es capaz de funcionar en forma de un fotón, de dos fotones, de varios fotones, en etapas o de conversión ascendente. En los sistemas descritos se puede utilizar una fibra, una guía de ondas, una punta de contacto o una combinación de los mismos.

- 15 En algunas realizaciones, el sistema contiene un dispositivo de control tal como un sensor de temperatura o un detector de energía térmica. En otras realizaciones, los sistemas también contienen un medio controlador para modular la fuente de excitación no lineal (por ejemplo, un controlador de bucle de retroalimentación). En una forma de realización relacionada, el sistema contiene un medio para detectar una temperatura de la superficie o un tejido objetivo adyacente a la superficie, en el que el medio controlador modula la intensidad de la fuente de excitación no lineal y/o la duración de la excitación. En tales realizaciones, los medios de control preferiblemente modulan la intensidad de la fuente de excitación no lineal de tal manera que un primer componente del folículo piloso experimenta termoablación selectivamente con respecto a un segundo componente del folículo piloso. En otras realizaciones, un dispositivo de enfriamiento se pone en contacto directamente con la piel durante la irradiación para minimizar el calentamiento de las nanopartículas o la piel en la superficie, mientras que las nanopartículas que han penetrado más profundamente en el folículo, la piel o la glándula sebácea se calientan a temperaturas que ablationan selectivamente los tejidos adyacentes.

- 25 La piel es un ejemplo de tejido objetivo. La piel preferiblemente contiene un folículo piloso y/o una glándula sebácea, donde la fuente de excitación no lineal genera energía que resulta en el calentamiento de la piel en una cantidad eficaz para inducir termomodulación de un folículo piloso, un infundíbulo, una glándula sebácea o un componente de la misma, tal como por calentamiento suficiente para hacer que la temperatura de la piel supere los 37°C, tal como 38°C, 39°C, 40°C, 41°C, 42°C, 43°C, 44°C, 45°C, 46°C, 47°C, 48°C, 49°C, hasta aproximadamente 50°C o más.

- 30 Métodos de formulación. Las composiciones de nanopartículas pueden ser generadas por:

- a) formación de una primera mezcla que contiene una pluralidad de nanopartículas y un primer disolvente;
- b) intercambio del primer disolvente por un segundo disolvente para formar una segunda mezcla; y
- c) combinación de la segunda mezcla y un portador cosmética o farmacéuticamente aceptable,

formando de este modo una composición de nanopartículas.

- 35 La etapa de intercambio se realiza opcionalmente usando cromatografía líquida, un sistema de intercambio de disolventes, una centrifuga, precipitación o diálisis. Típicamente, las nanopartículas se modifican superficialmente mediante una etapa de reducción controlada o una etapa de oxidación. Dicha modificación superficial puede implicar una etapa de recubrimiento, tal como la adsorción de un monómero, polímero o entidad biológica a una superficie de la nanopartícula. Típicamente, la etapa de recubrimiento implica poner en contacto las nanopartículas con un entorno oxidativo. Además, la etapa de recubrimiento puede incluir polimerización de monómeros para crear un recubrimiento polimérico.
- 40

- Los métodos descritos aquí también pueden incluir las etapas de disolver las nanopartículas en un disolvente no polar y posteriormente mezclar las nanopartículas disueltas con un disolvente polar para encapsular las nanopartículas en una emulsión. Además, se puede usar la adición de surfactantes (por ejemplo, dodecilsulfato de sodio, lauret 2-sulfato de sodio, laurilsulfato de amonio, octech-1/deceth-1 sulfato de sodio) a concentraciones de 0,1-10% para interrumpir la barrera cutánea epidérmica, emulsionar el sebo y permitir una mezcla mejorada de nanopartículas hidrofílicas en soluciones acuosas. Además, se puede emplear una concentración de las nanopartículas tal como mediante centrifugación o liofilización. Además, las nanopartículas pueden ser tratadas previamente con calor o radiación. También se describe la etapa opcional de conjugación de una entidad biológica o pluralidad de entidades biológicas con las nanopartículas. Tal etapa de conjugación puede implicar un enlace tiol, amina o carboxilo de las entidades biológicas con las nanopartículas.
- 45
- 50

- Enfermedades y trastornos. La presente invención puede usarse en piel humana (u otro animal) para la reducción del acné o la reducción del crecimiento del cabello. También se describen el tratamiento de las arrugas y otros cambios relacionados con el fotoenvejecimiento o el envejecimiento cronológico (generalmente denominado rejuvenecimiento de la piel), el tratamiento de enfermedades incluyendo enfermedades de la piel, reducción de la rosácea, foliculitis, pseudofoliculitis barbae o trastornos proliferativos o papuloescamosos tales como psoriasis, la
- 55

estimulación del crecimiento del cabello, la reducción de la celulitis, las verrugas, la hipopigmentación tal como manchas de vino de puerto (PWS, nevus flammeus), marcas de nacimiento, hiperhidrosis, venas varicosas, problemas pigmentarios, tatuajes, vitíligo, melasma, cicatrices, estrías, infecciones fúngicas, infecciones bacterianas, trastornos inflamatorios dermatológicos, problemas músculo-esqueléticos (por ejemplo, tendinitis o artritis), cicatrización de heridas quirúrgicas, terapia de cauterización para mejorar la cicatrización y/o reducir y minimizar cicatrices, mejorar la circulación dentro de la piel y similares.

La presente descripción también puede ser útil para mejorar la cicatrización de heridas, incluyendo, pero sin limitarse a úlceras cutáneas crónicas, úlceras diabéticas, lesiones por quemadura térmica, úlceras o trastornos virales, enfermedad periodontal y otras enfermedades dentales. La presente descripción también es útil para mejorar los efectos de dispositivos que crean una lesión o herida en el proceso de realizar cirugía cosmética incluyendo técnicas de herida térmica no ablativas para tratar arrugas de la piel, cicatrices, estrías y otros trastornos cutáneos. En tales circunstancias, puede ser preferible utilizar tratamientos térmicos no ablativos convencionales en combinación con los métodos descritos en la presente descripción. También se describen usos junto con microabrasión o abrasión superficial, dermoabrasión o exfoliación enzimática o química de la piel o aplicaciones cosmeceúticas tópicas, con o sin aplicación de nanopartículas para mejorar el tratamiento, ya que la eliminación del estrato córneo (y posiblemente capas epiteliales adicionales) puede resultar beneficioso para algún régimen de tratamiento. Los métodos de la presente descripción son particularmente aplicables al tratamiento del acné y la depilación. También se describen métodos aplicables al crecimiento del cabello/estimulación del folículo piloso, reducción/prevención de tumores de piel malignos y no malignos, y rejuvenecimiento de la piel.

Los métodos dermatológicamente terapéuticos descritos en la presente invención pueden formarse utilizando solo irradiación de nanopartículas, irradiación de nanopartículas en combinación con nano o micropartículas o irradiación de nanopartículas con una composición que comprende nano o micropartículas y uno o más agentes terapéuticos. Dicha irradiación de nanopartículas puede ser producida por cualquier generador de nanopartículas conocido, y es preferiblemente un generador de nanopartículas enfocado capaz de generar e irradiar ondas de nanopartículas enfocadas.

Ejemplos

Ejemplo 1. Generación de nanopartículas plasmónicas para termomodulación.

Se generan nanopartículas plasmónicas, incluyendo nanobarras, nanocorazas huecos, nanocorazas de silicio, nanoplacas, nanoarroses, nanoalambres, nanopirámides, nanoprismas, nanoplacas y otras configuraciones descritas en la presente memoria y conocidas por los expertos en la técnica, en intervalos de tamaños de 1-1.000 nm bajo condiciones tales que las propiedades superficiales que facilitan la penetración folicular profunda. Las propiedades de la superficie se pueden variar en una o múltiples (2, 3, o 4) dimensiones diferentes para aumentar la concentración de nanopartículas en un dominio de tejido objetivo. La penetración en aberturas foliculares de 10-200 μm se puede maximizar utilizando las nanopartículas descritas en la presente memoria. En este caso, se generan nanopartículas dimensionadas en el intervalo de aproximadamente 10 hasta aproximadamente 100 nm, y son preferiblemente ensambladas o formuladas en estructuras de múltiples partículas que tienen un tamaño en el intervalo de 100-300 nm. Alternativamente, se hace crecer un recubrimiento (por ejemplo, sílice) sobre estructuras de una sola partícula para aumentar el tamaño de partícula al intervalo de 100-300 nm o más.

Nanopartículas plasmónicas modificadas en superficie. Un ejemplo de preparación de nanopartículas plasmónicas modificadas en superficie se proporciona como sigue. Las nanopartículas plasmónicas se sintetizan con un recubrimiento estable de bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) y se concentran a partir de una densidad óptica de DO 10 hasta 100, 200, 300, 400 o 500 a través de uno a tres ciclos de centrifugación a 16.000 rcf, con decantación del sobrenadante. Alternativamente, las nanopartículas recubiertas con CTAB se concentran y se resuspenden en 250 Amol/L de metil-polietilenglicol (PEG) de 5 kDa-tiol para obtener nanopartículas recubiertas con PEG. La verificación de que las existencias poliméricas de PEG están completamente reducidas se realiza usando espectrofotometría para medir la actividad tiol de los tioles poliméricos con 5,5-ditiobis(ácido 2-nitrobenzoico) frente a un gradiente de DTT. La solución de metil-PEG-tiol y nanopartículas recubiertas con CTAB se mezcla a temperatura ambiente durante 1 h y después se dializa contra MWCO de 5 kDa en 4 litros de agua destilada durante 24 h. Las muestras dializadas se procesan a través de filtros de 100 kDa para eliminar el exceso de polímero. La cuantificación del número de polímeros de PEG por partícula se realiza mediante nanopartículas modificadoras de superficie con polímero de amino-PEG-tiol y cuantificación del número de aminas con un ensayo SPDP. Para formulaciones de ensayo, se elaboran soluciones con DO 100 de nanopartículas plasmónicas recubiertas con CTAB en agua destilada, y las nanopartículas plasmónicas de DO 100 recubiertas con PEG se elaboran en agua destilada, etanol, DMSO o aceite mineral. Las nanopartículas plasmónicas con corazas de sílice se crean haciendo reaccionar nanopartículas con silicatos tales como tetra-etil-orto-silicato (TEOS), silicato de sodio, aminopropiltrióxido-silano (APTS), etc., hasta espesores de 5-50 nm o más. Las formulaciones de control, sólo con potador, no contienen nanopartículas.

Nanopartículas embebidas. Las nanopartículas están embebidas (o encapsuladas) en materiales, lo que permite la generación de una amplia gama de tamaños para ajustar su tamaño. Se ha demostrado que los tamaños de partícula en el intervalo de 100-2.000 nm penetran en el folículo piloso sin penetrar en la dermis. Las nanopartículas

están encapsuladas en sílice, un copolímero sintético de poliláctido/coglicólido, copolímero de nailon poroso de laurilactama/caprolactama, hidroxietilcelulosa, monocapas de polielectrolito, o alternativamente, en hidrogeles naturales tales como ácido hialurónico, sin alterar significativamente las propiedades de resonancia de plasmón. Las nanopartículas están embebidas dentro de materiales de 100-2.000 nm sin unión covalente o mediante entrecruzamiento de aminas, carboxilos u otras fracciones en la superficie de las nanopartículas a la estructura polimérica. La superficie del material de 100-2.000 nm puede modificarse para un potencial zeta óptimo, hidrofiliicidad/hidrofobicidad, y/o capa de adsorción a través de las técnicas descritas en la presente memoria. Además, la forma de la relación de aspecto del polímero puede modificarse de bajo a alto para aumentar las concentraciones y profundidades de penetración de las nanopartículas plasmónicas embebidas. Las nanopartículas tienen ventajosamente una relación de aspecto mayor que aproximadamente 1.

Ejemplo 2. Formulación de nanopartículas plasmónicas termoablativas para administración tópica.

Las nanopartículas se generan como en el Ejemplo 1 usando un disolvente apropiado (por ejemplo, agua, etanol, dimetilsulfóxido). La mezcla que comprende una pluralidad de nanopartículas en agua se concentra hasta aproximadamente una DO 100-500 y se cambia por un nuevo disolvente por cromatografía líquida, un sistema de intercambio de disolventes, una centrifuga, precipitación o diálisis. El disolvente puede incluir un alcohol (por ejemplo, n-butanol, isopropanol, n-propanol, etanol, metanol), un hidrocarburo (por ejemplo, pentano, ciclopentano, hexano, ciclohexano, benceno, tolueno, 1,4-dioxano), cloroformo, éter dietílico, agua, un ácido (por ejemplo, ácido acético, ácido fórmico), una base, acetona, dimetilsulfóxido, dimetilformamida, acetonitrilo, tetrahidrofurano, diclorometano o acetato de etilo. El nuevo disolvente se combina con un portador cosmética o farmacéuticamente aceptable, formando de este modo una composición de nanopartículas. Generalmente, las partículas y el portador formarán una emulsión.

Se proporcionan formulaciones de nanopartículas plasmónicas que amplifican o aceleran la penetración de las nanopartículas en los folículos pilosos. En algunas realizaciones, las nano y microemulsiones facilitan la partición dentro de compartimentos de piel ricos en lípidos tales como el folículo piloso. En algunas realizaciones, las nanopartículas se formulan en composiciones que contienen 0,5-2% v/v de surfactantes para permitir romper la barrera cutánea epidérmica, la emulsión de sebo y una mezcla mejorada de nanopartículas hidrofílicas en soluciones hidrófobas o dirigidas al espacio hidrófobo en la piel (por ejemplo, entre el vástago del pelo y el folículo circundante). También se proporcionan formulaciones de nanopartículas a diversas concentraciones (1-20% p/v) en disoluciones acuosas, disolventes de silicona/aceite, propilenglicol o cremas (por ejemplo, que contienen alcoholes, aceites, parafinas, sílices coloidales). En algunas realizaciones, las nanopartículas absorbentes de luz se utilizan en soluciones que tienen un pH, una temperatura, una concentración de osmolitos, una viscosidad, una volatilidad y otras características adaptadas para mejorar la entrada de nanopartículas absorbentes de luz en los folículos pilosos.

Las formulaciones se preparan para maximizar la estabilidad de las nanopartículas (grado de agregación en solución), concentración de nanopartículas y absorbancia de nanopartículas (grado de calentamiento inducido por láser a diferentes concentraciones).

Cuando las formulaciones de nanopartículas plasmónicas se iluminan con un láser clínico con una longitud de onda coincidente con la longitud de onda de absorción máxima de la partícula, la formulación calienta a temperaturas termoablativas más rápidamente y en mayor grado que los colorantes clínicos absorbentes convencionales. La Figura 2 compara el perfil de temperatura de las partículas plasmónicas (longitud de onda de absorción máxima de 1.020 nm) con colorantes clínicos convencionales, loción de carbono, aerosol de meladina y verde de indocianina después de la exposición a 1.064 nm, 20 J/cm², pulsos de láser de 55 ms. El aumento de temperatura causado por la luz láser pulsada de 1.064 nm fue más de 2,5 veces mayor para la solución plasmónica, en comparación con los colorantes clínicos convencionales utilizados a la misma dilución (dilución 1:1.000 de la concentración clínica, donde las concentraciones clínicas son las siguientes: 200 mg/ml, meladina 1 mg/ml, verde de indocianina 5 mg/ml).

Ejemplo 3. Uso de nanopartículas plasmónicas para la termomodulación del cabello.

Los individuos que tienen pelo rubio, rojo, gris o ligeramente coloreado no son tratados adecuadamente con las técnicas existentes de eliminación de vello a base de luz. Se proporcionan aquí métodos para usar las composiciones descritas en la presente memoria para la eliminación o reducción selectiva de pelo rubio, rojo, gris o ligeramente coloreado no tratado. Las nanopartículas plasmónicas generadas y formuladas como se ha descrito anteriormente se introducen en una región de tejido objetivo, generalmente una región de piel, y se activan con sistemas de eliminación de vello basados en láser como se conoce en la técnica con el fin de lograr una depilación eficaz.

Para conseguir la máxima profundidad de penetración y concentración de nanopartículas plasmónicas en el folículo piloso y/o cerca de los componentes de la glándula sebácea incluyendo el conducto sebáceo, el sebo, el enlace epitelial de la glándula sebácea y/o cerca de la región prominente incluyendo las células madre, el nicho de células madre, el recubrimiento epitelial de la región prominente y/o cerca del bulbo folicular, se construye un tamaño de partícula óptimo de 30-800 nm que contiene una o varias nanopartículas plasmónicas. Las nanopartículas que encapsulan nanopartículas plasmónicas pueden formularse a partir de cualquier cantidad de polímeros o matrices.

En algunas realizaciones, la formulación contiene un polímero degradable o no degradable, por ejemplo, un copolímero sintético de poliláctido/coglicólido, copolímero poroso de nailon de laurilactama/caprolactama, hidroxietilcelulosa, monocapas de polielectrolito, o alternativamente, en hidrogeles naturales tales como ácido hialurónico, gelatina y otros. En realizaciones adicionales, se incluye un PLGA de hidrogel, acrilato de PEG en la formulación. Preferiblemente, en la formulación se proporciona un componente de matriz tal como sílice, poliestireno o polietilenglicol para mejorar la estabilidad de las partículas y permitir una eliminación fácil de la superficie de la piel después de la aplicación y direccionamiento al folículo. Otras formulaciones incluyen un componente de surfactantes (por ejemplo, dodecilsulfato de sodio, lauret 2-sulfato de sodio, laurilsulfato de amonio, octech-1/deceth-1 sulfato de sodio), una bicapa lipídica, un liposoma o un microsoma. Las nanopartículas plasmónicas que incluyen nanobarras, nanocorazas, nanoesferas, nanoplacas o nanoarroses pueden encapsularse dentro de una nanopartícula o matriz a base de polímero o lípido o depositarse sobre la superficie de la partícula. Alternativamente, pueden usarse nanopartículas en el intervalo de tamaños de 100-250 nm, 250-500 nm, 800-1.500 nm, o mayor que 1.500 nm.

El tratamiento previo de la piel con exfoliación mecánica o química se utiliza en algunas realizaciones para eliminar los tapones capilares y "abrir" el folículo para el suministro de partículas. Además, los pelos pueden ser afeitados o encerados para crear un vacío en el folículo piloso para que se llenen de partículas. El uso de fuerza física o térmica amplifica o acelera la penetración de nanopartículas absorbentes de luz y sus conjugados en folículos pilosos, en parte provocando dilatación del folículo piloso antes de la aplicación de las nanopartículas. Por ejemplo, se utilizan ultrasonido y otras fuerzas sónicas, vibraciones mecánicas, manipulación del vástago del pelo (incluyendo tirón), fuerza física, manipulación térmica y otros tratamientos para mejorar la entrada de nanopartículas absorbentes de luz en los folículos pilosos. Los tratamientos de formulación de nanopartículas se realizan solos, en combinación, secuencialmente o repetidos 1-24 veces.

Se utiliza un aplicador para aplicar uniformemente la composición de nanopartículas en folículos. El aplicador puede ser una esponja, un paño, contacto directo con un dedo, un tubo, una jeringa, un dispositivo que aplica succión, un aerosol, un atomizador u otros medios conocidos en la técnica. En un ejemplo, se aplica una formulación de 1 ml de nanopartículas plasmónicas a una concentración de DO 100 con un pico de resonancia de 810 nm a aproximadamente 200 cm² de área de la piel de un ser humano adulto con una jeringa. Se utiliza un paño para distribuir uniformemente la solución a través del área de la piel y en los folículos pilosos. Se aplica un masaje profundo con un vibrador mecánico durante 2 minutos con o sin ultrasonido de 1 MHz durante 5 minutos, para conducir las partículas profundamente en el folículo. Las partículas penetran el 50-75% en toda la longitud del cabello en concentraciones suficientes para calentar la piel en un radio de 100 μm a temperaturas crecientes de 5-20 veces mayores que las generadas en volúmenes similares de piel adyacente cuando se irradian con un láser de diodos (810 nm). Se puede usar acetona, etanol o un agente de eliminación de residuos para eliminar todas las partículas de la superficie de la piel que no se han depositado en el folículo, con el fin de reducir o prevenir el calentamiento no folicular de la piel.

Las formulaciones de nanopartículas se ensayan en muestras animales *ex vivo*, muestras de piel humana *ex vivo* y en piel humana *in vivo*, incluyendo la evaluación de: 1) profundidad de penetración de las nanopartículas en los folículos pilosos; 2) concentración de partículas alcanzada; 3) grado de calentamiento alcanzado a las concentraciones de nanopartículas suministradas; y 4) eficacia de la destrucción fototérmica incluyendo la depilación temporal y permanente, 5) eliminación de nanopartículas después del tratamiento. Para evaluar las profundidades de penetración de las nanopartículas, se visualizan las nanopartículas plasmónicas con adición de grupos funcionales en la superficie con moléculas fluorescentes mediante microscopía de fluorescencia tras corte histológico o biopsia folicular (remoción del vástago del pelo). Alternativamente, las nanopartículas plasmónicas se visualizan directamente mediante microscopía de campo oscuro después del corte histológico o biopsia folicular. Para evaluar las concentraciones de nanopartículas a diferentes profundidades a lo largo del folículo, las muestras de piel cortadas se separan mediante técnicas de extracción con cinta o a base de calor, se disuelven las muestras para el análisis a granel de la concentración de metal por ICP-MS (espectrometría de masas con plasma inductivamente acoplado). El grado macroscópico de calentamiento se valida mediante termografía infrarroja de muestras de piel y mediante la evaluación de secciones cutáneas sometidas a exposición con láser para marcadores de daño térmico. Por último, se puede medir la eficacia de la destrucción fototérmica en el sitio de acumulación de nanopartículas analizando las lesiones celulares histológicas en el sitio objetivo, incluyendo el vástago folicular del cabello, la vaina interna de la raíz, la vaina externa de la raíz y la región protuberante que contiene el nicho de células madre, que contiene las células madre que contribuyen al crecimiento del cabello nuevo. Dado que la región protuberante está localizada generalmente a mitad de camino (~50% de la longitud) del vástago del pelo, la eliminación permanente del vello se alcanza suficientemente mediante la acumulación de nanopartículas plasmónicas a esta profundidad. En algunas situaciones, el suministro de nanopartículas también puede generar un gradiente de calor que emite más abajo del vástago del pelo. Los estudios en animales son útiles para demostrar la eficacia de la remoción de pelo no pigmentado al comparar los perfiles de calor, la ablación térmica del vástago capilar y el daño térmico de las células madre protuberantes en roedores sin pelo tratados, roedores albinos y roedores de pelaje oscuro. La eficacia en la piel humana viva se mide a través del recuento de pelo a los 3 y 12 meses de seguimiento. Las biopsias se toman de pacientes seleccionados a las 2, 4 y 6 semanas de seguimiento para verificar que las nanopartículas son eliminadas de la piel sin que se incrusten en la dermis.

La penetración del folículo piloso por nanopartículas marcadas fluorescentemente se determinó usando explantes de piel porcina y formación de imágenes confocales. Se puso en contacto una solución acuosa de 25 mg/ml de

nanopartículas recubiertas con dióxido de silicio (200 nm de diámetro) con piel de cerdo recién descongelada, después de lo cual se retiró el exceso de suspensión de nanopartículas y se realizó un masaje manual durante tres minutos. Se seccionó el explante y se sometió a imágenes confocales. Como se muestra en la Figura 3A, se tomaron imágenes de las secciones de explante en ángulos con los folículos pilosos en planos de 60 µm; el plano 1 muestra el infundíbulo del folículo, mientras que el plano 2 muestra las regiones distales del folículo. La Figura 3B muestra imágenes confocales representativas que demuestran que las nanopartículas rojas (absorbancia de 548 nm) son visibles tanto dentro de los folículos superficial como profundos, pero no son detectables en las capas dérmicas debajo de los folículos. La Figura 3C muestra imágenes de gran aumento de nanopartículas rojas localizadas y retenidas dentro de un folículo profundo (~ 400 µm). El color verde indica auto fluorescencia del tejido (488 nm).

Penetración de folículos pilosos por nanopartículas plasmónicas determinada usando imágenes de piel porcina y de campo oscuro. Se puso en contacto una suspensión de nanopartículas plasmónicas de DO 100 (200 nm de diámetro) con piel de cerdo recién descongelada, después de lo cual se retiró el exceso de suspensión de nanopartículas y se realizó un masaje manual durante tres minutos. Se repitió el procedimiento para un total de 3 aplicaciones y se eliminó el residuo superficial con varias 3-5 aplicaciones alternando agua y etanol. La muestra de piel se cortó, se fijó, se seccionó a lo largo del plano horizontal y se sometió a imágenes de campo oscuro. Como se muestra en la Figura 4A, las muestras de piel se seccionaron y se tomaron imágenes horizontales al folículo piloso a varias profundidades. En las imágenes de la sección cutánea, se observaron las nanopartículas plasmónicas como fuentes puntuales de color azul brillante a profundidades de hasta 1,2 mm de profundidad en los espacios foliculares porcinos (Figura 4B). Las muestras de control sin nanopartículas plasmónicas se diferenciaron claramente (Figura 4C). También se realizó una ICP-MS en secciones de piel para evaluar las concentraciones de nanopartículas a diversas profundidades a lo largo del folículo.

Penetración de folículos pilosos por nanopartículas en roedores sin pelo, roedores albinos y roedores de pelaje oscuro. Los ratones Swiss Webster de pelo blanco (n = 3) a las 8 semanas de edad se anestesian con solución anestésica inyectable de ketamina/xilazina y se lavaron y secaron la piel dorsal del lomo y el pelo. Antes de la administración de la formulación, se demarcan tres áreas de 10 cm x 10 cm mediante un marcador permanente en cada ratón y se someten a eliminación del pelo con 1) rasuradora eléctrica, 2) reactivo de depilación de Nair, o 3) aplicación de la mezcla de cera caliente/colofonia y pelado. Cada ratón se trata mediante una pipeta con hasta 3 formulaciones de nanopartículas, por cuadruplicado con 5 µl en zonas puntuales por área demarcada de la piel (hasta 12 puntos por área o 36 puntos por ratón). Las posiciones precisas de los puntos se demarcan con la pluma antes de pipetear. Los puntos de tratamiento por duplicado en el costado izquierdo se masajean en la piel durante 5 minutos, mientras que los puntos de tratamiento por duplicado en el costado derecho se aplican sin masaje. Treinta minutos después de la aplicación, los ratones son sacrificados por asfixia con dióxido de carbono y dislocación cervical, y la piel se extirpa cuidadosamente y se perfora en secciones a lo largo de demarcaciones del tamaño del punto. Las biopsias de piel se fijan en paraformaldehído al 10%, se embeben en parafina y se cortan en secciones de 5 µm en un micrótopo en dirección transversal. Los portaobjetos con secciones de parafina montadas se desparafinan y se tiñen con hematoxilina y eosina (H&E) o se mantienen sin teñir para la microscopía de campo oscuro. Mediante el uso de tinción con H&E, microscopía de luz y/o microscopía de campo oscuro, se forman imágenes de más de 50 folículos por formulación y se realizan valoraciones en las secciones cutáneas para determinar la acumulación macroscópica visible de nanopartículas en el folículo, a lo largo del vástago capilar, en el sitio del nicho de células madre de la protuberancia putativa, y a la profundidad del bulbo del folículo. En secciones histológicas seriadas, se puede usar un kit de mejoramiento de la tinción con plata con base en tiosulfato de sodio para aumentar la señal de las nanopartículas plasmónicas a través de la precipitación de la plata metálica. Se capturan las micrografías de fase y campo oscuro y se utilizan para registrar las profundidades de la penetración folicular para cada formulación de nanopartículas y método de aplicación. Se realizó también una ICP-MS en secciones de piel para evaluar las concentraciones de nanopartículas a diversas profundidades a lo largo del folículo.

Evaluación de la destrucción fototérmica en el sitio de acumulación de nanopartículas. Las áreas tratadas de piel de cerdo, humano o de ratón se irradian con un láser coincidente con la longitud de onda de absorción máxima de nanopartículas (por ejemplo, láser YAG a 1.064 nm para partículas plasmónicas de 1.020 nm) utilizando parámetros clínicos (exposición de 1 s con 30-50 J/cm² y un ancho de pulso de 10-50 ms). Para determinar el daño fototérmico microscópico de las estructuras de la piel objetivo tal como el folículo piloso y las células madre de la protuberancia del folículo piloso, diez días después de la aplicación y la irradiación, los sujetos humanos reciben inyecciones de lidocaína para entumecer las áreas de tratamiento y se extirpa cuidadosamente la piel y se perforada en secciones a lo largo de las demarcaciones de tamaño del punto. Las biopsias frescas de piel humana o las muestras de piel humana y animal explantadas se fijan en paraformaldehído al 10%, se embeben en parafina y se cortan en secciones de 5 µm en un micrótopo en dirección transversal o se fijan en solución de Zamboni con ácido pícrico al 2% y se seccionan en un criostato mediante un micrótopo deslizante por congelación. Los portaobjetos con secciones de parafina montadas se desparafinan y se tiñen con hematoxilina y eosina (H&E). Las secciones histológicas se examinan a diversas profundidades para detectar marcadores de daño térmico e inflamación. Se usa hematoxilina y eosina (H&E) para obtención de imágenes de la piel y la microanatomía del folículo e indican la degeneración de los vástagos capilares, la atrofia de las glándulas sebáceas y la vacuolización celular (indicando daño celular). El cloruro de nitroazul de tetrazolio (NBTc), una tinción con lactato deshidrogenasa que se pierde por

lesión térmica de las células, se utiliza para evaluar el daño de los queratinocitos. Al daño celular en los folículos de muestras de piel que reciben nanopartículas plasmónicas más tratamiento con láser se le da un puntaje y se compara con los que reciben tratamiento con láser solo. Las áreas de piel humana tratadas in vivo también se les hace seguimiento clínico durante 2 semanas a 3 meses después del tratamiento con nanopartículas plasmónicas + láser, o durante tratamientos repetidos con nanopartículas plasmónicas + láser y se comparan con la fotografía digital basal tomada antes del primer tratamiento, y con tratamientos de control negativo sólo con láser. Se revisan las observaciones clínicas de depilación, así como de eritema, edema, malestar, irritación o cicatrización, para determinar el grado de daño térmico no específico.

Efecto del recubrimiento de partículas plasmónicas sobre la especificidad del suministro y el calentamiento fototérmico. Preferentemente, en la formulación se proporciona un componente de matriz tal como sílice, poliestireno o polietilenglicol para mejorar la estabilidad de las partículas y permitir una eliminación fácil de la superficie de la piel después de la aplicación y direccionamiento al folículo. Se puede usar acetona, etanol o un agente eliminador de residuos para eliminar todas las partículas de la superficie de la piel que no se han depositado en el folículo, con el fin de reducir o prevenir el calentamiento no folicular de la piel. En la Figura 5, se trató la piel humana viva con partículas plasmónicas no recubiertas en comparación con partículas plasmónicas recubiertas con sílice, antes de la irradiación con láser y comparación con controles de tratamiento sin partículas (sólo láser). El tratamiento previo de la piel, incluyendo el afeitado con maquinilla de afeitar y la microdermoabrasión (15 segundos, fijación media) para eliminar los tapones capilares y "abrir" el folículo para el suministro de partículas, se realizó en ambos antebrazos. La piel del antebrazo humano se irradió con pulsos láser de 810 nm (30 J/cm², 30 ms, 2 pasadas) solamente (Figura 5A), o después del tratamiento con una formulación resonante de 830 nm, nanopartículas plasmónicas no recubiertas en propilenglicol al 20% (Figura 5B). La formulación de nanopartículas plasmónicas se aplicó con un masaje de 3 minutos y se repitió 3 veces, y se limpió la superficie de la piel con 3 aplicaciones alternantes de agua y etanol antes de la irradiación con láser. A los 30 minutos siguientes a la irradiación con láser, se observaron quemaduras clínicas no específicas debido al calentamiento fototérmico significativo de partículas residuales no recubiertas sobre la superficie de la piel (Figura 5B). La piel humana viva también se irradió con pulsos láser de 1.064 nm (40 J/cm², 55 ms, 3 pasadas) solamente (Figura 5C) o después del tratamiento con una formulación de nanopartículas plasmónicas recubiertas de sílice resonantes de 1.020 nm en propilenglicol al 20% (Figura 5D). La formulación de nanopartículas plasmónicas se aplicó con un masaje de 3 minutos y se repitió 3 veces, y se limpió la superficie de la piel con 3 aplicaciones alternantes de agua y etanol antes de la irradiación con láser. A los 30 minutos siguientes a la irradiación con láser, no se observó evidencia de quemadura de la piel o eritema, ya que las partículas recubiertas de sílice se podían limpiar suficientemente de la superficie de la piel (Figura 5D). La fotografía ampliada del área de la piel tratada con partículas recubiertas de sílice + láser muestra daño fototérmico específico (eritema perifolicular y edema) en el sitio donde se dirigieron las nanopartículas, sin dañar los tejidos circundantes o tratados sin partículas (Figura 6).

Ejemplo 4. Uso de nanopartículas plasmónicas para el tratamiento del acné.

Se proporcionan aquí métodos para usar las composiciones descritas en el presente documento para el tratamiento del acné vulgar y otros acnés y afecciones de la piel tipo acné, pero el direccionamiento selectivo a folículos sebáceos, particularmente las glándulas sebáceas y/o folículos pilosos. Las nanopartículas plasmónicas generadas y formuladas como se ha descrito anteriormente se introducen en una región de tejido objetivo, generalmente una región de piel, y se activan con sistemas basados en láser como se conoce en la técnica con el fin de conseguir una depilación eficaz.

Para conseguir la profundidad de penetración máxima y la concentración de nanopartículas plasmónicas en el folículo capilar y/o cerca de los componentes de la glándula sebácea incluyendo el conducto sebáceo, el sebo, la unión epitelial de la glándula sebácea y/o cerca de la región protuberante que incluye las células madre, el nicho de células madre, el recubrimiento epitelial de la región protuberante y/o cerca del bulbo folicular, se construye un tamaño de partícula óptimo de 100-800 nm que contiene una o varias nanopartículas plasmónicas. Las nanopartículas que encapsulan nanopartículas plasmónicas pueden formularse a partir de cualquier número de polímeros o matrices. En algunas realizaciones, la formulación contiene un polímero degradable o no degradable, por ejemplo, un copolímero sintético de poliláctido/coglicólido, un copolímero poroso de nailon de laurilactama/caprolactama, hidroxietilcelulosa, monocapas de polielectrolito, o alternativamente, en hidrogeles naturales tales como ácido hialurónico, gelatina y otros. En realizaciones adicionales, se incluye un PLGA de hidrogel, acrilato de PEG en la formulación. Preferentemente, en la formulación se proporciona un componente de matriz tal como sílice, poliestireno o polietilenglicol para mejorar la estabilidad de las partículas y permitir una eliminación fácil de la superficie de la piel después de la aplicación y el direccionamiento hacia el folículo. Preferentemente, las formulaciones incluyen surfactantes (por ejemplo, dodecilsulfato de sodio, lauret 2-sulfato de sodio, laurilsulfato de amonio, octech-1/deceth-1 sulfato de sodio), componentes de una bicapa lipídica, un liposoma o un microsoma. Los surfactantes alteran la barrera epidérmica de la piel, emulsionan el sebo, mejoran la mezcla de nanopartículas hidrofílicas con soluciones hidrófobas y reducen las barreras entrópicas para suministrar partículas hidrofílicas a regiones hidrófobas de la piel (por ejemplo, entre el vástago capilar y la vaina o folículo circundante). Las nanopartículas plasmónicas que incluyen nanobarras, nanocorazas, nanoesferas o nanoarrocés pueden ser encapsuladas dentro de la nanopartícula o matriz polimérica o depositadas sobre la superficie de la partícula. Alternativamente, pueden usarse nanopartículas en el intervalo de tamaños de 100-250 nm, 250-500 nm, 800-1500 nm, o mayor que 1.500 nm.

5 El uso de fuerza física o térmica amplifica o acelera la penetración de nanopartículas absorbentes de luz y sus conjugados en folículos pilosos y/o glándulas sebáceas, en parte provocando dilatación del folículo piloso antes de la aplicación de las nanopartículas. Por ejemplo, se utilizan ultrasonido y otras fuerzas sónicas, vibraciones mecánicas, manipulación del vástago del pelo (incluyendo tirón), fuerza física, manipulación térmica y otros tratamientos para mejorar la entrada de nanopartículas absorbentes de luz en los folículos pilosos y/o las glándulas sebáceas. Los tratamientos de formulación de nanopartículas se realizan solos, en combinación, secuencialmente o repetidos 1-24 veces.

10 Antes de la aplicación de las nanopartículas plasmónicas, puede realizarse una etapa de tratamiento previo para eliminar el exceso de sebo de la superficie de la piel utilizando medios químicos y/o mecánicos. El tratamiento previo de la piel con exfoliación mecánica o química se utiliza en algunas realizaciones para eliminar los tapones capilares y "abrir" el folículo para el suministro de las partículas. Además, los pelos pueden ser afeitados o encerados para crear un vacío en el folículo piloso para que se llenen de partículas.

15 Se utiliza un aplicador para aplicar uniformemente la composición de nanopartículas en los folículos. El aplicador puede ser una esponja, un paño, por contacto directo desde un dedo, un tubo, una jeringa, un dispositivo que aplica succión, un aerosol, un atomizador u otros medios conocidos en la técnica. En un ejemplo, una formulación de 1 ml de nanopartículas plasmónicas a una concentración de DO 100 con pico de resonancia de 810 nm se aplica a aproximadamente a 200 cm² de la piel de un sujeto humano adulto con una jeringa. Un paño se utiliza para distribuir uniformemente la solución a través del área de la piel y en los folículos pilosos. Se aplica un masaje de un vibrador mecánico durante 2 minutos con o sin ultrasonido a 1 MHz durante 5 minutos para conducir las partículas profundamente en el folículo. Las partículas penetran ~ 50% en toda la longitud del vástago capilar en concentraciones suficientes para calentar la piel en un radio de 100 μm a temperaturas crecientes de 5-20 veces mayores que las generadas en volúmenes similares de piel adyacente cuando se irradian con un láser de diodos (810 nm). Se puede usar acetona, etanol o un agente eliminador de residuos para eliminar todas las partículas de la superficie de la piel que no se han depositado en el folículo, con el fin de reducir o prevenir el calentamiento no folicular de la piel.

20 Suministro de nanopartículas plasmónicas a la glándula sebácea determinado usando piel de abdominoplastia humana e imágenes de campo oscuro. La glándula sebácea humana existe dentro de la unidad pilosebácea que consiste en el pelo, folículo piloso, músculo erector del pelo y glándula sebácea. En la Figura 7A, una biopsia de piel humana es inmunoteñida con anticuerpos contra colágeno IV (marcador de membrana basal, azul) y PGP 9.5 (marcador de nervios, verde) para visualizar la microanatomía de la unidad pilosebácea representativa, incluyendo el folículo piloso (HF), la glándula sebácea (SG) y músculo erector del pelo. Para administrar nanopartículas al folículo piloso y a la glándula sebácea, se trató previamente la piel mediante afeitado para eliminar el cabello extrudido, la microdermoabrasión (15 segundos, fijación media) para eliminar los tapones capilares y los corneocitos y la depilación química para "abrir" los micropozos foliculares para el suministro de partículas. Se puso en contacto una suspensión de nanopartículas plasmónicas de DO 100 (200 nm de diámetro), formulada en dodecilsulfato de sodio al 1% (SDS) y propilenglicol al 20% (PG) con piel de abdominoplastia humana extirpada, tras lo cual se retiró el exceso de suspensión de nanopartículas y se realizó un masaje manual durante tres minutos, seguido de ultrasonido (1 MHz) durante 5 minutos. Se repitió el procedimiento para un total de 3 aplicaciones y se eliminó el residuo superficial con 3-5 aplicaciones alternando agua y etanol. Se extirpó la muestra de piel, se fijó, se seccionó a lo largo de los planos horizontales y se sometió a formación de imágenes de campo oscuro. Según se evaluó mediante la formación de imágenes en campo oscuro de secciones de piel horizontales, las composiciones de nanopartículas plasmónicas con un portador cosméticamente aceptable de SDS al 1%/PG al 20% administradas con masaje y ultrasonido se pueden suministrar a 400-600 μm de profundidad en el folículo humano y específicamente en la glándula sebácea (Figura 7B).

45 Formulaciones cosméticas para el suministro en glándulas foliculares y sebáceas en piel humana. Preferentemente, las formulaciones incluyen surfactantes (por ejemplo, dodecilsulfato de sodio, lauret 2-sulfato de sodio, laurilsulfato de amonio, octech-1/deceth-1 sulfato de sodio), componentes de una bicapa lipídica, un liposoma o un microsoma. Los surfactantes alteran la barrera epidérmica de la piel y emulsionan el sebo para permitir una mejor mezcla de las nanopartículas hidrofílicas en soluciones hidrófobas. Se usan humectantes tales como propilenglicol para ayudar a mejorar la viscosidad tópica y mantener el pH fisiológico. Para demostrar la eficacia y el mecanismo de los ejemplos de formulaciones cosméticas para la administración a glándulas sebáceas humanas, se trató previamente la piel primero mediante afeitado para eliminar el cabello extrudido, la microdermoabrasión (15 segundos, fijación media) para eliminar los tapones capilares y los corneocitos y la depilación química para "abrir" los micropozos foliculares para el suministro de partículas. Se formularon dos suspensiones separadas de DO 100 de nanopartículas plasmónicas (200 nm de diámetro) en dodecilsulfato de sodio al 1% y propilenglicol al 20% (SDS/PG) o en lauret 2-sulfato de sodio al 1% y propilenglicol al 20%. Las formulaciones se pusieron en contacto con dos muestras de piel de abdominoplastia humana extirpadas separadas, y se realizó un masaje durante 3 minutos seguido de ultrasonido (1 MHz) durante 5 min para dirigir partículas en forma profunda dentro de los folículos. Se repitió el procedimiento para un total de 3 aplicaciones y se eliminó el residuo superficial con 3-5 aplicaciones alternas de agua y etanol. Se extirpó la muestra de piel, se fijó, se seccionó a lo largo de los planos horizontales y se sometió a formación de imágenes de campo oscuro para evaluar el suministro de partículas. Como se evaluó mediante imágenes de campo oscuro de secciones de piel horizontales, las composiciones de nanopartículas plasmónicas con un portador cosméticamente aceptable de SLES al 1%/20% administradas con masaje y ultrasonido se pueden suministrar a

400-600 μm de profundidad en el folículo humano y específicamente en la glándula sebácea (Figura 8B).

Impacto del masaje frente al ultrasonido en el suministro de nanopartículas a folículos humanos y glándulas sebáceas. Se utilizan ultrasonido y otras fuerzas sónicas, vibraciones mecánicas, manipulación del vástago del pelo (incluido el tirón), fuerza física, manipulación térmica y otros tratamientos para mejorar la entrada de nanopartículas absorbentes de luz en los folículos pilosos y/o las glándulas sebáceas. El masaje mecánico mejora la penetración folicular a través de mecanismos de 'bombeo' en el vástago del cabello, mientras que el ultrasonido mejora la administración transdérmica de fármacos a través de la interrupción temporal de la bicapa lipídica de la piel, formación de burbujas y microflujo unidireccional de líquido. Para caracterizar los efectos del masaje desacoplado del ultrasonido, la piel fue previamente tratada mediante afeitado para eliminar el cabello extrudido, la microdermoabrasión (15 segundos, fijación media) para eliminar los tapones capilares y los corneocitos, y depilación química a "abrir" los micropozos del folículo para suministro de las partículas. Se puso en contacto una suspensión de nanopartículas plasmónicas de DO 100 (200 nm de diámetro), formulada en dodecilsulfato de sodio (SDS) al 1% y propilenglicol al 20% (PG) con tres muestras de piel de abdominoplastia humana extirpadas por separado. En las tres muestras de piel humana tratadas, el masaje solo se realizó durante 3 minutos, sólo se realizó ultrasonido (1 MHz) durante 5 minutos, o se realizó un masaje seguido de ultrasonido para conducir las partículas profundamente en los folículos. En una cuarta muestra, no se aplicaron partículas a la piel. Se repitió el procedimiento para un total de 3 aplicaciones y se eliminó el residuo superficial con 3-5 aplicaciones alternas de agua y etanol. Se extirpó la muestra de piel, se fijó, se seccionó a lo largo de planos horizontales y se sometió a formación de imágenes de campo oscuro para evaluar el suministro de partículas. Como se evaluó mediante la formación de imágenes de campo oscuro de secciones de piel horizontales, las composiciones de nanopartículas plasmónicas con un portador cosméticamente aceptable de SLES al 1%/20% administradas a través de ultrasonido, suministran más nanopartículas plasmónicas al infundíbulo frente al masaje, aunque ambos mecanismos facilitan el suministro (Figura 9).

Formulaciones adicionales de nanopartículas plasmónicas para el suministro a folículos y glándulas sebáceas en la piel humana. En algunas realizaciones, las nanopartículas plasmónicas incluyen nanobarras, nanocorazas, nanoesferas o nanoarroses, o nanopartículas plasmónicas encapsuladas dentro de la nanopartícula o matriz polimérica o depositadas sobre la superficie de la partícula. Preferentemente, en la formulación se proporciona un componente de matriz tal como sílice, poliestireno o polietilenglicol para mejorar la estabilidad de las partículas y permitir una eliminación fácil de la superficie de la piel después de la aplicación y el direccionamiento al folículo. Para demostrar la formulación de formas y el suministro de concentraciones adicionales de nanopartículas plasmónicas para el folículo, el infundíbulo y las glándulas sebáceas, se trató previamente la piel mediante afeitado para eliminar el cabello extrudido, la microdermoabrasión (15 segundos, fijación media) para eliminar los tapones capilares y los corneocitos, y la depilación química a "abrir" los micropozos del folículo para el suministro de partículas. Por separado, se formularon suspensiones de DO 10 de nanoplacas recubiertas con sílice, suspensiones de DO 30 de nanobarras plasmónicas recubiertas de polietilenglicol y partículas de sílice fluorescentes en dodecilsulfato de sodio al 1% y propilenglicol al 20%. Las formulaciones se pusieron en contacto con tres muestras de piel de abdominoplastia humana extirpadas separadas, y se realizó masaje durante 3 minutos seguido de ultrasonido (1 MHz) durante 5 min para conducir las partículas profundamente dentro de los folículos. Se repitió el procedimiento para un total de 3 aplicaciones y se eliminó el residuo superficial con 3-5 aplicaciones alternas de agua y etanol. Se extirpó la muestra de piel, se fijó, se seccionó a lo largo de planos horizontales y se sometió a la formación de imágenes de campo oscuro para evaluar el suministro de partículas. Como se evaluó mediante imágenes de campo oscuro de secciones de piel horizontales, se observaron composiciones de nanobarras recubiertas con polietilenglicol (PEG) (oro, dimensión 15 x 30 nm) en un portador cosméticamente aceptable, administrado a través de ultrasonido y masaje, dentro del infundíbulo folicular a 200 μm de profundidad (Figura 10A). Las composiciones de nanopartículas plasmónicas (nanoplacas recubiertas con sílice) a una concentración más baja (DO 10), eran evidentes a 400-600 μm de profundidad en el folículo y en la glándula sebácea (flecha sin relleno), aunque a menor concentración que las partículas comparables en un portador cosmético similar a DO 100 (Figura 10B).

Evaluación de la destrucción fototérmica de la glándula sebácea y estructuras cutáneas objetivo. Las formulaciones de nanopartículas se ensayan en muestras de piel animal *ex vivo*, muestras de piel humana *ex vivo* y en piel humana *in vivo* como se describe en el Ejemplo 3. Se puede medir la eficacia de la destrucción fototérmica en el sitio de acumulación de nanopartículas midiendo el daño térmico a los sebocitos y la reducción en la producción de sebo en los folículos sebáceos tratados. Para evaluar la destrucción fototérmica, se trata previamente primero la piel humana mediante afeitado para eliminar el cabello extrudido, la microdermoabrasión (15 segundos, fijación media) para eliminar los tapones capilares y corneocitos y la depilación química para "abrir" los micropozos del folículo para el suministro de partículas. La piel se pone en contacto con una suspensión de DO 100 de nanopartículas plasmónicas resonantes a 810 nm (200 nm de diámetro), y se masajea durante 3 minutos seguido por ultrasonido (1 MHz) durante 5 min para conducir partículas profundamente dentro de los folículos. Se repite el procedimiento para un total de 3 aplicaciones y se eliminan los residuos superficiales con 3-5 aplicaciones alternas de agua y etanol. Las muestras de piel humana tratadas se irradian con láser de 810 nm (40 J/cm², 30 ms, 5 pulsos) y se comparan con la piel humana tratada con láser solamente. Se toma una biopsia de piel humana, se fija en la solución de Zamboni con ácido pícrico al 2%, y se seccionan en un criostato mediante un micrótopo deslizante por congelación. Los portaobjetos con secciones de parafina montadas se desparafinan y se tiñen con hematoxilina y eosina (H&E). Las

secciones histológicas se examinan a diversas profundidades para detectar marcadores de daño térmico e inflamación. Se usa hematoxilina y eosina (H&E) para obtención de imágenes de la piel y la microanatomía del folículo e indican la degeneración de los vástagos capilares, la atrofia de las glándulas sebáceas y la vacuolización celular (indicando daño celular). El cloruro de nitroazul de tetrazolio (NBTC), una tinción con lactato deshidrogenasa que se pierde por lesión térmica de las células, también se puede utilizar para evaluar el daño de los queratinocitos frente a los sebocitos. Se puede usar una tinción intracelular, Oil-Red-O, para determinar el contenido de lípido y aceite de sebo en las muestras tratadas. Las tasas de excreción de sebo se miden en una piel *in vivo* a los 1-3 meses de seguimiento utilizando cintas absorbentes de sebo para demostrar el cambio funcional en el flujo de sebo. La eliminación y la prevención de las lesiones de acné se mide por los resultados informados por el paciente y el recuento de lesiones de acné a los 1-3 meses de seguimiento.

Ilustración de la formulación de nanopartículas plasmónicas termoablativas para la ablación vascular

En esta ilustración, las formulaciones se preparan para maximizar la estabilidad de las nanopartículas (grado de agregación en solución), concentración de las nanopartículas y absorbancia de las nanopartículas (grado de calentamiento inducido por láser a diferentes concentraciones) una vez inyectadas en el torrente sanguíneo. Las nanopartículas se generan como en el Ejemplo 1 usando un disolvente apropiado. La mezcla que comprende una pluralidad de nanopartículas en agua se concentra hasta aproximadamente una DO 100-500 a la máxima absorbancia y se intercambia por un nuevo disolvente mediante cromatografía líquida, un sistema de intercambio de disolventes, una centrifuga, precipitación o diálisis. El disolvente de intercambio típico es NaCl de 0,15 mol/L, regulador fosfato de Na de 0,1 mol/L (pH 7,2).

Ilustración del uso de nanopartículas plasmónicas para la termoablación de un componente o componentes de vasos y microvasos.

En esta ilustración, se administran composiciones que contienen nanopartículas, típicamente en forma intravascular. Después de dicha administración de nanopartículas plasmónicas, se aplica un láser adaptado al pico de resonancia plasmónica de las partículas (por ejemplo, 755 nm, 810 nm, o 1.064 nm) para calentar las nanopartículas y el tejido circundante. Se utilizan anchos de pulso de 10-100 ns, 100 ns-1 ms, 1-10 ms, 10-100 ms, 100-1.000 ms o irradiación de onda continua para lograr gradientes de calentamiento térmico y calentamiento localizado en la vecindad de la partícula o partículas de 20-200 nm, 200 nm-2 μ m, 2-20 μ m, 20-200 μ m, 200 μ m-2 mm. Se obtienen gradientes térmicos de 20-200 nm a partir de partículas individuales. Los gradientes térmicos mayores a los milimétricos se consiguen mediante la deposición colectiva de calor de muchas partículas en venas con diámetros de varios cientos de micras o más. La irradiación se aplica desde 1 pulso a muchos pulsos en cuestión de segundos a minutos. Un dispositivo de enfriamiento para capas epidérmicas se utiliza concomitantemente con la irradiación para reducir el dolor y evitar daños térmicos en otras partes. La posición del láser, la fluencia, la longitud de onda, el ángulo de incidencia, el patrón de irradiación, se modifican para lograr la irradiación de los vasos a profundidades específicas entre 0-10 mm, evitando al mismo tiempo el calentamiento de la vasculatura no objetivo. Alternativamente, el láser o la luz se administran a través de una guía de ondas de fibra óptica administrada a través de un catéter para calentar las partículas en venas más grandes.

Típicamente, se irradia un flanco del tejido con 2 W/cm², 810 nm, 1 cm de diámetro de haz después de la inyección de nanobarras de PEG con pico de resonancia de plasmón a 810 nm. La formación de imágenes termográficas se utiliza para evaluar la temperatura superficial del tejido inmediatamente después de la irradiación.

Evaluación del daño térmico al componente o componentes de vasos, microvasos o capilares. Treinta minutos después de la aplicación, se remueven los vasos objetivo y el tejido de soporte circundante (por ejemplo, la piel). Las biopsias se fijan en paraformaldehído al 10%, se embeben en parafina y se cortan en secciones de 5 μ m en un micrótopo en dirección transversal. Los portaobjetos con secciones de parafina montadas se desparafinan y se tiñen con hematoxilina y eosina (H&E) o mejoramiento de la tinción con plata. Mediante la tinción con H&E y microscopía óptica, se pueden tomar imágenes de uno o varios vasos, microvasos y capilares. La puntuación se realiza para el daño térmico visible de las estructuras del vaso. Adicionalmente, se realiza la tinción del vaso (por ejemplo, tinción con CD31) para identificar claramente las estructuras vasculares dentro de las muestras de tejido.

Como comprenderá el experto en la técnica, el objeto descrito en la presente memoria descriptiva se puede incorporar en otras formas específicas sin apartarse del espíritu o de sus características esenciales de la misma. Por lo tanto, las realizaciones precedentes deben considerarse en todos los aspectos ilustrativas en vez de limitativas de la invención descrita en la presente memoria.

55

Reivindicaciones

1. Una composición que comprende un portador cosméticamente aceptable y una pluralidad de nanopartículas plasmónicas en una cantidad de 10^9 a 10^{18} nanopartículas por mililitro de composición, para uso en un método para tratar el acné en un sujeto mamífero,
- 5 en donde las nanopartículas plasmónicas comprenden plata y/u oro,
- y en donde las nanopartículas plasmónicas comprenden un recubrimiento hidrofílico o alifático, en donde el recubrimiento no se adsorbe en la piel de un sujeto mamífero, y en donde dicho recubrimiento se selecciona de polietilenglicol, sílice, óxido de sílice, polivinilpirrolidona, poliestireno, proteína o péptido; y
- en donde dicho método comprende
- 10 i) administrar tópicamente dicha composición a una superficie de la piel del sujeto;
- ii) proporcionar medios de penetración para redistribuir las nanopartículas plasmónicas desde la superficie de la piel a un componente del tejido dérmico; y
- iii) provocar la irradiación de la superficie de la piel mediante luz.
2. Un método para eliminar el pelo de un sujeto mamífero, que comprende las etapas de
- 15 i) administrar por vía tópica a una superficie de la piel del sujeto una composición que comprende un portador cosméticamente aceptable y una pluralidad de nanopartículas plasmónicas en una cantidad de 10^9 a 10^{18} nanopartículas por mililitro de composición,
- en donde las nanopartículas plasmónicas comprenden plata y/u oro,
- 20 y en donde las nanopartículas plasmónicas comprenden un recubrimiento hidrofílico o alifático, en donde el recubrimiento no se adsorbe a través de la piel de un sujeto mamífero, y
- en donde dicho recubrimiento se selecciona entre polietilenglicol, sílice, óxido de sílice, polivinilpirrolidona, poliestireno, una proteína o un péptido;
- ii) proporcionar medios de penetración para redistribuir las nanopartículas plasmónicas desde la superficie de la piel a un componente del tejido dérmico; y
- 25 iii) provocar la irradiación de la superficie de la piel mediante luz.
3. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o el método de la reivindicación 2, en donde la fuente de luz comprende excitación de mercurio, xenón, deuterio o un haluro metálico, fosforescencia, incandescencia, luminiscencia, diodo emisor de luz o luz solar.
- 30 4. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o el método de la reivindicación 2, en la que los medios de penetración comprenden ultrasonido de alta frecuencia, ultrasonido de baja frecuencia, masaje, iontoforesis, flujo de aire a alta presión, flujo de líquido a alta presión, vacío, tratamiento previo con fototermólisis fraccionada o dermoabrasión, o una combinación de los mismos.
5. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o el método de la reivindicación 2, en donde la irradiación comprende luz que tiene una longitud de onda de luz entre aproximadamente 200 nm y aproximadamente 10.000 nm, una fluencia de aproximadamente 1 hasta aproximadamente 100 julios/cm², un ancho de pulso de aproximadamente 1 femptosegundo hasta aproximadamente 1 segundo, y una frecuencia de repetición de aproximadamente 1 Hz hasta aproximadamente 1 THz.
- 35 6. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o el método de la reivindicación 2, en donde el portador cosméticamente aceptable comprende un aditivo, un colorante, un emulsionante, una fragancia, un humectante, un monómero polimerizable, un estabilizador, un disolvente o un surfactante.
- 40 7. La composición para uso de la reivindicación 6 o el método de la reivindicación 6, en donde el surfactante se selecciona del grupo que consiste en: lauret 2-sulfato de sodio, dodecil sulfato de sodio, lauril sulfato de amonio, octech-1/deceth-1 sulfato de sodio, lípidos, proteínas, péptidos o derivados de los mismos.
8. La composición para uso de la reivindicación 6 o el método de la reivindicación 6, en donde el portador cosméticamente aceptable comprende surfactante en una cantidad entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 10,0% peso a peso del portador.
- 45 9. La composición para uso de la reivindicación 6 o el método de la reivindicación 6, en donde el disolvente se selecciona del grupo que consiste en agua, propilenglicol, alcohol, hidrocarburo, cloroformo, ácido, base, acetona, éter dietílico, sulfóxido de dimetilo, dimetilformamida, acetonitrilo, tetrahidrofurano, diclorometano y acetato de etilo.

10. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o el método de la reivindicación 2, en donde las nanopartículas plasmónicas tienen un tamaño de partícula en el intervalo de aproximadamente 1 nm hasta aproximadamente 1.000 nm.
- 5 11. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o el método de la reivindicación 2, en donde las nanopartículas plasmónicas tienen una densidad óptica de al menos aproximadamente una DO 1 a una o más longitudes de onda de resonancia pico.
12. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o el método de la reivindicación 2, en donde las nanopartículas plasmónicas tienen una densidad óptica de DO 10-DO 1.000 a una o una pluralidad de longitudes de onda de resonancia pico.
- 10 13. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o el método de la reivindicación 2, en donde la luz tiene una longitud de onda seleccionada del grupo que consiste en: 755 nm, 800-810 nm y 1.064 nm.
14. La composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 1 o el método de la reivindicación 2, en donde dicho método comprende además tratar previamente la superficie de la piel para aumentar el suministro de las nanopartículas plasmónicas desde la superficie de la piel al componente del tejido dérmico, en donde el tratamiento previo comprende por lo menos uno del grupo que consiste en la depilación a través de afeitado, encerado, exfoliación de la superficie con cianoacrilato, tratamiento con tioglicolato de calcio u otras técnicas para eliminar el vástago del pelo y/o los tapones del folículo piloso y la exfoliación.
- 15 15. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o el método de la reivindicación 2, en donde las nanopartículas plasmónicas están desensambladas, en donde las nanopartículas plasmónicas no ensambladas no están unidas entre sí a través de una fuerza física o un enlace químico ya sea directa o indirectamente a través de un intermediario.
- 20 16. La composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 1 o el método de la reivindicación 2, en donde dicha pluralidad de nanopartículas plasmónicas está presente en una cantidad de 10^{11} a 10^{13} nanopartículas por mililitro de la composición.

25

30

35

40

FIG. 10

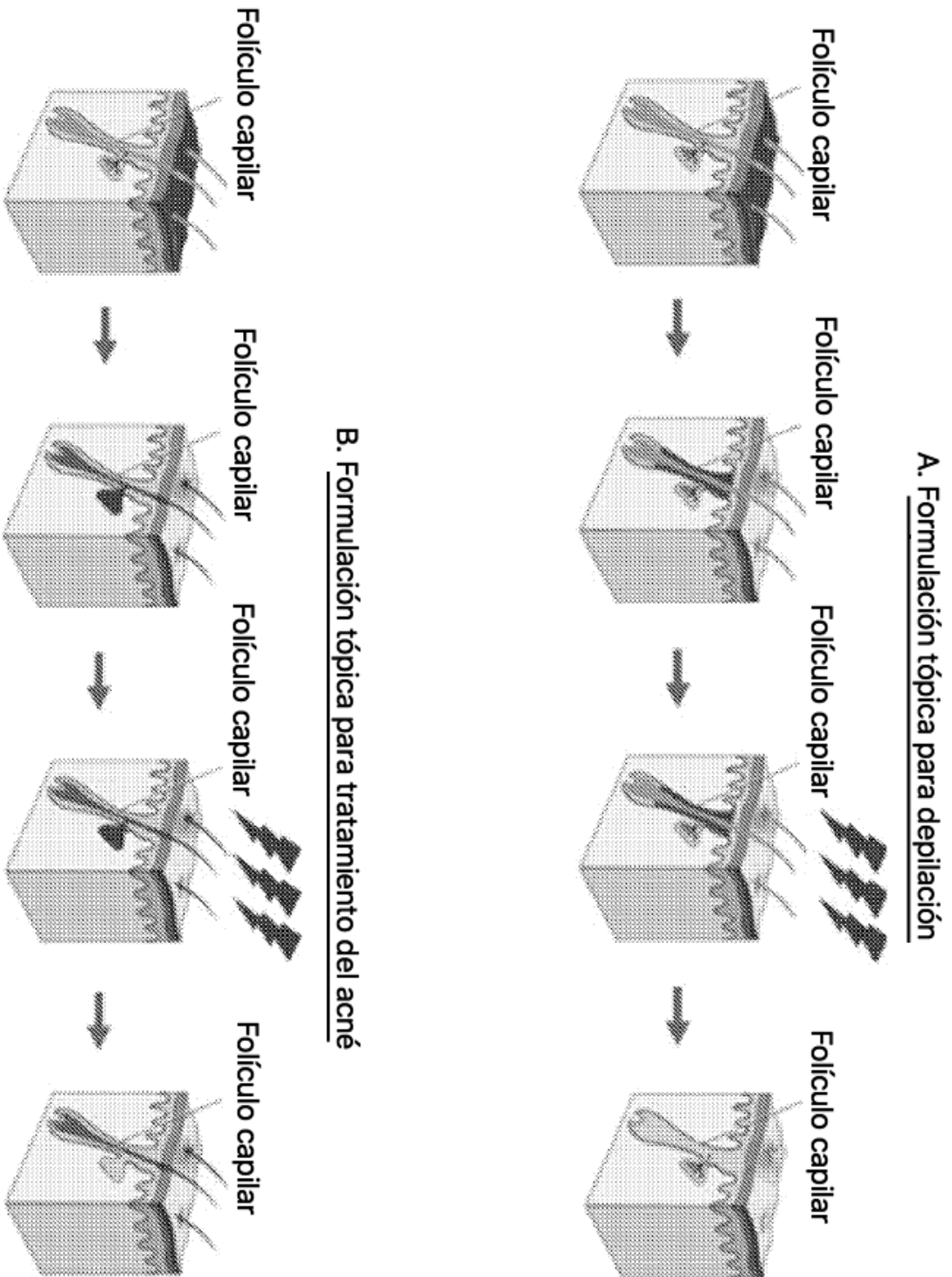


FIG.2

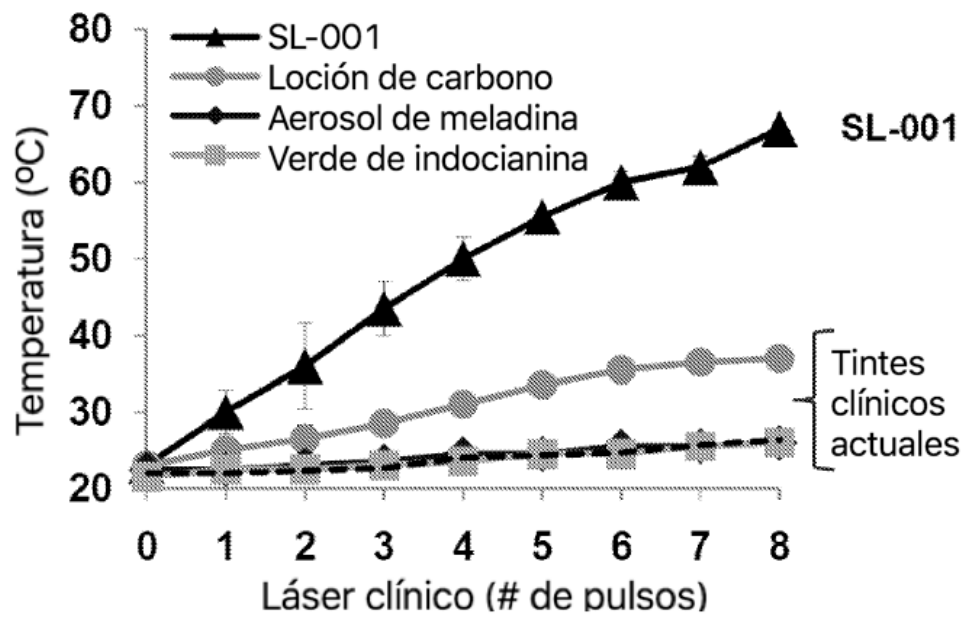


FIG. 3

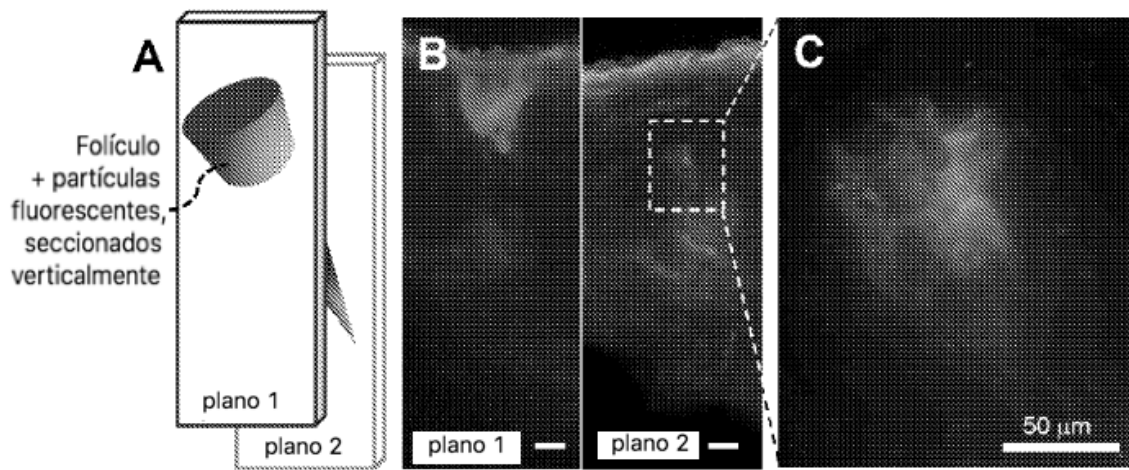


FIG. 4

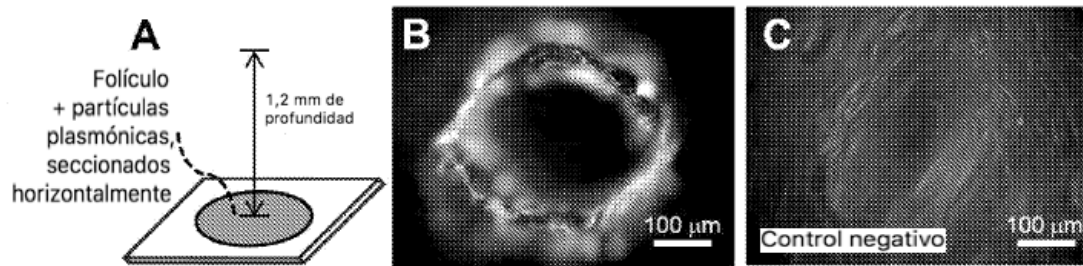


FIG. 5

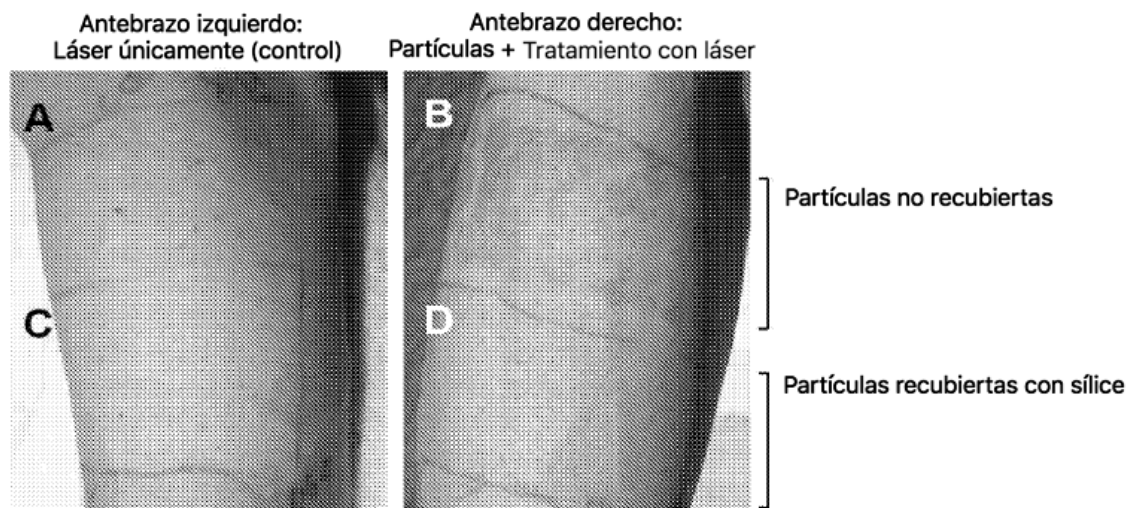


FIG. 6

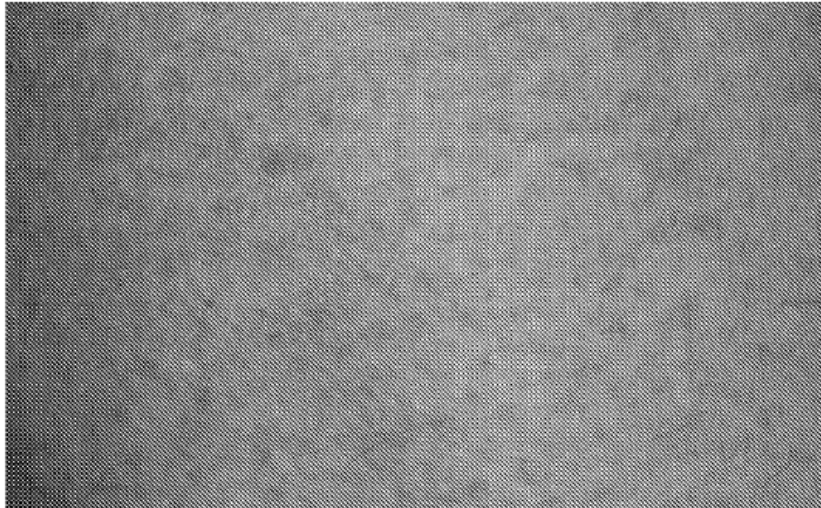


FIG. 7

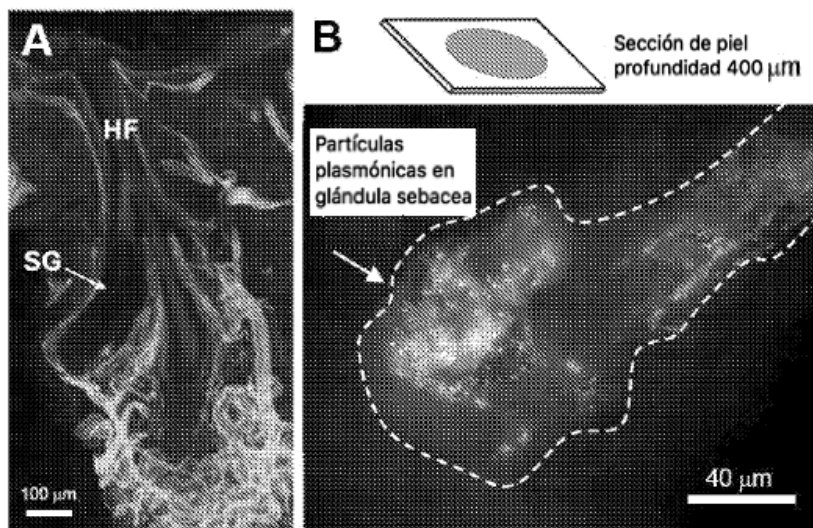


FIG. 8

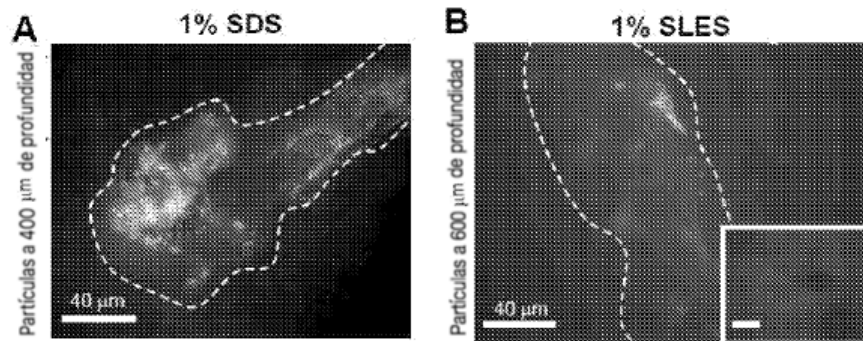


FIG. 9

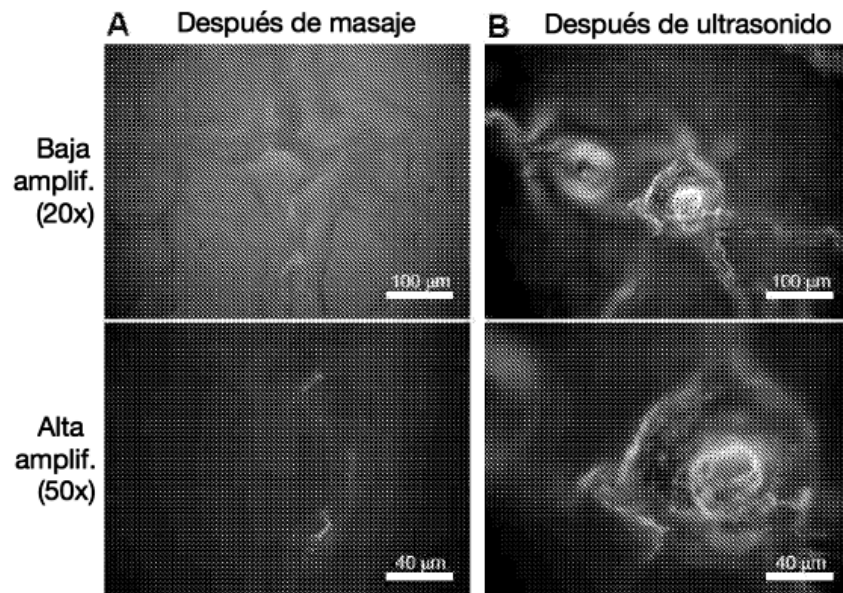


FIG. 10

