

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 663 095**

51 Int. Cl.:

A61M 37/00 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61Q 19/00 (2006.01)

A61K 8/98 (2006.01)

A61Q 19/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.03.2011 PCT/JP2011/056643**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.09.2011 WO11115272**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.03.2011 E 11756455 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.01.2018 EP 2548608**

54 Título: **Matriz de microagujas que contienen proteoglucano**

30 Prioridad:

19.03.2010 JP 2010065089

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

11.04.2018

73 Titular/es:

**COSMED PHARMACEUTICAL CO., LTD. (100.0%)
32, Higashikujyo Kawanishi-cho, Minami-ku,
Kyoto-shi
Kyoto 601-8014, JP**

72 Inventor/es:

**QUAN, YING-SHU;
KAMIYAMA, FUMIO;
TAKI, TAKAO;
KAWAI, KAZUYOSHI;
TAKEMOTO, TADAYOSHI;
HAMABUCHI, TAKUYA y
OHTA, KAZUHIDE**

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 663 095 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

Matriz de microagujas que contienen proteoglucano.

5 [Campo técnico]

La presente invención se refiere a una matriz de microagujas que se puede utilizar como un preparado externo. Más específicamente, la presente invención se refiere a una matriz de microagujas que es cosmética o farmacéuticamente eficaz.

10

[Técnica anterior]

Los preparados externos que contienen propiedades medicinales se usan convencionalmente de tal modo que las propiedades medicinales pueden presentar actividad farmacológica bajo la piel. Se conocen disoluciones, ungüentos, preparados de crema, preparados de cinta, parches, cataplasmas, etc., como tales preparados externos. Estos se aplican o adhieren en forma tópica, de tal modo que las propiedades medicinales son absorbidas percutáneamente para presentar de este modo la actividad farmacológica deseada bajo la piel.

15

Sin embargo, tales preparados externos en una forma aplicada o adherida presentan desventajas, es decir, se pueden eliminar o perder debido a la transpiración, el lavado, una presión externa y otros factores durante el uso antes de que las propiedades medicinales sean absorbidas percutáneamente. Otro problema de estos preparados externos es que las propiedades medicinales no son absorbidas percutáneamente en un grado suficiente debido a la función de barrera de la piel, y por lo tanto no presentan la actividad farmacológica deseada. Particularmente, cuando se usan compuestos poliméricos como propiedades medicinales, la absorción percutánea es difícil, haciendo de este modo difícil que los preparados externos presenten la actividad farmacológica deseada.

20

25

Recientemente, como una técnica para solucionar estas desventajas de los preparados externos, se están estudiando activamente matrices de microagujas que presentan microagujas que comprenden propiedades medicinales (documentos 1 a 3 de patente). Por ejemplo, el documento 1 de patente propone una matriz de microagujas que presenta microagujas formadas por una materia prima compuesta principalmente de colágeno. De acuerdo con la matriz de microagujas del documento 1 de patente, las microagujas son insertadas en la capa superficial de la piel y/o el estrato córneo para suministrar las propiedades medicinales contenidas en las microagujas bajo la piel. Las partes de las microagujas insertadas se pueden disolver o biodegradar bajo la piel, y así desaparecer. Además, cuando las microagujas del documento 1 de patente, que presentan partes de agujas muy finas, son insertadas en la capa superficial de la piel y/o el estrato córneo, no se produce dolor ni sangrado, y las heridas de punción se cierran rápidamente. Las microagujas del documento 1 de patente son por lo tanto adecuadas para suministrar propiedades medicinales bajo la piel.

30

35

Al mismo tiempo, se requiere que las matrices de microagujas tengan diseños óptimos dependiendo de las enfermedades de la piel o de las condiciones de la piel. Existe por lo tanto una demanda de diversos tipos de matrices de microagujas. Sin embargo, se requiere que las microagujas de las matrices de microagujas utilizadas como preparados externos comprendan las siguientes propiedades: (1) la resistencia para soportar la inserción en la capa superficial de la piel y/o el estrato córneo, (2) la finura y flexibilidad para no causar dolor o sangrado en la capa superficial de la piel y/o el estrato córneo en el sitio de inserción de las microagujas, y (3) solubilidad o biodegradabilidad en el cuerpo de las partes de las microagujas bajo la piel. Por consiguiente, es muy difícil cambiar el diseño de los materiales constituyentes de las matrices de microagujas, y esto es así particularmente para el principal material constituyente de las microagujas. Por estas razones, únicamente se ha informado de unos pocos materiales constituyentes de las matrices de microagujas hasta el momento.

40

45

50

En el documento EP 1844763 A1, se describen unos preparados similares a agujas absorbibles percutáneamente, que pueden comprender, entre otros, proteínas, polisacáridos o polialcoholes vinílicos.

En el documento EP 2213284 A1, se describe una matriz de microagujas que se autodisuelve, que comprende un fármaco y una sustancia de peso molecular elevado. La sustancia de peso molecular elevado puede ser un polisacárido, una proteína u otro polímero.

55

En el documento EP 2327419 A1, se describe un dispositivo de microagujas que comprende un polímero biodegradable tal como poliácido láctico o polisacáridos.

60

El documento EP 2283809 A1 forma parte de la técnica anterior bajo el Artículo 54(3) EPC. Describe la producción de una matriz de microagujas que incluye un fármaco macromolecular y un polímero formador de hilos, que está hecho de polisacáridos, proteínas u otros polímeros.

El documento EP 2338557 A1 forma parte de la técnica anterior bajo el Artículo 54(3) EPC. Se describen en él microagujas solubles, que comprenden un agente activo y un polímero biodegradable.

65

En el documento JP 2009-254756 A, se describe una matriz de microagujas, en la que las microagujas están realizadas en ácido hialurónico, colágeno, gelatina o quitosano, respectivamente.

- 5 En el documento JP 2009-173702 A, se describe un procedimiento para extraer proteoglicanos a partir de tejidos de animales acuáticos congelados.

10 En los últimos años, las aplicaciones medicinales o cosméticas de proteoglicano han llamado la atención. El proteoglicano es conocido como un glucoconjugado compuesto por una proteína central y glucosaminoglucano (un mucopolisacárido ácido) unido a la misma. El proteoglicano es el principal componente de la matriz extracelular, y está presente en el tejido de la piel, el tejido de los cartílagos, el tejido óseo, el tejido vascular, etc. El proteoglicano está involucrado supuestamente, en el crecimiento y la unión de las células subcutáneas. Además, el proteoglicano es útil supuestamente para prevenir o tratar las enfermedades inflamatorias o las enfermedades autoinmunes, prevenir el rechazo después del trasplante de órganos, evitar o mejorar las alergias, y evitar o mejorar la diabetes (véase el Documento 4 de Patente).

15 Sin embargo, no se ha estudiado el uso de proteoglicano en matrices de microagujas. Actualmente, no hay ningún indicio con respecto a si el proteoglicano puede ser usado para formar microagujas.

20 **[Documentos de la técnica anterior]**

[Documentos de patente]

- 25 Documento de patente 1: Publicación de patente japonesa no examinada nº 2009-273872.
 Documento de patente 2: Publicación de patente japonesa no examinada nº 2009-254765.
 Documento de patente 3: Publicación de patente japonesa no examinada nº 2009-201956.
 Documento de patente 4: Publicación de patente japonesa no examinada nº 2007-131548.
 Documento de patente 5: Publicación de patente japonesa no examinada nº 2003-300858

30 **[Documento no de patente]**

- Documento 1 no de patente: Watanabe H, Yamada Y, Kimata K., Roles of aggrecan, a large chondroitin sulfate proteoglycan, in cartilage structure and function.; J Biochem. Oct 1998; 124(4):687-93.
- 35 Documento 2 no de patente: Ota S, Yoshihara S, Ishido K, Tanaka M, Takagaki K, Sasaki M., Effects of proteoglycan on dextran sulfate sodium-induced experimental colitis in rats. Ota S; Dig Dis Sci. diciembre de 2008; 53(12):3176-83. Epub 8 de mayo de 2008.
- 40 Documento 3 no de patente: Mitsui T, Sashinami H, Sato F, Kijima H, Ishiguro Y, Fukuda S, Yoshihara S, Hakamada K, Nakane A, Salmon cartilage proteoglycan suppresses mouse experimental colitis through induction of Foxp3+ regulatory T cells.; Biochem Biophys Res Commun. 12 de Noviembre de 2010; 402(2):209-15. Epub 20 de octubre de 2010.
- 45 Documento 4 no de patente: Sashinami H, Takagaki K, Nakane A., Salmon cartilage proteoglycan modulates cytokine responses to Escherichia coli in mouse macrophages.; Biochem Biophys Res Commun. 29 de diciembre de 2006; 351(4):1005-10. Epub 3 de noviembre de 2006.

[Sumario de la invención]

50 [Problema que se va a resolver mediante la invención]

Un objetivo de la presente invención es proporcionar una matriz de microagujas nueva y sin precedentes. Más específicamente, un objetivo de la presente invención es proporcionar una nueva matriz de microagujas que comprende una o más microagujas que presentan las siguientes propiedades:

- 55 (1) la resistencia para soportar la inserción en la capa superficial de la piel y/o el estrato córneo,
- (2) la finura y flexibilidad para no causar dolor o sangrado en la capa superficial de la piel y/o el estrato córneo en el sitio de inserción de las microagujas, y
- 60 (3) solubilidad o biodegradabilidad en el cuerpo de las partes de las microagujas bajo de la piel.

[Medios para resolver el problema]

65 En el contexto de la presente invención se han realizado unos estudios exhaustivos para solucionar los problemas mencionados anteriormente, y descubrió sorprendentemente que se puede usar proteoglicano como

material de base para formar microagujas, y que se puede producir una matriz de microagujas que presente las microagujas. Se descubrió asimismo que la matriz de microagujas presenta las excelentes propiedades descritas anteriormente en los apartados (1) a (3), y es muy útil como preparado externo. Adicionalmente, se espera que la matriz de microagujas presente efectivamente una actividad farmacológica útil basada en proteoglicano bajo la piel.

La presente invención se alcanza realizando unos estudios adicionales sobre la base de estos hallazgos.

Más específicamente, la presente invención proporciona una matriz de microagujas y un procedimiento de producción de la misma de acuerdo con las siguientes formas de realización:

(I) Matriz de microagujas

(I-1). Una matriz de microagujas que comprende una o más microagujas formadas en la superficie de un sustrato, conteniendo las microagujas proteoglicano como material de base.

(1-2). La matriz de microagujas de acuerdo con (I-1), en la que cada una de las microagujas presenta una forma similar a un volcán cónico ("konide") o una forma de cono truncado circular.

(1-3). La matriz de microagujas de acuerdo con (I-1) o (1-2), en la que cada una de las microagujas es una aguja sólida.

(1-4). La matriz de microagujas de acuerdo con uno cualquiera de (I-1) a (1-3), en la que cada una de las microagujas presenta un diámetro de la raíz de 120 a 400 μm , un diámetro de la punta de 5 a 100 μm , y una longitud de 100 a 5000 μm , y el paso (la distancia de punta a punta) entre microagujas adyacentes es 100 a 1800 μm .

(1-5). La matriz de microagujas de acuerdo con (1-4), en la que cada una de las microagujas presenta una longitud de 100 a 1600 μm , o 100 a 1000 μm .

(1-6). La matriz de microagujas de acuerdo con (1-4), en la que cada una de las microagujas presenta una longitud de más de 1000 μm , pero no más de 5000 μm , o más de 1000 μm , pero no más de 3000 μm .

(1-7). La matriz de microagujas de acuerdo con (1-4), en la que cada una de las microagujas presenta una longitud de más de 1600 μm , pero no más de 5000 μm , o más de 1600 μm , pero no más de 3000 μm .

Las matrices de microagujas presentados en los apartados (1-6) y (1-7) comprenden las agujas que presentan una longitud del orden de milímetros como se mencionó anteriormente, pero una finura del orden de micrómetros (el diámetro de la raíz y el diámetro de la punta de la aguja). La matriz de microagujas de la presente invención incluye dichas matrices que presentan las agujas mencionadas anteriormente que presentan una longitud del orden de milímetros y una finura del orden de micrómetros.

(1-8). La matriz de microagujas de acuerdo con uno cualquiera de los apartados (I-1) a (1-7), en la que el contenido de proteoglicano en la una o más microagujas es 20 a 100% en peso.

(1-9). La matriz de microagujas de acuerdo con uno cualquiera de (I-1) a (1-8), en la que el proteoglicano es el proteoglicano sulfato de condroitina.

(1-10). La matriz de microagujas de acuerdo con uno cualquiera de (I-1) a (1-9), en la que el proteoglicano deriva de pez.

(I-11). La matriz de microagujas de acuerdo con (I-10), en la que el pez es salmón, tiburón o medusa.

(1-12). La matriz de microagujas de acuerdo con uno cualquiera de (I-1) a (I-11), en la que dichas una o más microagujas contienen, además del proteoglicano, un polímero soluble en agua distinto del proteoglicano, o una propiedad medicinal cosmética o farmacéuticamente aceptable.

(1-13). La matriz de microagujas de acuerdo con uno cualquiera de (I-1) a (1-12), en la que el sustrato presenta la misma composición que las microagujas.

(II) Procedimiento de producción de una matriz de microagujas

(II-1). Un procedimiento de producción de la matriz de microagujas de acuerdo con (I-1) o (I-11), comprendiendo el procedimiento las etapas de:

verter una disolución acuosa en la que el proteoglucano para formar microagujas se disuelve en un molde en el cual está ahuecada la forma de una matriz de microagujas, de modo que se forma una parte de microaguja y una parte de sustrato;

5

evaporar la humedad hasta sequedad a temperatura ambiente o por calentamiento; y

retirar del molde la matriz de microagujas formada.

10

(II-2). Un procedimiento para producir la matriz de microagujas de acuerdo con (I-1), comprendiendo el procedimiento las etapas de:

verter una disolución acuosa en la que el proteoglucano para formar microagujas se disuelve en un molde en el cual está ahuecada la forma de una microaguja;

15

evaporar la humedad hasta sequedad a temperatura ambiente o por calentamiento;

laminar un sustrato encima y combinar o unir la parte inferior de las microagujas y el sustrato; y

20

retirar del molde las microagujas combinadas o unidas con el sustrato.

(II-3). El procedimiento de acuerdo con (II-1) o (II-2), en el que la disolución acuosa en la que se disuelve proteoglucano para formar microagujas contiene el proteoglucano en una concentración de aproximadamente 1 a 30% en peso, preferentemente aproximadamente 1 a 25% en peso.

25

[Efecto de la invención]

La presente invención proporciona una matriz de microagujas que presenta una o más microagujas formadas usando proteoglucano como material de base. La matriz de microagujas de la presente invención comprende una o más microagujas que presentan las excelentes propiedades anteriores, es decir, (1) resistencia, (2) finura y flexibilidad, y (3) solubilidad en el cuerpo. La matriz de microagujas, que presenta así suficientes propiedades para ser utilizada como preparado externo, puede suministrar adecuadamente proteoglucano debajo de la piel y los tejidos subyacentes.

30

35

Además, la matriz de microagujas de la presente invención es adecuada para aplicaciones cosméticas o medicinales usando la acción del proteoglucano. Particularmente, se espera que la matriz de microagujas de la presente invención presente una actividad antienvjecimiento, tal como un efecto alisador de arrugas, basado en la actividad promotora del crecimiento de las células epidérmicas del proteoglucano.

40

[Breve descripción de los dibujos]

La figura 1 representa una vista en sección transversal de un molde (1) que presenta unos rebajes (11) con una forma similar a una microaguja, y que está lleno con una disolución acuosa (2) que contiene proteoglucano.

45

La figura 2 representa una vista en sección transversal de un ejemplo de la matriz de microagujas de la presente invención (Ejemplo 1). La matriz de microagujas presenta una estructura en la cual se forman una pluralidad de microagujas con forma similar a un volcán cónico sólido (4) en la superficie de un sustrato (3). En el dibujo, el signo "a" hace referencia a la longitud (altura) de la microaguja formada sobre el sustrato; el signo "b" hace referencia al diámetro de la raíz de la microaguja; el signo "c" hace referencia al diámetro de la punta de la microaguja; el signo "d" hace referencia a la distancia (paso) entre las puntas de microagujas adyacentes formadas sobre el sustrato; y el signo "e" hace referencia al grosor del sustrato. En la presente memoria, el "diámetro de raíz" de la microaguja indica el diámetro de la parte inferior de la microaguja unida a la superficie del sustrato. Más específicamente, en la vista en sección transversal que se muestra en la figura 2, el "diámetro de raíz" corresponde a la distancia entre los puntos tangentes (6) de la microaguja con relación a la superficie del sustrato (5), que se considera como la línea de base.

50

55

La figura 3 a 3 representa una vista en perspectiva y una imagen de la matriz de microagujas de la presente invención usada en el Ejemplo 2. (A) ilustra una vista en perspectiva (a-1) y una imagen (a-2) de la matriz de microagujas antes del uso. (B) ilustra una vista en perspectiva (b-1) y una imagen (b-2) de la matriz de microagujas después del uso. El número de referencia "7" hace referencia a una cinta usada para fijar la matriz de microagujas a la piel de la rodilla.

60

65

La figura 4 representa los resultados del Ejemplo 2. (A) es una imagen de un sitio al cual se aplicó y a continuación se eliminó la matriz de microagujas de la presente invención, que contiene un colorante, y (B) es una imagen del tejido subcutáneo del sitio al cual se aplicó la matriz de microagujas.

[Modo de poner en práctica la invención]

5 La matriz de microagujas de la presente invención comprende una o más microagujas formadas en la superficie de un sustrato, conteniendo las microagujas proteoglucono como material de base. A continuación se describe la matriz de microagujas de la presente invención en detalle.

10 Proteoglucono es un término general para las moléculas en las cuales uno o más glucosaminoglucanos están unidos en forma covalente a una proteína central. El tipo de proteoglucono usado en la presente invención no está limitado particularmente, y se puede usar cualquiera de aquellos que pertenecen a proteoglucono de sulfato de condroitina, proteoglucono de sulfato de dermatano, proteoglucono de sulfato de heparano, y proteoglucono de sulfato de queratano. Los ejemplos específicos del proteoglucono usado en la presente invención incluyen agrecano, versicano, neurocano, brevicano, decorina, biglicano, serglicina, perlecano, sindecano, glipicano, lumicano, queratocano, etc. Entre estos, se prefiere, en la presente invención, usar proteoglucono de sulfato de condroitina, y más preferentemente agrecano, como material de base para formar microagujas.

20 La fuente de proteoglucono usada en la presente invención no está limitada particularmente, y se puede usar cualquiera de las derivadas de mamíferos tales como seres humanos, vacas y cerdos; pájaros tales como pollos; peces tales como tiburones, salmón y medusa; crustáceos tales como cangrejos y gambas; y similares. Entre estas fuentes, se prefiere usar proteoglucono derivado de pescado, más preferentemente de salmón, y en particular preferentemente cartílago nasal de salmón.

25 Comparado con el proteoglucono derivado de vacas, cerdos y otros animales superiores, el proteoglucono derivado de cartílago de tiburón presenta mayor transparencia, y es efectivo como material de partida para los preparados externos para la piel. Con el fin de reducir manchas oscuras, arrugas y hundimientos, es conocida la combinación de proteoglucono derivado de cartílago de tiburón con un inhibidor de la melanogénesis y un extracto de fármaco bruto que presenta un efecto eliminador de oxígeno activo (Documento 5 de Patente).

30 El peso molecular del proteoglucono usado en la presente invención no está particularmente limitado y es determinado adecuadamente. El proteoglucono que presenta un peso molecular de 80.000 a 3.000.000 puede ser usado en general sin limitación; preferentemente se usa proteoglucono que presenta un peso molecular de 200.000 a 2.500.000, y más preferentemente 300.000 a 800.000.

35 En la presente invención, la proporción de proteoglucono en las microagujas no está particularmente limitada siempre que las microagujas contengan proteoglucono como material de base. Por ejemplo, la cantidad de proteoglucono en las microagujas es en general de 20 a 100% en peso, preferentemente 50 a 100% en peso, más preferentemente 70 a 100% en peso, aún más preferentemente 80 a 100% en peso, y aún más preferentemente 90 a 100% en peso.

40 Más específicamente, las microagujas de la presente invención que comprenden proteoglucono como material de base pueden estar compuestas sólo de proteoglucono, o pueden contener componentes distintos de proteoglucono en una cantidad hasta 80% en peso, y preferentemente 50% en peso, siempre que no se vean afectadas las siguientes propiedades de las microagujas compuestas por proteoglucono:

- 45 (1) la resistencia para soportar la inserción en la capa superficial de la piel y/o el estrato córneo,
- (2) la finura y flexibilidad para no causar dolor o sangrado en la capa superficial de la piel y/o el estrato córneo en el sitio de inserción de las microagujas, y
- 50 (3) solubilidad o biodegradabilidad en el cuerpo de las partes de microagujas bajo de la piel.

En la presente invención, "que comprenden proteoglucono como material de base" indica el significado mencionado anteriormente.

55 Como componentes distintos de proteoglucono que pueden estar contenidos en las microagujas, se pueden usar polímeros solubles en agua distintos del proteoglucono. Tales polímeros solubles en agua pueden ser aquellos que se disuelven o degradan *in vivo*, y ejemplos específicos de los mismos incluyen polisacáridos tales como ácido hialurónico, sulfato de condroitina, glicógeno, dextrina, dextrano, sulfato de dextrano, hidroxipropilmetilcelulosa, ácido algínico, quitina, quitosano y pululano; proteínas tales como colágeno, gelatina e hidrolizados de los mismos; polímeros superiores sintéticos tales como polialcohol vinílico, polivinilpirrolidona, poliácido acrílico y polímero de carboxivinilo; y similares.

60 Cuando las microagujas contienen un polímero soluble en agua distinto de proteoglucono, la cantidad del polímero soluble en agua en las microagujas es en general 1 a 30% en peso, preferentemente 1 a 25% en peso, más preferentemente 1 a 20% en peso, y aún más preferentemente 1 a 10% en peso.

Además, en la presente invención, las microagujas pueden contener propiedades medicinales cosmética o farmacéuticamente aceptables como los otros componentes mencionados anteriormente.

Entre tales propiedades medicinales, ejemplos de propiedades medicinales cosméticamente aceptables incluyen agentes blanqueadores tales como ácido ascórbico, fosfato de ascorbilo de sodio, fosfato de ascorbilo de magnesio, palmitato de ascorbilo, ácido kójico, rucinol, ácido tranexámico, extracto de regaliz, y derivados de la vitamina A; agentes antiarrugas tales como retinol, ácido retinoico, acetato de retinol, y palmitato de retinol; aceleradores de la circulación sanguínea tales como acetato de tocoferilo, capsaicina, y vanillilamida del ácido nonílico; agentes dietéticos tales como cetona de frambuesa, extracto de primula, y extracto de algas; agentes antimicrobianos tales como isopropil metil fenol, pigmentos fotosensibles, y óxido de cinc; antiflogísticos tales como ácido salicílico; vitaminas tales como vitamina D₂, vitamina D₃, y vitamina K; y similares.

Además, entre las propiedades medicinales mencionadas anteriormente, las propiedades medicinales farmacéuticamente aceptables pueden ser, distintas de las propiedades medicinales cosméticamente aceptables descritas anteriormente, medicinas usadas en el campo farmacéutico. Ejemplos específicos de medicinas distintas de las propiedades medicinales mencionadas anteriormente cosméticamente disponibles incluyen antipiréticos, analgésicos, antiflogísticos, tales como ibuprofeno, flurbiprofeno y ketoprofeno; agentes antiinflamatorios esteroideos, tales como hidrocortisona, triamcinolona y prednisolona; vasodilatadores, tales como hidrocloruro de diltiazem y nitrato de isosorbida; agentes antiarrítmicos, tales como hidrocloruro de procainamida e hidrocloruro de mexiletina; antihipertensivos, tales como hidrocloruro de clonidina, hidrocloruro de bunitrolol y captopril; anestésicos locales, tales como hidrocloruro de tetracaína e hidrocloruro de propitocaína; fármacos hormonales, tales como propiltiouracilo, estradiol, estriol, y progesterona; antihistaminas, tales como hidrocloruro de difenhidramina y maleato de clorfeniramina; anestésicos, tales como pentobarbital sódico; analgésicos soporíferos, tales como amobarbital y fenobarbital; agentes antiepilépticos, tales como fenitoína sódica; fármacos antipsicóticos, tales como hidrocloruro de clorpromazina, hidrocloruro de imipramina, clordiazepóxido y diazepam; relajantes del músculo esquelético, tales como hidrocloruro de suxametonio e hidrocloruro de eperisona; fármacos autonómicos, tales como bromuro de neoestigmina y cloruro de betanecol; agentes antiparkinsonianos, tales como hidrocloruro de amantadina; diuréticos, tales como hidroflumetiazida, isosorbida y furosemida; vasoconstrictores, tales como hidrocloruro de fenilefrina; estimulantes respiratorios, tales como hidrocloruro de lobelina, dimorfolamina e hidrocloruro de naloxona; narcóticos, tales como hidrocloruro de morfina, hidrocloruro de cocaína e hidrocloruro de petidina; y similares. Además, en la presente invención, las medicinas que se añaden a las microagujas pueden ser, distintas de las ilustradas anteriormente, péptidos biológicamente activos y derivados de los mismos, y fragmentos de ácidos nucleicos, oligonucleótidos, proteínas antigénicas, bacterias, virus, etc. Ejemplos de tales péptidos biológicamente activos y derivados de los mismos incluyen calcitonina, hormona adrenocorticotrópica, hormona paratiroidea (PTH), hPTH (1 → 34), insulina, secretina, oxitocina, angiotensina, β-endorfina, glucagón, vasopresina, somatostatina, gastrina, hormona liberadora de la hormona luteinizante, encefalina, neurotensina, péptido natriurético auricular, hormona del crecimiento, hormona liberadora de la hormona del crecimiento, bradiquinina, sustancia P, dinorfina, hormona tirotrópica, prolactina, interferón, interleucina, G-CSF, glutatióna peroxidasa, superóxido dismutasa, desmopresina, somatomedina, endotelina, sales de los mismos, etc. Ejemplos de la proteína antigénica mencionada anteriormente incluyen antígeno de superficie de HBs, antígeno de HBe, etc.

La matriz de microagujas de la presente invención presenta una estructura en la cual una o más microagujas se forman en la superficie de un sustrato. En la matriz de microagujas de la presente invención, cuanto más grande sea el número de microagujas, tanto mayor es la actividad farmacológica deseada. Por lo tanto, el sustrato se proporciona convenientemente con una pluralidad de microagujas.

La forma de la microaguja puede estar determinada adecuadamente de modo que pueda ser insertada en la piel y disolverse en el cuerpo (en la piel y el tejido subyacente), y de modo que no produzca dolor y sangrado. Por ejemplo, la microaguja presenta preferentemente una forma similar a un volcán cónico, una forma de cono truncado circular, o similar. La forma similar a un volcán cónico como se usa en la presente memoria es una forma así llamada de volcán, es decir, un cono truncado circular cuya superficie lateral se encuentra internamente curvada, como se muestra en la figura 2. Además, la microaguja es preferentemente una aguja sólida, en lugar de una aguja hueca.

Una microaguja con una forma similar a un volcán cónico o una forma de cono truncado circular presenta preferentemente un diámetro de la raíz de aproximadamente 120 a 400 μm, y más preferentemente aproximadamente 150 a 300 μm, porque una microaguja delgada suministra una cantidad más pequeña de proteoglucano a la piel y se rompe fácilmente cuando se inserta en la piel, mientras que una microaguja gruesa es difícil de insertar en la piel. El "diámetro de la raíz" de la microaguja indica el diámetro de la parte inferior de la microaguja unida a la superficie del sustrato.

Una microaguja con una forma similar a un volcán cónico o una forma de cono truncado circular presenta preferentemente un diámetro de la punta de aproximadamente 5 a 100 μm, y más preferentemente aproximadamente 10 a 80 μm, porque una microaguja delgada (aguda) se rompe fácilmente cuando se inserta

en la piel, mientras que una microaguja gruesa es difícil de insertar en la piel, causando así dolor.

Una microaguja con una forma similar a un volcán cónico o una forma de cono truncado circular presenta preferentemente una longitud de aproximadamente 100 μm o más, preferentemente aproximadamente 150 μm o más, y más preferentemente aproximadamente 200 μm o más, porque una microaguja corta es insertada en forma poco profunda en la piel y por lo tanto hace que sea difícil suministrar el proteoglicano. El límite superior de la longitud de la microaguja no está particularmente limitado siempre que la microaguja no esté rota cuando se inserta en la piel. El límite superior de la longitud es en general de aproximadamente 5000 μm o menos, preferentemente aproximadamente 3000 μm o menos, y más preferentemente aproximadamente 1600 μm o menos. Específicamente, la longitud de la microaguja es, por ejemplo, de aproximadamente 100 a 5000 μm , preferentemente aproximadamente 100 a 3000 μm . La microaguja incluye la microaguja que presenta una longitud de aproximadamente 100 a 1600 μm , preferentemente aproximadamente 150 a 1200 μm , o más preferentemente aproximadamente 150 a 1000 μm , y la microaguja que presenta una longitud de más de aproximadamente 1000 μm pero no más de 5000 μm , preferentemente más de aproximadamente 1600 μm pero no más de 5000 μm , o más preferentemente más de aproximadamente 1600 μm pero no más de 3000 μm .

En la matriz de microagujas, con respecto a la distancia entre una microaguja y una microaguja adyacente, una distancia más corta hace que sea más difícil insertar las microagujas en la piel, mientras que una distancia más grande da por resultado un número más pequeño de microagujas por área unitaria, causando un suministro insuficiente de proteoglicano en la piel. Desde este punto de vista, el espacio entre las microagujas dispuestas en la matriz de microagujas es preferentemente tal que la distancia entre la punta de una microaguja y la punta de una microaguja adyacente (esta distancia es denominada el "paso" en la presente invención) es de aproximadamente 100 a 1800 μm , y preferentemente aproximadamente 150 a 1200 μm .

El número de microagujas por área unitaria de la superficie del sustrato de la matriz de microagujas se determina adecuadamente dependiendo del paso descrito anteriormente, y de otros factores. Por ejemplo, el número de microagujas por cm^2 de la superficie del sustrato de la matriz de microagujas es en general aproximadamente 50 a 300, preferentemente aproximadamente 100 a 200, y más preferentemente aproximadamente 120 a 160. Aunque la disposición de la pluralidad de microagujas en la matriz de microagujas no está particularmente limitada, las mismas están dispuestas preferentemente en un patrón de tipo rejilla.

En la matriz de microagujas de la presente invención, el sustrato no está particularmente limitado, siempre que sea una película o lámina sobre la cual se puedan adherir, mantener o formar las microagujas. El sustrato puede ser una película o lámina que presenta la misma composición que las microagujas, o puede ser una película o lámina que presenta una composición diferente de la de las microagujas. Ejemplos específicos de películas o láminas que presentan una composición diferente de las microagujas incluyen películas o láminas hechas de polimetacrilato de metilo, acetato de celulosa, etilcelulosa, resina de polietileno, resina de polipropileno, copolímero de etileno-propileno, copolímero de etileno-acetato de vinilo, resina basada en cloruro de vinilo, resina de cloruro de vinilideno, copolímero de acetato de vinilo-cloruro de vinilo, resina basada en poliamida, resina de poliéster, copolímero de acrilonitrilo-butadieno-estireno, copolímero de estireno-isopreno-estireno, copolímero de estireno-etileno-butileno-estireno, resina de uretano, resina de silicio, aluminio, etc. En términos de facilidad de producción, el sustrato está formado preferentemente de una película o lámina que presenta la misma composición que las microagujas. En este caso, el sustrato puede estar formado integralmente con las microagujas.

El sustrato no está particularmente limitado; sin embargo, es preferible que las microagujas puedan ser adheridas o mantenidas en la superficie del sustrato, y que el sustrato tenga un grosor que permita que las microagujas sean insertadas en la capa superficial y/o el estrato córneo. Aunque el grosor del sustrato puede ser determinado generalmente dentro del intervalo de aproximadamente 50 μm o más, por ejemplo, el grosor es preferentemente aproximadamente 50 a 500 μm , y más preferentemente aproximadamente 80 a 300 μm , aún más preferentemente aproximadamente 100 a 200 μm .

El procedimiento de producción de la matriz de microagujas de la presente invención no está particularmente limitado, y la matriz de microagujas puede ser producida por un procedimiento conocido. Ejemplos del procedimiento de producción de la matriz de microagujas de la presente invención incluyen los procedimientos (i) y (ii) descritos a continuación.

(i) Una disolución acuosa en la cual se disuelven los componentes para formar las microagujas se vierte en un molde en el cual está ahuecada la forma de una matriz de microagujas, de modo que se forma una parte de microaguja y una parte de sustrato. Se evapora la humedad, y el resultante se seca a temperatura ambiente o por calentamiento. A continuación, la matriz de microagujas formado es retirada del molde. De acuerdo con este procedimiento, se puede producir una matriz de microagujas cuyas microagujas y cuyo sustrato presentan la misma composición.

(ii) Una disolución acuosa en la cual se disuelven los componentes para formar las microagujas se vierte en

un molde en el cual está ahuecada la forma de una matriz de microagujas. Se evapora la humedad, y el resultante se seca a temperatura ambiente o por calentamiento. Subsiguientemente, se lamina un sustrato sobre las microagujas formadas anteriormente, y la parte inferior de las microagujas y el sustrato se unen o combinan entre sí. Las microagujas se retiran a continuación del molde junto con el sustrato. De acuerdo con este procedimiento, se puede producir una matriz de microagujas cuyas microagujas y cuyo sustrato presentan diferentes composiciones.

En los procedimientos (i) y (ii) mencionados anteriormente, la disolución acuosa en la cual se disuelven los componentes para formar las microagujas no está particularmente limitada, siempre que presente una concentración suficiente para permitir disolver el proteoglucano. Por ejemplo, se puede usar una disolución acuosa que presenta una concentración de proteoglucano de aproximadamente 1 a 30% en peso, preferentemente aproximadamente 1 a 25% en peso.

La matriz de microagujas de la presente invención se usa aplicándola a la piel de modo que las microagujas son insertadas en la capa superficial de la piel y/o el estrato córneo. Más específicamente, la matriz de microagujas de la presente invención es adherida a la piel de modo que las microagujas son insertadas en la capa superficial de la piel y/o el estrato córneo, y la matriz de microagujas se deja en ese estado. De este modo el proteoglucano en las microagujas se disuelve en el cuerpo debido a la temperatura subcutánea y a la humedad, y es eluido bajo la piel y los tejidos subyacentes para ejercer la actividad farmacológica útil basada en el proteoglucano. Cuando las microagujas contienen polímeros solubles en agua o propiedades medicinales cosmética o farmacéuticamente aceptables, como se describió anteriormente, estos componentes en las microagujas son eluidos en la piel, junto con el proteoglucano, de modo que se ejerce bajo la piel una actividad farmacológica útil basada en el proteoglucano y estos componentes.

Para lograr más efectivamente la actividad farmacológica del proteoglucano, etc., es preferible que las microagujas insertadas en la capa superficial de la piel y/o el estrato córneo se mantengan como están durante en general aproximadamente 30 minutos o más, preferentemente 30 a 300 minutos, y preferentemente aproximadamente 60 a 180 minutos. Esto permite que el proteoglucano que forma las microagujas se disuelva suficientemente y sea eluido bajo la piel.

Como se describió anteriormente, la matriz de microagujas de la presente invención puede suministrar por lo menos proteoglucano a la piel y los tejidos subyacentes, y por eso se usa para aplicaciones cosméticas o medicinales que aprovechan la actividad del proteoglucano.

Por ejemplo, se sabe que el proteoglucano promueve el crecimiento celular epidérmico (Documento 1 no de patente). Por lo tanto, la matriz de microagujas de la presente invención se puede usar para fines cosméticos, tales como blanqueamiento de la piel, hidratación y antienviejimiento basado en la acción del proteoglucano.

También es conocido que el proteoglucano presenta unas acciones de inmunoestimulación, antiinflamatorias, etc. Por consiguiente, la matriz de microagujas de la presente invención también es efectiva para fines medicinales, tales como adyuvantes inmunológicos para el tejido de la piel, antiflogísticos para la inflamación del tejido de la piel, etc.

[Ejemplos]

La presente invención se describe en detalle a continuación haciendo referencia a los ejemplos. Sin embargo, la presente invención no debería interpretarse como limitada a los ejemplos. El proteoglucano usado en los siguientes ejemplos fue proteoglucano de sulfato de condroitina derivado de cartílago nasal de salmón (eluido de cartílago nasal de salmón usando ácido acético; producido por Kakuhiro Corporation, Japón).

Ejemplo 1 Producción de una matriz de microagujas

Una disolución acuosa que contiene 20% en peso de proteoglucano se vertió en un molde en el cual se ahuecó la forma de una matriz de microagujas. La figura 1 muestra una vista en sección transversal del molde (1) en el cual se ahuecó la forma de una matriz de microagujas y se vertió la disolución acuosa (2) que contenía proteoglucano al 20% en peso. Más específicamente, el número de referencia 1 en la figura 1 indica un molde en el cual se forman partes cóncavas (11) para formar las microagujas, de tal manera que se forma un patrón de microagujas con una forma predeterminada en la superficie de un fotopolímero por una técnica de litografía (irradiación con luz), seguido por electroformación para transferir el patrón de las microagujas en la forma predeterminada. Las partes cóncavas (11) para formar las microagujas representadas en la figura 1 presentan cada una una parte cóncava en forma de una forma similar a un volcán cónico que presenta un diámetro de extremo abierto (correspondiente al diámetro de la raíz de la microaguja) de 200 μm , un diámetro de la parte inferior (correspondiente al diámetro de la punta de la microaguja) de 40 μm , y una profundidad (correspondiente a la longitud de la microaguja) de 800 μm . Las partes cóncavas están dispuestas en un patrón de tipo rejilla a intervalos de 800 μm en el fotopolímero, y se forman 144 partes cóncavas por cm^2 .

El número de referencia 2 en la figura 1 indica una capa de disolución acuosa formada vertiendo en el molde (1) la disolución acuosa que contiene proteoglucano al 20% en peso.

La disolución acuosa que contiene proteoglucano al 20% en peso vertida en el molde (1) se secó en este estado en un horno a 35°C durante 5 horas para evaporar la humedad. El producto seco formado en el molde (1) se retiró luego del molde (1). De esta manera, se obtuvo la matriz de microagujas de la presente invención mostrada en la figura 2. En la matriz de microagujas, se forma un número de microagujas (4) finas, con forma similar a un volcán cónico sólida en la superficie del sustrato (3) vertiendo en las partes cóncavas (11) la disolución acuosa que contiene proteoglucano al 20% en peso para formar microagujas, seguido del secado. El sustrato (3) y las microagujas (4) están compuestos ambos de proteoglucano. La matriz de microagujas producida presenta la forma de una elipse con un tamaño de 6 mm (eje más corto) x 10 mm (eje más largo), dependiendo del tamaño del sustrato (3).

Las microagujas (4) presentan cada una una forma similar a un volcán cónico sólida con una longitud (Signo a) de 800 μm , un diámetro de la raíz (Signo b) de 200 μm , y un diámetro de la punta (Signo c) de 40 μm ; y la distancia (Signo d) entre la punta de una microaguja (4) y la punta de otra microaguja adyacente (4) es de 800 μm . Las microagujas (4) están dispuestas en el sustrato en un patrón de tipo rejilla en los intervalos anteriores, y se forman aproximadamente 144 microagujas por cm^2 . El grosor (Signo e) del sustrato (3) es de 200 μm .

Las microagujas de la matriz de microagujas así producida eran agujas finas, tenían buena resistencia y flexibilidad, y podían ser insertadas en la capa superficial de la piel y/o el estrato córneo casi sin dolor, como se describió anteriormente. Además, las microagujas, que estaban compuestas sólo por proteoglucano, excepto la humedad residual, presentaban excelente solubilidad debajo de la piel manteniéndolas bajo la piel durante aproximadamente 90 minutos después de la inserción subcutánea.

Adicionalmente, se espera que la matriz de microagujas que presenta microagujas compuestas por 100% de proteoglucano, excepto la humedad residual, como se describió anteriormente, sea eficaz para fines cosméticos o medicinales basados en la actividad del proteoglucano. También se espera que la matriz de microagujas sea eficaz para fines cosméticos, tal como alisado de las arrugas, basado en la actividad del proteoglucano.

Aunque la matriz de microagujas producida en el ejemplo 1 comprende microagujas de forma similar a un volcán cónico, se puede producir una matriz de microagujas que comprende microagujas con forma de cono truncado circular usando partes cóncavas (11) para formar microagujas en la forma de un cono truncado circular.

Ejemplo 2 Evaluación de la utilidad de la matriz de microagujas

Usando una disolución acuosa que contiene 20% en peso de proteoglucano y 10% en peso de colorante azul de Evans, se produjo una matriz de microagujas con la forma de una elipse con un tamaño de 8 mm (eje más corto) x 10 mm (eje más largo) (longitud de la microaguja: 800 μm) de la misma manera que en el Ejemplo 1. La matriz de microagujas producida se cortó en trozos de aproximadamente 7 mm de tamaño, y fueron aplicados a las rodillas de ratas para examinar cómo el colorante azul de Evans penetraba en el tejido circundante de las rodillas.

(1) Animales de ensayo

Ratas SD (CrI:CD, machos, de 5 semanas, 164 a 183 g; Charles River Laboratories Japan, Inc.) fueron mantenidas durante la noche (horas con luz: 12 horas, horas sin luz: 12 horas) bajo condiciones en las cuales la temperatura era $23 \pm 2^\circ\text{C}$, y la humedad era $60 \pm 10\%$. Se sometieron a los siguientes experimentos. Los animales de ensayo se trataron de acuerdo con las directivas para experimentos con animales de Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd., y se les permitió tomar alimento libremente (MF: Oriental Yeast Co., Ltd.) y agua (agua del grifo).

(2) Procedimiento de ensayo

Se afeitó el pelo de ambas rodillas de los animales de ensayo individuales ($n = 5$) con una afeitadora eléctrica y se eliminó luego con una crema depilatoria. Las matrices de microagujas (aproximadamente 7 mm x 7 mm) producidas anteriormente se aplicaron a la piel afeitada de las rodillas. Más específicamente, la matriz de microagujas se presionó y se aplicó a la piel de la rodilla de modo que las microagujas se insertaron en la piel, y la matriz de microagujas se fijó con presión a la piel con una cinta. Las matrices de microagujas se aplicaron a los animales de ensayo de esa manera, y los animales de ensayo se retuvieron en jaulas de inmovilización de Bollman para evitar movimientos.

Después de dos horas de la aplicación de las matrices de microagujas, los animales de ensayo se liberaron de las jaulas, y se sacrificaron bajo anestesia con éter. Luego, las matrices de microagujas se retiraron de la piel, y se observaron la forma de las microagujas, la superficie y el tejido subcutáneo de la piel de las rodillas a la cual se aplicaron las matrices de microagujas, para evaluar la solubilidad de las microagujas debajo de la piel y la

penetración de la tinción con el colorante azul de Evans en la superficie de la piel y el tejido subcutáneo.

(3) Resultados del ensayo

5 (3-1) Forma de la microaguja

Las partes de las microagujas de 800 μm de la matriz de microagujas aplicada desaparecieron. Esto confirmó que las microagujas insertadas en la piel se disolvieron subcutáneamente debido a la temperatura corporal y la humedad circundante.

10

(3-2) Observación del sitio en el que se aplicó la matriz de microagujas (rodilla)

15 En todos los animales de ensayo ($n = 5$), la superficie y el tejido subcutáneo de la piel del sitio en el que se aplicó la matriz de microagujas se tiñeron por el colorante azul de Evans, mientras que la capa muscular no se tiñó. Esto confirmó que los componentes (proteoglicano y colorante azul de Evans) eluidos por disolución de las microagujas se encontraban debajo de la piel. Adicionalmente, no se observaron hallazgos anormales (por ejemplo, sangrado) en los sitios de los animales de ensayo en los que se aplicó la matriz de microagujas (piel, tejido subcutáneo, y capa muscular).

REIVINDICACIONES

- 5 1. Matriz de microagujas que comprende una o más microagujas formadas sobre la superficie de un sustrato, comprendiendo las microagujas proteoglucano como material de base.
2. Matriz de microagujas según la reivindicación 1, en la que cada una de las microagujas presenta una forma similar a un volcán cónico o una forma de cono truncado circular.
- 10 3. Matriz de microagujas según la reivindicación 1 o 2, en la que cada una de las microagujas es una aguja sólida.
4. Matriz de microagujas según la reivindicación 2 o 3, en la que cada una de las microagujas presenta un diámetro de raíz de 120 a 400 μm , un diámetro de punta de 5 a 100 μm y una longitud de 100 a 5000 μm y la distancia entre las puntas de las microagujas adyacentes es de 100 a 1800 μm .
- 15 5. Matriz de microagujas según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el contenido de proteoglucano en dichas una o más microagujas es 20 a 100% en peso.
- 20 6. Matriz de microagujas según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que el proteoglucano es el proteoglucano de sulfato de condroitina.
7. Matriz de microagujas según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que el proteoglucano deriva de un pez.
- 25 8. Matriz de microagujas según la reivindicación 7, en la que el pez es salmón, tiburón o medusa.
9. Matriz de microagujas según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en la que dichas una o más microagujas contienen, además del proteoglucano, un polímero soluble en agua distinto del proteoglucano, o una propiedad medicinal cosmética o farmacéuticamente aceptable.
- 30 10. Matriz de microagujas según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en la que el sustrato presenta la misma composición que las microagujas.
- 35 11. Procedimiento de producción de la matriz de microagujas según la reivindicación 1 o 10, comprendiendo el procedimiento las etapas de (1) a (3) o (1') a (4'):
- 40 (1) verter una disolución acuosa en la que el proteoglucano para formar microagujas se disuelve en un molde en el que está rebajada la forma de una matriz de microagujas, de manera que se forman una parte de microaguja y una parte de sustrato;
- (2) evaporar la humedad hasta sequedad a temperatura ambiente o por calentamiento, y
- (3) extraer del molde la matriz de microagujas formada; o
- 45 (1') verter una disolución acuosa en la que el proteoglucano para formar microagujas se disuelve en un molde en el que está rebajada la forma de una microaguja;
- (2') evaporar la humedad hasta sequedad a temperatura ambiente o por calentamiento;
- 50 (3') laminar un sustrato encima y combinar o unir la parte inferior de las microagujas y el sustrato, y
- (4') extraer del molde las microagujas combinadas con el o unidas al sustrato.
- 55 12. Procedimiento según la reivindicación 11, en el que la disolución acuosa en la que está disuelto el proteoglucano para formar las microagujas contiene el proteoglucano a una concentración de aproximadamente 1 a 30% en peso.

Fig. 1

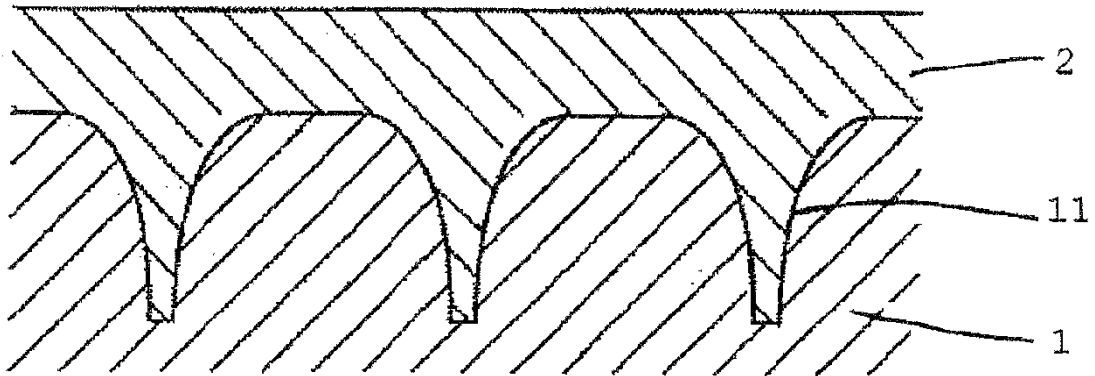


Fig. 2

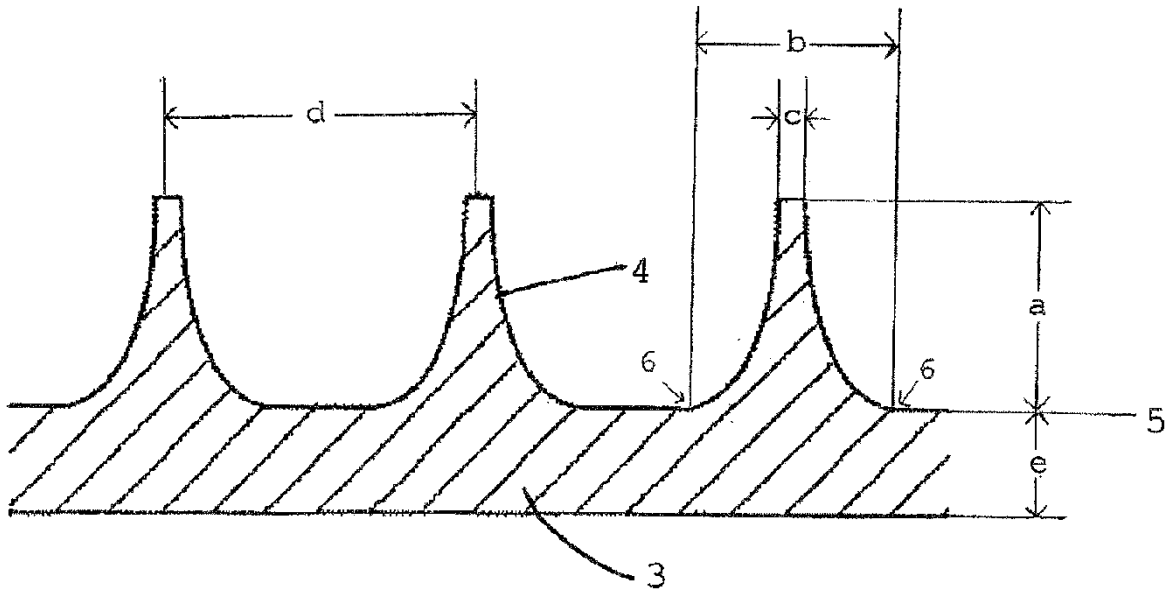
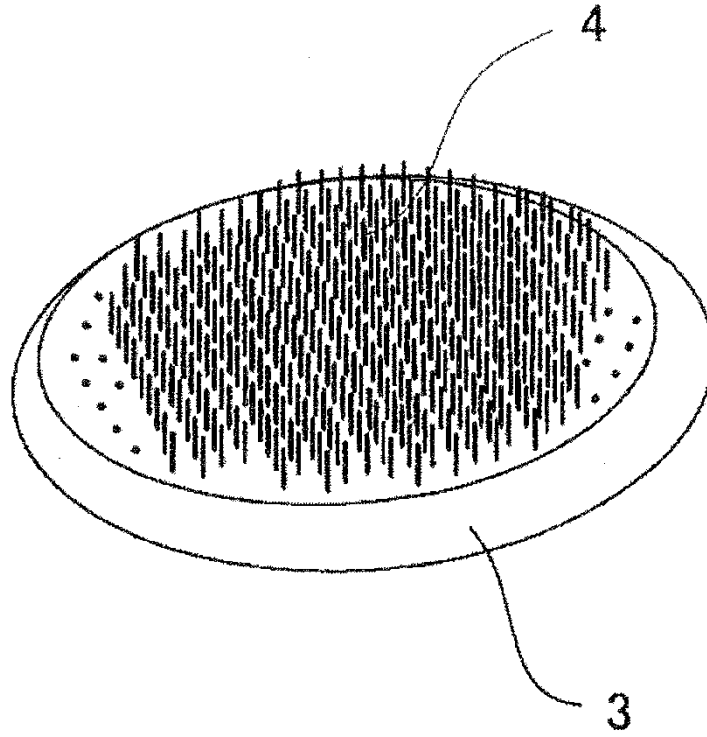


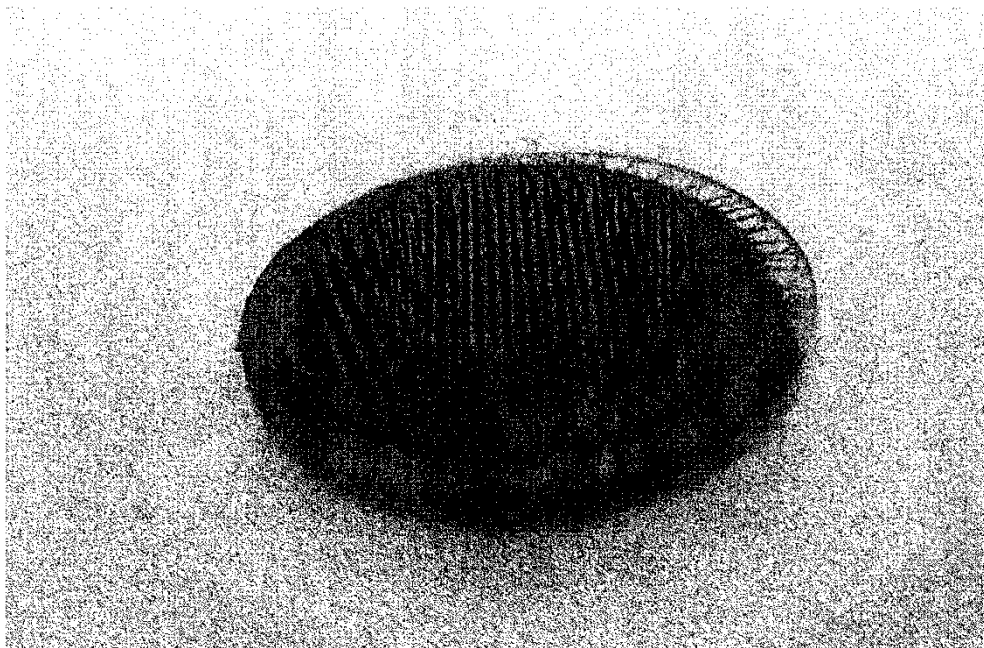
Fig. 3

(A)

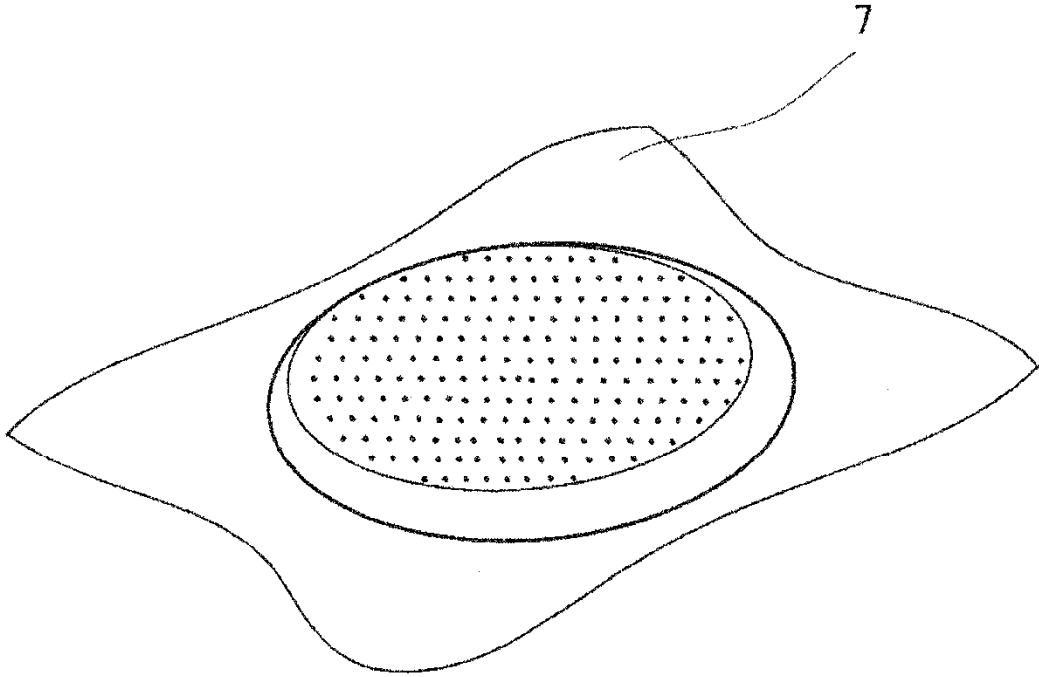
(a-1)



(a-2)



(B)
(b-1)



(b-2)

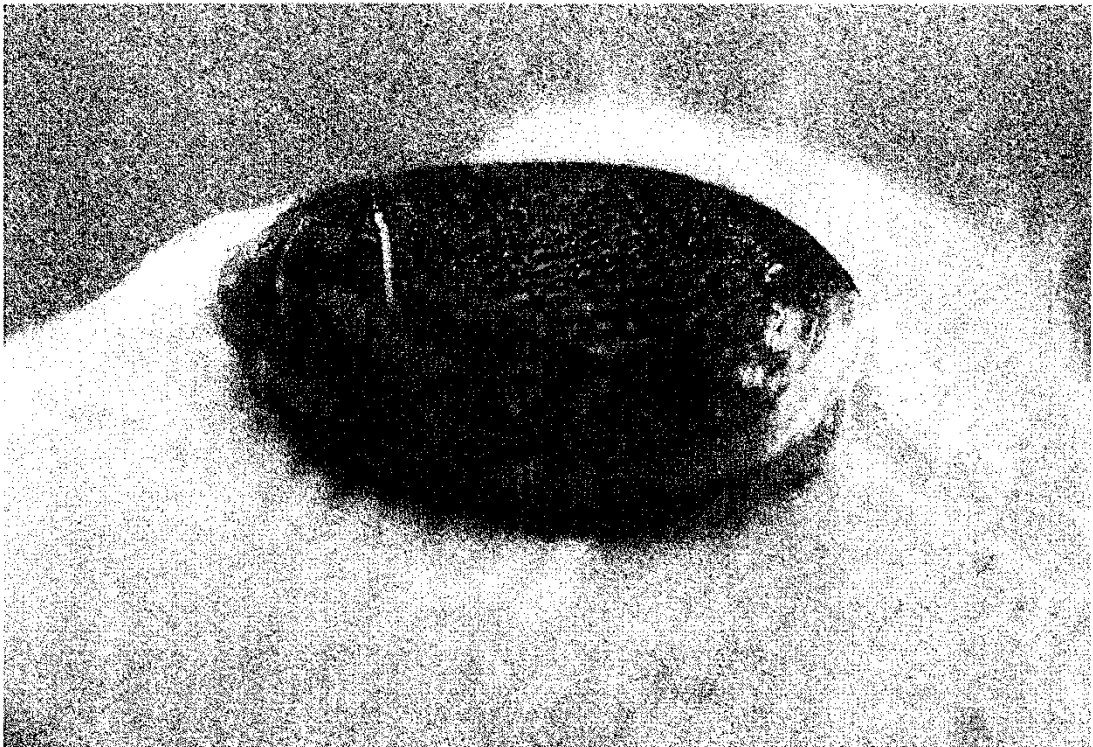
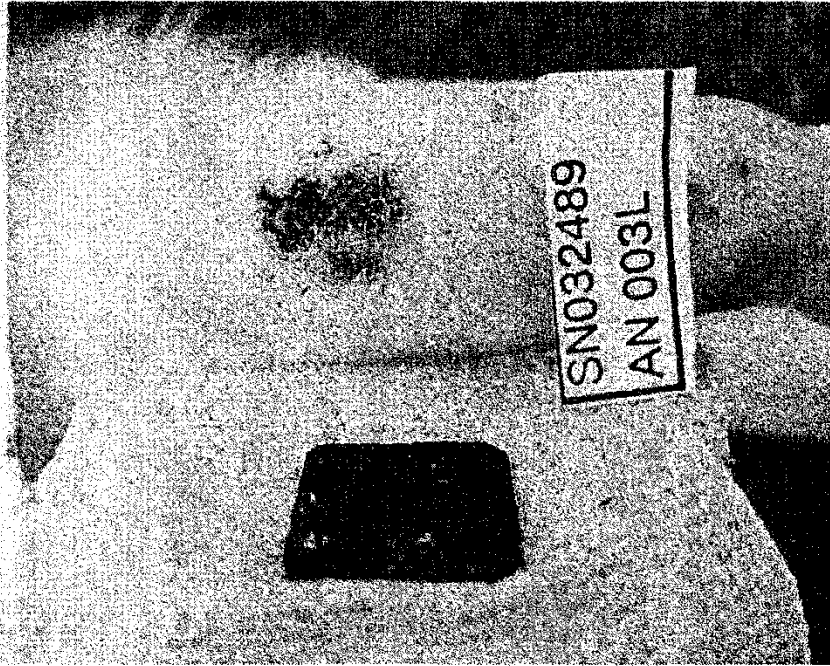


Fig. 4

(A)



(B)

