

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 712 979**

51 Int. Cl.:

**A61K 9/00** (2006.01)  
**A61K 9/10** (2006.01)  
**A61K 31/00** (2006.01)  
**A61K 8/00** (2006.01)  
**A61K 47/14** (2007.01)  
**A61P 17/14** (2006.01)  
**A61P 17/10** (2006.01)  
**A61K 9/51** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.11.2013 PCT/PL2013/000146**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **22.05.2014 WO14077712**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.11.2013 E 13811630 (6)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.11.2018 EP 2919756**

54 Título: **Nanopartículas sólidas lipídicas de roxitromicina para la pérdida de cabello o acné**

30 Prioridad:

**14.11.2012 PL 40162512**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**17.05.2019**

73 Titular/es:

**GDANSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY (100.0%)  
ul. M. Skłodowskiej-Curie 3a  
80-210 Gdansk, PL**

72 Inventor/es:

**CAL, KRYSZTOF y  
WOSICKA-FRACKOWIAK, HANNA**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

**ES 2 712 979 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

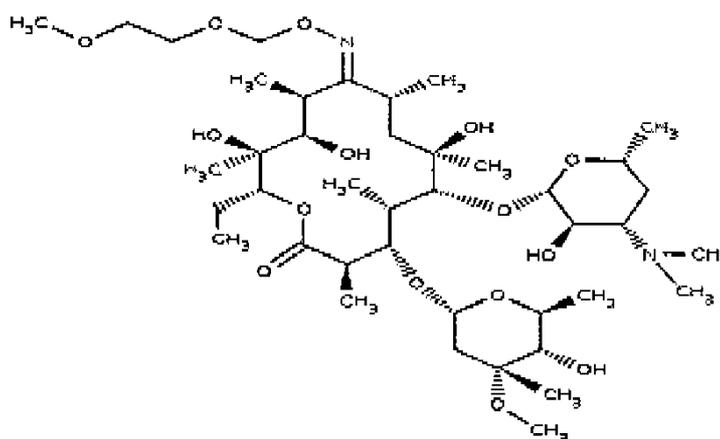
Nanopartículas sólidas lipídicas de roxitromicina para la pérdida de cabello o acné

Campo de la invención

5 La invención se refiere a una composición farmacéutica que contiene roxitromicina, el método de preparación y la aplicación médica de la composición en la fabricación de un producto medicinal para tratar la pérdida de cabello androgénica y/o el acné común, y el producto medicinal que contiene la composición.

Antecedentes de la técnica

Se divulgaron roxitromicina y sus derivados por primera vez en la patente EP 0 033 255 B solicitada por ROUSSEL UCLAF.



10 Conocido en la solicitud de patente CA 2 483 786, una preparación para el tratamiento de la alopecia androgenética, hirsutismo, es decir, la prevención del crecimiento de cabello no deseado, seborrea y acné, y también se puede usar en cosméticos, pero el principio activo no es una roxitromicina.

15 La roxitromicina, un antibiótico del grupo macrólido semisintético, es un derivado de éter 10-oxima de eritromicina de mayor resistencia a los ácidos y mejores parámetros farmacocinéticos. Es de naturaleza lipofílica. La roxitromicina se administra por vía oral en el tratamiento de infecciones con bacterias Gram positivas y, aunque con menos frecuencia, bacterias Gram negativas. El mecanismo de acción de la roxitromicina implica el bloqueo de la biosíntesis de proteínas bacterianas.

20 La roxitromicina, además de su acción antibacteriana típica con respecto a *Propionibacterium acnes*, inhibe la producción de compuestos proinflamatorios de las bacterias (lipasa, NCF, factor quimiotáctico de neutrófilos) que también contribuyen al desarrollo del acné. Gracias a lo anterior, la roxitromicina demuestra propiedades antiinflamatorias muy fuertes. Existen informes sobre su inhibición de la formación de radicales libres en los neutrófilos y sobre la inhibición de la apoptosis de los queratinocitos.

25 Se cree que las causas básicas del desarrollo del acné común incluyen la producción excesiva de sebo, el aumento de la colonización del área del orificio del conducto de la glándula sebácea por la bacteria *Propionibacterium acnes*, la queratinización excesiva del conducto y la inflamación. La inflamación se debe principalmente a dichas bacterias, y más específicamente a los ácidos grasos libres formados en el proceso de descomposición de los triglicéridos del sebo por las lipasas bacterianas. La roxitromicina, debido a su acción antibacteriana sobre *Propionibacterium acnes* y sus propiedades antiinflamatorias, es el antibiótico adecuado en el tratamiento local del acné.

30 La etiología de la pérdida de cabello androgénica y el acné común está relacionada con la unidad pilosebácea en la piel. Los síntomas de las enfermedades anteriores son difíciles de ocultar debido a su ubicación, y es por eso por lo que representan un problema grave para los pacientes, también en el aspecto psicológico, que causa una autoestima reducida y una calidad de vida deteriorada.

35 Tanto la caída del cabello como el acné son trastornos que afectan a amplios círculos de la población. Tienen un gran peso sobre la autoestima y el estado emocional relacionado de los pacientes. Hoy en día, cuando las apariencias juegan un papel tan importante, las nuevas terapias que tratan las afecciones son invaluable.

El Minoxidil 2% y 5% es el único fármaco de aplicación local aceptado por la FDA que contrarresta eficazmente la pérdida de cabello androgénica en hombres y mujeres. La finasterida se usa en la terapia oral para la pérdida del cabello, sin embargo, tiene efectos secundarios graves y solo puede ser tomado por hombres.

No hay productos farmacéuticos alternativos dirigidos específicamente a la pérdida del cabello. Cabe destacar que no existe ningún producto medicinal para administración externa que contenga roxitromicina que esté registrado en alguna parte del mundo.

5 La penetración folicular (en y a través de los folículos pilosos) de sustancias medicinales aplicadas por vía tópica se ha subvaluado durante años debido a la diminuta área que ocupan los folículos pilosos en comparación con el área de todo el cuerpo. Sin embargo, hay áreas del cuerpo donde la densidad del cabello es lo suficientemente alta como para que los folículos ofrezcan una ruta importante de penetración de fármacos, o para la administración dirigida a los sitios específicos en el folículo. La densidad del folículo piloso (500-1.000/cm<sup>2</sup>) y el volumen de la abertura folicular en la frente y la cabeza son los más altos en el cuerpo humano. El área combinada de las aberturas foliculares en estas 10 ubicaciones puede representar hasta el 10% del área total de la piel en estas regiones del cuerpo. Los mismos sitios del cuerpo a menudo sufren trastornos dermatológicos como la pérdida de cabello androgénica y el acné común, cuya etiología está estrechamente relacionada con el aparato pilosebáceo. En tales casos, la administración dirigida de fármacos a los folículos pilosos se convierte en el elemento clave de la terapia.

15 Aparte del folículo piloso con el tallo del cabello, la estructura de la unidad pilosebácea incluye la glándula sebácea que se abre hacia el canal y el músculo arrector pili. El tallo del cabello se puede dividir en tres zonas llamadas (de arriba hacia abajo): infundíbulo, istmo y la región suprabulbar que termina con un bulbo del cabello. Las dos primeras partes se extienden a los niveles epidérmico y dérmico, mientras que la tercera sección del tallo del cabello junto con el bulbo se puede ubicar hasta el tejido subcutáneo. La apertura del conducto de la glándula sebácea hacia el canal del cabello se encuentra en el borde de las zonas del infundíbulo e istmo. Por otro lado, en el borde de la segunda y 20 tercera zonas del tallo del cabello se encuentra la llamada región de crecimiento que contiene células madre que participan en la reconstrucción del cabello durante el ciclo capilar. Esta es también la región donde se une el músculo arrector pili.

25 El tallo del cabello está encerrado en dos vainas: externa e interna. La vaina exterior de la raíz del cabello es continua y la epidermis de la piel se invagina en la dermis. La glándula sebácea es un elemento unido a la vaina de la raíz externa. La glándula se forma a partir de sebocitos, células grandes que producen y almacenan el sebo y queratinocitos, formando la abertura de la glándula en el canal del cabello. Hay varias regiones en el aparato pilosebáceo donde la administración dirigida de sustancias con fines terapéuticos es posible y beneficiosa, por ejemplo, la llamada región de crecimiento con células madre, el objeto de interés para la terapia génica. Las glándulas sebáceas también son un área objetivo prometedor, ya que se abren hacia los folículos pilosos y, al mismo tiempo, 30 son el lugar donde se desarrolla el *Propionibacterium acnes*, uno de los factores que contribuyen al acné común. Las glándulas sebáceas más grandes y más densas se observan en la cara y la cabeza. Los sebocitos maduros secretan sebo en el proceso holocrino (desintegración celular). El sebo es una mezcla de triglicéridos, ceras, escualeno, ácidos grasos y colesterol. El sebo constituye la primera barrera a ser vencida por cualquier sustancia aplicada tópicamente a las áreas del cuerpo mencionadas. Por otro lado, gracias a su naturaleza lipofílica no impide la penetración de 35 sustancias de las mismas propiedades.

Las glándulas sebáceas están relacionadas con la patogénesis no solo del acné común, sino también de la pérdida de cabello androgénica. Es en ellos, donde tiene lugar la expresión de 5 $\alpha$ -reductasa, siendo la 5 $\alpha$ -reductasa la enzima responsable de la transformación de testosterona a 5 $\alpha$ -dihidrotestosterona, que a su vez provoca la miniaturización de los folículos pilosos sensibles y acelera la pérdida de cabello.

#### 40 Sumario de la invención

En la pérdida de cabello androgénica, la dihidrotestosterona causa la apoptosis de las células sensibles de la papila capilar que acelera el paso de la fase anágena a la fase catágena. La roxitromicina, considerando por ejemplo su acción antiapoptótica parece ser el candidato adecuado para inhibir el proceso. En las pruebas in vitro con folículos pilosos humanos, se observó que la roxitromicina inhibe el paso del folículo a la fase catágena mediante la inhibición 45 de la apoptosis de los queratinocitos y, como resultado, causó la elongación del cabello. En el estudio in vivo, por otro lado, se observó un crecimiento del cabello restaurado en más de la mitad de la población de pacientes que sufrieron pérdida de cabello androgénica después de la aplicación externa de una solución al 0,5% de roxitromicina durante 24 semanas. También se observó un engrosamiento sustancial del cabello. Por otra parte, no se registraron efectos secundarios locales o sistémicos o acción indeseable.

50 Las micropartículas y nanopartículas lipídicas son el portador de fármacos adecuado para la incorporación de roxitromicina debido a su naturaleza lipofílica. Sus rasgos característicos son: baja toxicidad y biodegradación. Otra de sus ventajas importantes es el hecho de que protegen el fármaco incorporado de la degradación química. Gracias a su naturaleza lipofílica, son portadores adecuados para la administración dirigida de fármacos a la unidad pilosebácea. Se ha demostrado que llegan a los folículos del cabello humano con eficacia. Acumulándose allí, forman un reservorio del fármaco incorporado y aseguran que su liberación y acción se extiendan a 10 días. La capacidad de las micropartículas y nanopartículas de penetrar en los folículos está relacionada con su tamaño. El diámetro de las aberturas foliculares en la región de la frente es ca. 60  $\mu$ m, y el diámetro del propio tallo del cabello varía aproximadamente 15  $\mu$ m. Hasta hace poco, se creía que el sebo que fluía por el canal del cabello impedía o dificultaba gravemente la penetración de sustancias activas en los folículos. Sin embargo, considerando la rata muy lenta a la 60 que el sebo se filtra fuera de la glándula sebácea y sobre la superficie de la piel, se puede concluir que no inhibe la

penetración de la formulación en los folículos pilosos. Este último se ha confirmado en las pruebas en las que se encontraron portadores de partículas presentes en el canal del cabello tan pronto como a los 15 minutos después de la aplicación.

5 Se ha demostrado que un fármaco incorporado en un portador en partículas alcanza los folículos pilosos en cantidades mayores que un fármaco aplicado, por ejemplo, en forma de solución. El método de aplicación juega un papel importante en la penetración folicular por parte de los portadores de fármacos: el masaje en la piel aumenta sustancialmente la profundidad de penetración. La aplicación de la formulación precedida de una exfoliación superficial (la eliminación de las capas externas del estrato córneo) también mejora la penetración de los folículos pilosos por los portadores de fármacos. La penetración efectiva de los portadores en partículas en los folículos está estrechamente relacionada con el tamaño de las partículas. Las partículas >10 µm permanecen en la superficie de la piel, mientras que las de menor diámetro penetran en el canal del cabello, y cuanto más pequeño es el diámetro, más profundo lo penetran.

15 Por lo tanto, es posible la administración dirigida de fármacos a la unidad pilosebácea utilizando portadores en partículas de un tamaño específico. Por ejemplo, se observaron nanopartículas lipídicas sólidas de alrededor de 500 nm de diámetro, cuya penetración en la piel se ha estudiado en la piel del cuero cabelludo humano, en folículos pilosos de hasta 900 µm. Su presencia también fue reportada en las glándulas sebáceas.

20 Los datos disponibles en la literatura indican que la roxitromicina no se ha incorporado a las micropartículas y nanopartículas lipídicas. Tampoco se han realizado estudios para evaluar la penetración de roxitromicina en y a través de la piel, incluidos los folículos pilosos, durante la administración tópica. En ningún lugar del mundo hay una preparación registrada que contenga el antibiótico que se designaría para la aplicación tópica.

La composición de acuerdo con la invención toma la forma de una suspensión acuosa de microesferas lipídicas.

Los estudios han demostrado que los productos que contienen la composición de acuerdo con la invención demuestran muy buenas propiedades de penetración folicular.

25 Los efectos inesperados de aplicar la composición de acuerdo con la invención son el resultado de una selección específica de los componentes y el método de producción:

-El behenato de glicerilo (disponible comercialmente con el nombre Compritol 888 ATO) es el glicérido que es el material que forma las microesferas (matriz).

-Poloxámero (disponible comercialmente con el nombre Poloxámero 188) desempeña el papel del emulsionante, que permite la formación de las microesferas.

30 La composición de acuerdo con la invención se puede usar como un componente de productos medicinales. Típicamente, la composición de acuerdo con la invención representa el 1,0-100% p/p del peso total del producto medicinal.

35 Las formas particularmente preferibles son los productos medicinales designados para la cara, cabeza y cabello, y la composición encuentra su aplicación más preferible en preparaciones contra el acné y contra la alopecia, por ejemplo, cremas, champús, lociones, fluidos y suspensiones.

La composición de acuerdo con la invención se puede producir en un proceso que comprende las siguientes etapas:

- calentar las fases lipídica y acuosa en recipientes separados,
- combinar los componentes calentados,
- homogeneizar la mezcla,
- 40 • enfriar la mezcla, y
- opcionalmente, añadir conservantes

45 El calentamiento se realiza utilizando técnicas estándar dentro del intervalo de 75-85 °C. La homogeneización de la mezcla se puede realizar bajo cualquier técnica utilizada en la industria. Por ejemplo, sin limitar el alcance de la invención, es posible aplicar homogeneización a alta velocidad/alta cizalla, homogeneización por ultrasonidos (sonicación), u homogeneización a alta presión. La etapa de homogeneización, que finaliza con una separación completa y una mezcla perfecta de los componentes de la mezcla, asegura, por ejemplo, estabilidad y consistencia adecuada de la suspensión definitiva.

50 La homogeneización a alta velocidad/alta cizalla implica someter la mezcla a fuerzas mecánicas en efecto de una mezcla intensa y de alta velocidad. De acuerdo con la invención, la homogeneización empleando la técnica se puede realizar preferiblemente a la velocidad de 20 TH rpm durante el tiempo de 15 minutos.

La homogeneización por ultrasonido (sonicación) aprovecha el fenómeno de la cavitación. Con la mezcla expuesta a intensos ultrasonidos, las ondas de sonido que se propagan en ella generan corrientes y remolinos que a su vez rompen los aglomerados en partículas finas.

5 La homogeneización a alta presión se reduce a bombear la mezcla a través de una válvula especialmente construida de una luz pequeña pero regulada. Las presiones necesarias en el proceso pueden llegar a 20-150 MPa.

El enfriamiento de la mezcla lo reduce a la temperatura ambiente, preferiblemente en el intervalo de 15-25 °C. Mediante la reducción de la temperatura de la mezcla se logra el proceso de solidificación de lípidos y la formación de microesferas sólidas.

Después del enfriamiento, y si es necesario, es posible agregar conservantes a la mezcla.

10 La esencia de la invención es la composición farmacéutica que contiene roxitromicina, compuesta de la siguiente manera:

- a. lípidos sólidos al 1,0-40,0%: gliceril mono-, di- y tri-behenato;
- b. roxitromicina al 0,1-10,0%
- c. tensioactivos al 1,0-10,0%: poloxámero 188, y
- 15 d. opcional 0-20,0% de conservantes, y
- e. complementar con agua para hacer el 100%.

La composición farmacéutica de acuerdo con otra realización de la invención contiene:

- a. behenato de glicerilo al 5,0%
- b. roxitromicina al 1,0%
- 20 c. poloxámero 188 al 2,5%
- d. agua al 91,5%

La composición farmacéutica de acuerdo con otra realización de la invención contiene:

- a. behenato de glicerilo al 5,0%
- b. roxitromicina al 0,5%
- 25 c. poloxámero 188 al 2,5%
- d. agua al 92,0%

La composición farmacéutica donde los lípidos sólidos son gliceril mono-, di- y tri-behenato. Otros lípidos sólidos pueden ser gliceril mono- di o tri-miristato. Palmitato o estearato de glicerilo; palmitato de cetilo; ácido esteárico; ácido palmítico, o una mezcla de las sustancias enumeradas.

30 La composición farmacéutica en la que los tensioactivos son poloxámero 188. Otros tensioactivos pueden ser poloxámeros u otros tensioactivos no iónicos.

La composición farmacéutica donde el poloxámero 188 se selecciona del grupo poloxámero.

La composición farmacéutica donde los conservantes se seleccionan del grupo que incluye fenoxietanol, glicoles o derivados de glicerina.

35 La composición farmacéutica donde preferiblemente el contenido de conservantes es en la proporción en peso de: 0-2,0% para fenoxietanol y/o 0-20,0% para pentileno o butilenglicol, o derivados de glicerina.

La composición farmacéutica que contiene una fase lipídica en forma de microesferas lipídicas en la proporción en peso de 1,0-40,0%, preferiblemente en la proporción en peso de 5,0-20,0%.

40 La composición farmacéutica que contiene una fase lipídica en forma de microesferas lipídicas de 0,1 a 1,0 µm de diámetro, preferiblemente de 0,1 a 0,5 µm.

La aplicación de la composición farmacéutica, donde la composición se utiliza para producir medicamentos destinados al tratamiento de la pérdida de cabello androgénica y/o el acné común, en cualquier forma farmacéutica, incluidas lociones, fluidos, emulsiones de aceite en agua, cremas, geles, champús, bálsamos, acondicionadores, jabones, ungüentos, pastas, suspensiones y soluciones.

45 El producto medicinal que contiene la composición definida en cualquiera de las reivindicaciones 1-3 en la proporción en peso de 1,0-100%.

El producto medicinal se selecciona del grupo que incluye lociones, fluidos, emulsiones de aceite en agua, cremas, geles, champús, bálsamos, acondicionadores, jabones, ungüentos, pastas, suspensiones y soluciones.

El producto medicinal se selecciona del grupo que incluye crema, champú, suspensión y loción.

50 El método de preparación de la composición farmacéutica comprende las siguientes etapas:

- a) la fase acuosa y los componentes de la fase lipídica se calientan por separado a la temperatura de 75-85 °C,
- b) ambas fases se combinan y homogeneizan, y
- c) la microemulsión obtenida se enfría a temperatura ambiente,
- d) después del enfriamiento, se agregan conservantes.

5 El método donde se lleva a cabo la homogeneización en la etapa b) se aplica a cualquier técnica seleccionada del grupo, incluida homogeneización a alta velocidad/alta cizalla, homogeneización por ultrasonido y/u homogeneización a alta presión.

Referencia de las figuras:

Figura 1. Una vista AFM de las microesferas producidas de acuerdo con el ejemplo 1.

10 Figura 2. Penetración de las microesferas (de acuerdo con el ejemplo 1) en los folículos pilosos hasta una profundidad de 1,5 mm (prueba de acuerdo con el ejemplo 7).

Figura 3. biopsia del contenido del folículo piloso (de acuerdo con el ejemplo 7).

La invención se ilustra con los siguientes ejemplos, ninguno de los cuales impone ninguna restricción al respecto.

### Ejemplo 1

15 La fase acuosa (agua al 91,5% y poloxámero 188 al 2,5%) y la fase lipídica (behenato de glicerilo al 5,0% y roxitromicina al 1,0%), donde todos los valores porcentuales expresan la proporción con el peso total de la composición, se calentaron en recipientes por separado a la temperatura de aproximadamente 80 °C. Luego, la fase acuosa y la fase lipídica se combinaron y se sometieron instantáneamente a homogeneización a alta velocidad (20 TH rpm, 15 minutos). La microemulsión obtenida se enfrió a temperatura ambiente (15-25 °C), lo que provocó la solidificación de los lípidos y la formación de microesferas sólidas.

20

La composición obtenida contenía los siguientes componentes (cifras % p/p):

5,0%	behenato de glicerilo
2,5%	poloxámero 188
1,0%	roxitromicina
91,5%	agua

### Ejemplo 2

25 La fase acuosa (agua al 92,0% y poloxámero 188 al 2,5%) y la fase lipídica (behenato de glicerilo al 5,0% y roxitromicina al 0,5%), donde todos los valores porcentuales expresan la proporción con el peso total de la composición, se calentaron en recipientes por separado a la temperatura de aproximadamente 80 °C. Luego, la fase acuosa y la fase lipídica se combinaron y se sometieron instantáneamente a homogeneización a alta velocidad (20 TH rpm, 15 minutos). La microemulsión obtenida se enfrió a temperatura ambiente (15-25 °C), lo que provocó la solidificación de los lípidos y la formación de microesferas sólidas.

30 La composición obtenida contenía los siguientes componentes (cifras % p/p):

5,0%	behenato de glicerilo
2,5%	poloxámero 188
0,5%	roxitromicina
92,0%	agua

### Ejemplo 3

Las características físicas y químicas de la composición en el ejemplo 1 fueron probadas.

- Forma de las partículas lipídicas en la composición: esférica.

(técnicas de medición: imagenología SEM (microscopía electrónica de barrido), TEM (microscopía electrónica de transmisión), AFM (microscopía de fuerza atómica).

- Tamaño y diámetro de las partículas: ca. 200 nm.

5 (técnica de medición: DLS (dispersión dinámica de la luz)

- Potencial Zeta: -20 - -50 mV.

(técnica de medición: electroforesis doppler láser). Índice de polidispersidad (PDI): menos de 0,30.

- pH de la composición: 7,0-9,0.

- rata de incorporación de roxitromicina en las partículas: ca. 80% (método HPLC).

#### 10 **Ejemplo 4**

La composición obtenida en el ejemplo 1 se sometió a análisis térmico (DSC). La prueba reveló solo un pico endotérmico a la temperatura de ca. 74 °C, lo que indica que corresponde a la fusión de la matriz lipídica. Por otro lado, no hay pico a la temperatura de ca. 125 °C, lo que indicaría la fusión de la roxitromicina. Esto significa que la roxitromicina se disuelve en la matriz lipídica.

#### 15 **Ejemplo 5**

La composición obtenida en el ejemplo 1 se sometió a una prueba destinada a verificar sus propiedades antibacterianas con respecto a Propionibacterium acnes. La prueba se realizó en cumplimiento con las pautas del Ph. Eur. 7.0 para 3 formulaciones: placebo y formulaciones que contienen 0,5% y 1% de roxitromicina. En el caso de la formulación de placebo, no se observó inhibición del crecimiento de microbios. Por otro lado, en el caso de las otras dos formulaciones, se observó que la rata de crecimiento de Propionibacterium acnes se redujo en un 99,9%.

20

#### **Ejemplo 6**

La composición obtenida en el ejemplo 1 se sometió a una prueba destinada a establecer su citotoxicidad. La prueba se realizó en el modelo de epidermis humana, Epiderm, y comprendía 3 formulaciones: placebo y formulaciones que contenían 0,5% y 1% de roxitromicina. La supervivencia celular en la aplicación de la preparación de placebo fue ca. 82%, mientras que tras la aplicación de las formulaciones que contienen roxitromicina fue ca. 93%.

25

#### **Ejemplo 7**

La composición obtenida en el ejemplo 1 se sometió a una prueba destinada a visualizar la penetración de las partículas lipídicas con roxitromicina en los folículos pilosos en condiciones ex vivo. La formulación se produjo con una mezcla de un colorante fluorescente, específicamente, rodamina B hexil éster, y se usó una solución de aceite del mismo colorante como el control. La prueba se realizó en muestras ex vivo de cuero cabelludo humano y piel del torso. La aplicación de la preparación sobre la piel fue asistida por un masajeador. Tras la incubación, se tomaron secciones verticales y horizontales de las muestras de piel congeladas y se examinaron en el lugar bajo un microscopio fluorescente.

30

Las imágenes obtenidas evidenciaron que la formulación de partículas aplicada se acumula alrededor de los folículos pilosos (fluorescencia visible profundamente en el folículo y hasta el bulbo piloso). Las fotografías de las secciones transversales de la piel revelan fluorescencia a una profundidad de más de 1 mm. Tras la aplicación de la solución pigmentada, se observa una fluorescencia muy fuerte en la superficie de la piel, mientras que no hay rastro de fluorescencia en el canal del cabello. Esto demuestra que la aplicación asistida por masaje del portador en partículas es capaz de administrar el fármaco profundamente en el folículo piloso y, sobre todo, puede hacerlo de manera selectiva.

40

El fragmento de piel del torso también se sometió al procedimiento de desprendimiento diferencial. Primero, la muestra se desprende con cinta para eliminar 10 fracciones del estrato córneo. Luego se aplicó una gota de pegamento de cianoacrilato y se cubrió con el portaobjetos. Una vez que el pegamento se polimerizó, el portaobjetos se desprendió junto con el contenido folicular así eliminado y luego se examinó bajo el microscopio fluorescente. Las biopsias que mostraban el tallo del cabello extraído junto con el contenido folicular resultaron fluorescentes, también en la superficie del cabello. Esto evidenció la trayectoria de penetración del portador en partículas en los folículos y demostró que la formulación penetró profundamente en el canal del cabello.

45

#### **Ejemplo 8**

La composición obtenida en el ejemplo 1 se sometió a una prueba destinada a verificar la penetración folicular de las partículas lipídicas con roxitromicina en las condiciones in vivo y evaluar la escala del proceso.

50

5 La prueba se realizó in vivo en fragmentos de piel en las áreas del antebrazo y la espinilla. La piel de los sitios se lavó, se secó y se cortó el cabello con unas tijeras. Se aislaron 6 fragmentos, de 5 cm<sup>2</sup> cada uno, en cada una de las áreas indicadas anteriormente. Sus bordes estaban contorneados y resguardados con cinta. Se aplicaron 100 µl de la composición definida en el ejemplo 1 a cada una de las áreas de 5 cm<sup>2</sup>, luego se masajé durante 5 minutos usando el masajeador de átomos (HoMedicsGroup, Tonbridge, Reino Unido). Transcurridos 30 minutos o 12 horas, el estrato córneo se desprendió con cinta (para eliminar la composición presente en la superficie de la piel) y luego la piel se sometió a desprendimiento diferencial.

10 Se aplicó pegamento cianoacrílico en 4 gotas por cada una de las áreas de 5 cm<sup>2</sup>. Las biopsias cianoacrílicas obtenidas que contenían contenido folicular se examinaron adicionalmente para identificar la cantidad de roxitromicina. Cada biopsia (5 cm<sup>2</sup>) se extrajo con 5 ml de metanol, que luego se sometió a ensayo bajo la técnica de cromatografía líquida de alto rendimiento combinada con espectrometría de masas (HPLC-MS).

Los resultados obtenidos se presentan en la siguiente tabla:

Sitio de biopsia	Tiempo de penetración de la formulación (tiempo entre el masaje y el desprendimiento diferencial)	Promedio del contenido de roxitromicina en la biopsia (n=3) [µg]	Promedio de contenido de roxitromicina por 1 cm <sup>2</sup> [µg/cm <sup>2</sup> ]
antebrazo	30 min	15,2	3,0
antebrazo	12 h	23,7	4,7
espinilla	30 min	19,3	3,9
espinilla	12 h	2,4	0,5

#### Ejemplo 9 (no la invención)

15 Composiciones alternativas compuestas por los siguientes componentes (proporciones % p/p):

a)

Aceite de palma hidrogenado (Softisan 154)	5,0%
Poloxámero 188	2,5%
Roxitromicina	1,0%
Fenoxietanol	1,0%
Agua	90,5%

b)

Behenato de glicerilo	5-0%
Diesterato de poligliceril-3-metilglucosa (Tego Care 450)	2,5%
Roxitromicina	1,0%
Agua	91,5%

c)

Aceite de palma hidrogenado (Softisan 154)	5,0%
Poloxámero 188	2,5%
Roxitromicina	1,0%
Agua	91,5%

Referencias:

- 5 1. Akamatsu H, Tomita T, Horio T. Effects of roxithromycin on the production of lipase and neutrophil chemotactic factor by *Propionibacterium acnes*. *Dermatology* 2002; 204: 277-280
2. Downie MMT, Guy R, Kealey T. Advances in sebaceous gland research potential: New approaches to acne management. *Int J Cosmetic Sci* 2004; 26: 291-311
3. Hordinsky M. Advances in hair diseases. *Adv Dermatol* 2008; 24: 245-259
- 10 4. Ito T, Fukamizu H, Ito N, Seo N, Yagi H, Takigawa M, Hashizume H. Roxithromycin antagonizes catagen induction in murine and human hair follicles: implication of topical roxithromycin as hair restoration reagent. *Arch Dermatol Res* 2009; 301: 347-355
5. Knorr F, Lademann J, Patzelt A, Sterry W, Blume-Peytavi U, Vogt A. Follicular transport route - research progress and future perspectives. *Eur J Pharm Biopharm* 2009; 71: 173-180
- 15 6. Kobayashi M, Kabashima K, Nakamura M, Tokura Y. Effects of oral antibiotic roxithromycin on quality of life in acne patients. *J Dermatol Sci* 2009; 36: 383-391
7. Krause K, Foitzik K. Biology of the hair follicle: The basics. *Semin Cutan Med Surg* 2006; 25: 2-10
8. Lademann J, Richter H, Schaefer UF, Blume-Peytavi U, Teichmann A, Otberg N. Hair follicles - a long-term reservoir for drug delivery. *Skin Pharmacol Physiol* 2006; 19: 232-236
- 20 9. Munster U, Nakamura C, Haberland A, Jores K, Mehnert W, Rummel S, Schaller M, Korting HC, Zouboulis CC, Blume-Peytavi U, Schafer-Korting M. RU 58841-myristate - prodrug development for topical treatment of acne and androgenetic alopecia. *Pharmazie* 2005; 60: 8-12
10. Otberg N, Richter H, Schaefer H, Blume-Peytavi U, Sterry W, Lademann J. Variations of hair follicle size and distribution in different body sites. *J Invest Dermatol* 2004; 122: 14-19
- 25 11. Takahashi H, Suzuki Y, Miyauchi Y, Hashimoto Y, Ishida-Yamamoto A, Iizuka H. Roxithromycin decreases ultraviolet B irradiation-induced reactive oxygen intermediates production and apoptosis of keratinocytes. *J Dermatol Sci* 2004; 34: 25-33
12. Teichmann A, Jacobi U, Ossadnik M, Richter H, Koch S, Sterry W, Lademann J. Differential stripping: determination of the amount of topically applied substances penetrated into the hair follicles, *J Invest Dermatol* 2005; 125: 264-269
13. Thiboutot D. Regulation of human sebaceous glands. *J Invest Dermatol* 2004; 123: 1-12
- 30 14. Trauer S, Lademann J, Knorr F, Richter H, Liebsch M, Rozycki C, Balizs G, Buttermeyer R, Linscheid M, Patzelt. Development of an in vitro modified skin absorption test for the investigation of the follicular penetration pathway of caffeine. *Skin Pharmacol Physiol* 2010; 23: 320-327
15. Wang KC, Zane LT. Recent advances in acne vulgaris research: Insights and clinical implications. *Adv Dermatol* 2008; 24: 197-209
- 35 16. Wei Lu G, Valiveti S, Spence J, Zhuang C, Robosky L, Wade K, Love A, Hu L, Pole D, Mollan M. Comparison of artificial sebum with human and hamster sebum samples. *Int J Pharm* 2009; 367: 37-43
17. Wosicka H, Cal K. Targeting to the hair follicles: Current status and potential. *J Dermatol Sci* 2010; 57: 83-89

**REIVINDICACIONES**

1. Composición farmacéutica que contiene roxitromicina, caracterizada porque está compuesta de la siguiente manera:
- a. lípidos sólidos al 1,0-40,0%: mono-, di- y tri-behenato de glicerilo;
  - b. roxitromicina al 0,1-10,0%
- 5 c. tensioactivos al 1,0-10,0%: poloxámero 188
- y
- d. opcional 0-20,0% de conservantes, y
  - e. complementando con agua para hacer el 100%.
- 10 2. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque contiene una fase lipídica y está compuesta de la siguiente manera:
- a. behenato de glicerilo al 5,0%
  - b. roxitromicina al 1,0%
  - c. poloxámero 188 al 2,5%
- y
- 15 d. agua al 91,5%
3. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque contiene una fase lipídica y está compuesta de la siguiente manera:
- a. behenato de glicerilo al 5,0%
  - b. roxitromicina al 0,5%
- 20 c. poloxámero 188 al 2,5%
- y
- d. agua al 92,0%
4. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque los conservantes se seleccionan del grupo que incluye fenoxietanol o derivados de glicerina.
- 25 5. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 4, caracterizada porque preferiblemente el contenido de conservantes es en la proporción en peso de: 0-2,0% para fenoxietanol y/o 0-20,0% para pentileno o butilenglicol, o derivados de glicerina.
6. La composición farmacéutica de acuerdo con las reivindicaciones 1-5, caracterizada porque contiene una fase lipídica en forma de microesferas lipídicas en la proporción en peso de 1,0-40,0%, preferiblemente en la proporción en peso de 5,0-20,0%.
- 30 7. La composición farmacéutica de acuerdo con las reivindicaciones 1-6, caracterizada porque contiene una fase lipídica en forma de microesferas lipídicas con un diámetro de 0,1 a 1,0  $\mu\text{m}$ , preferiblemente de 0,1 a 0,5  $\mu\text{m}$ .
8. Una composición farmacéutica de acuerdo con las reivindicaciones 1-7 para uso en el tratamiento de la pérdida de cabello androgénica y/o el acné común, en la que la composición farmacéutica está en cualquier forma que incluye lociones, fluidos, emulsiones de aceite en agua, cremas, geles, champús, bálsamos, acondicionadores, jabones, ungüentos, pastas, suspensiones y soluciones.
- 35 9. El producto medicinal caracterizado porque contiene la composición definida en cualquiera de las reivindicaciones 1-3 en la proporción en peso de 1,0-100%.
10. El producto medicinal de acuerdo con la reivindicación 9, caracterizado porque se selecciona del grupo que incluye lociones, fluidos, emulsiones de aceite en agua, cremas, geles, champús, bálsamos, acondicionadores, jabones, ungüentos, pastas, suspensiones y soluciones.
- 40 11. El producto medicinal de acuerdo con la reivindicación 10, caracterizado porque se selecciona del grupo que incluye crema, champú, suspensión y loción.

12. El método de preparación de la composición farmacéutica de acuerdo con las reivindicaciones 1-3, caracterizado porque comprende las siguientes etapas:

a) la fase acuosa y los componentes de la fase lipídica se calientan por separado a la temperatura de 75-85 °C.

b) ambas fases se combinan y homogeneizan, y

5 c) la microemulsión obtenida se enfría a temperatura ambiente,

d) después del enfriamiento, se agregan conservantes.

13. El método de acuerdo con la reivindicación 12, caracterizado porque la homogeneización en la etapa b) se realiza aplicando cualquier técnica seleccionada del grupo que incluye homogeneización a alta velocidad/alta cizalla, homogeneización por ultrasonido y/u homogeneización a alta presión.

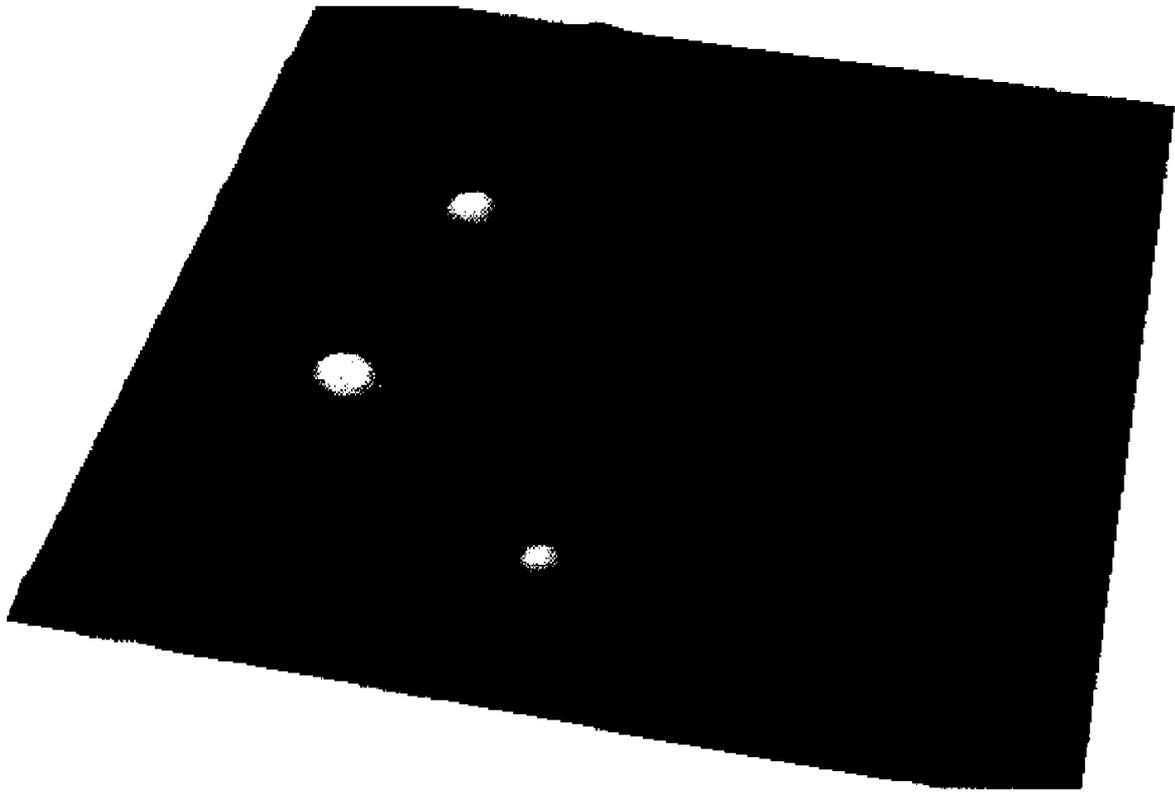


Fig.1



Fig.2

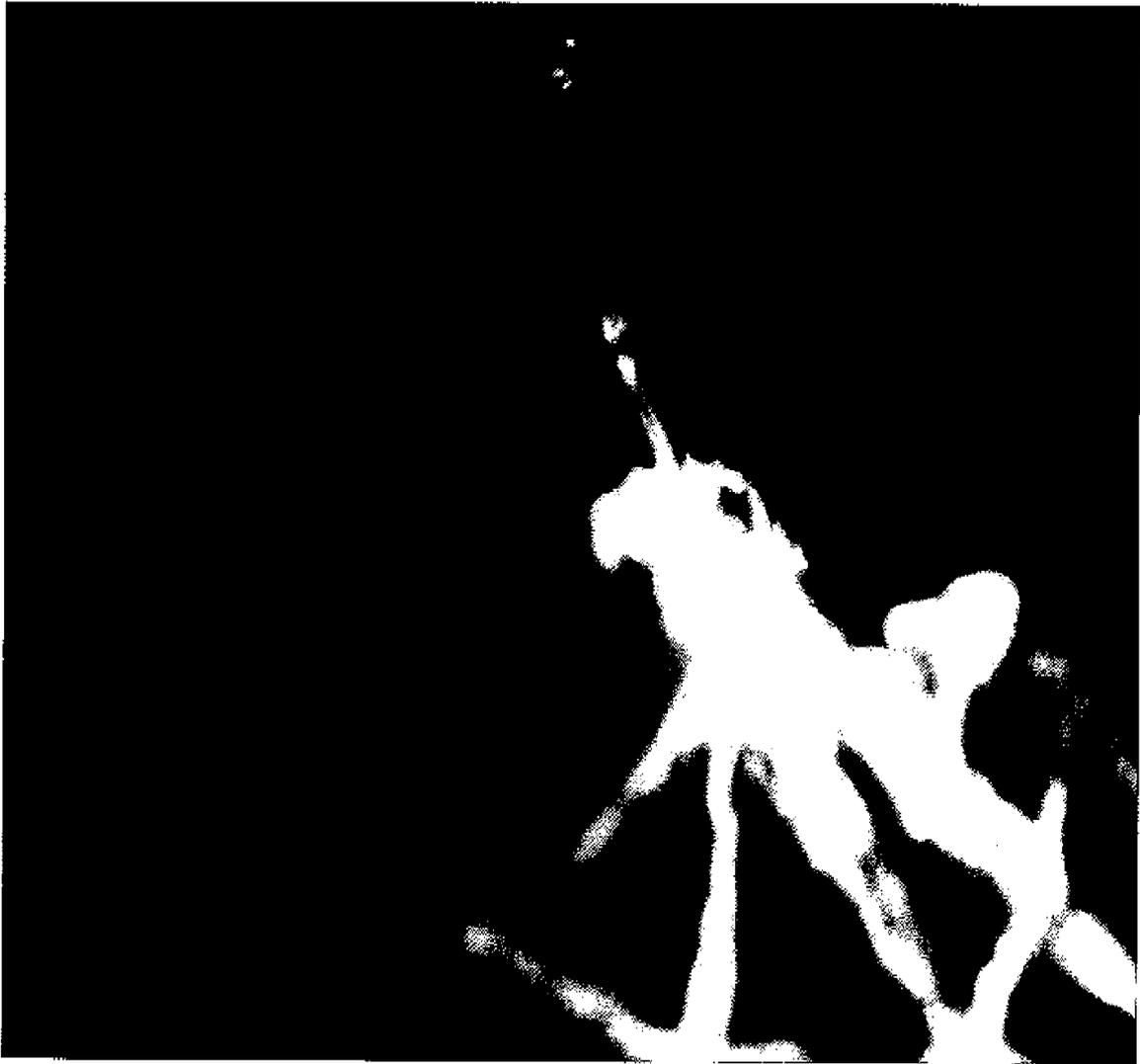


Fig.3