



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 300 399**

51 Int. Cl.:

A61K 9/127 (2006.01)

A61K 9/50 (2006.01)

A61K 31/20 (2006.01)

A61K 31/23 (2006.01)

A61K 31/192 (2006.01)

A61K 31/222 (2006.01)

A61K 31/704 (2006.01)

A61K 36/00 (2006.01)

A61P 17/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **02009717 .6**

86 Fecha de presentación : **30.04.2002**

87 Número de publicación de la solicitud: **1358872**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **05.11.2003**

54

Título: **Empleo de mezclas de principios activos con ácido acelaico y ácido glicirrético como agentes anti-acné.**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.06.2008

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.06.2008

73

Titular/es: **Cognis IP Management GmbH**
Henkelstrasse 67
40589 Düsseldorf, DE

72

Inventor/es: **Arias, Carmen;**
Rull Prous, Santiago y
Fabry, Bernd

74

Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

ES 2 300 399 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

Empleo de mezclas de principios activos con ácido acelaico y ácido glicirrético como agentes anti-acné.

5 Ámbito de la invención

La presente invención se sitúa en el ámbito de los extractos botánicos y se relaciona con el empleo de una mezcla de principios activos como agentes anti-acné, conteniendo ácido acelaico y sus derivados junto con los principios activos de la *Glycyrrhiza glabra*, microcápsulas y pro-liposomas, que contengan estas mezclas, así como procedimientos para su elaboración.

Estado actual de la técnica

Bajo el término acné conoce el experto una enfermedad de la piel, que se caracteriza por nódulos inflamatorios y no inflamatorios y que puede conducir a la formación de pústulas, abscesos y, finalmente, cicatrices. A pesar de que las causas sean diferentes, el acné puede atribuirse al fin y al cabo a folículos capilares obstruidos (comedones). Además de una obstrucción condicionada hormonalmente de los orificios de los folículos capilares por parte de las grasas corporales, una causa importante para la formación del acné consiste en el desarrollo de ácidos grasos libres hostotóxicos y enzimas por parte de las bacterias, como por ejemplo, *Propionibacterium acnes*.

Gracias al estado actual de la técnica se conoce una serie completa de principios activos, que se pueden emplear para el tratamiento del acné con más o menos éxito pueden emplearse. Así, por ejemplo, gracias a la patente europea EP 0288342 B1 (BFB) se conocen preparaciones tópicas para combatir la α -5-reductasa, que contienen del 1 al 20% en peso de ácido acelaico, del 0,1 al 5% en peso de sales solubles de zinc (se citan sulfato de zinc y gluconato de zinc) y del 0,1 al 5% en peso de vitamina B6 y se emplean para el tratamiento del acné. Son objeto de la patente europea EP 0661036 B1 (L'Oréal) los agentes anti-acné en forma de vesículas lipídicas, que contengan ácido acelaico como principio activo. Finalmente, en el documento español de patente ES 9702410 B1 (Vinyals) se propone el empleo de la sal de zinc del ácido glicirrético contra el acné. Ninguna de estas sustancias muestra, sin embargo, tomada individualmente, un efecto satisfactorio contra los gérmenes, involucrados decisivamente en la formación del acné, especialmente del Acne vulgaris.

El objetivo de la presente invención ha consistido, por tanto, en proporcionar nuevas combinaciones de principios activos, que presenten, por un lado, un efecto mejorado contra las bacterias involucradas en la aparición del acné y ayudan además al proceso de curación preferentemente mediante propiedades antiinflamatorias.

Descripción de la invención

Es objeto de la presente invención el empleo de una mezcla de principios activos, conteniendo

(a) ácido acelaico o su sal de zinc y

(b) sal de zinc del ácido glicirrético

para la elaboración de un medicamento para el tratamiento del acné.

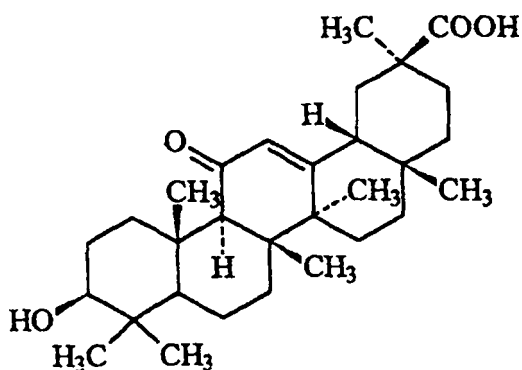
Se ha descubierto sorprendentemente, que los ácidos acelaico y glicirrético, así como sus derivados, conocidos, en cada caso, como principios activos para el tratamiento del acné, muestran una potenciación sinérgica. Se ha mostrado especialmente eficiente, incluir los principios activos en microcápsulas o pro-liposomas, de los que se pueden liberar selectivamente. Además, las microcápsulas a base de chitosán se han mostrado de nuevo especialmente favorables, ya que estos mismos biopolímeros catiónicos tienen un efecto antiinflamatorio y ayudan con él al proceso de curación.

Ácido Acelaico y su Sal de Zinc

El ácido acelaico (componente a) representa un ácido dicarboxílico saturado con 9 átomos de carbono, elaborado industrialmente, por ejemplo, mediante ozonólisis. En el sentido de la invención, sin embargo, no sólo es posible que se emplee el ácido puro, alternativamente o en mezcla combinada se emplea también la sal de zinc del ácido acelaico. Por consiguiente, se utiliza ácido acelaico o su sal de zinc como componente (a).

Ácido Glicirrético y su Sal de Zinc

El ácido glicirrético (componente b, ver Figura) y sus derivados se encuentran como componentes en los extractos de *Glycyrrhiza glabra* y son responsables del sabor a regaliz.



La sal de zinc del ácido glicirrético entra en consideración en el sentido de la invención.

Los componentes (a), (b) y si fuera necesario, (c) se pueden encontrar en las microcápsulas en concentraciones conjuntas del 1 al 30% en peso - relativas al peso de la cápsula - .

Agentes Anti-Acné

Las preparaciones finales pueden contener los componentes (a) y (b) en la razón en peso 90 : 10 a 10 : 90, estableciéndose considerables sinergias en el rango de 75 : 25 a 25 : 75 y, particularmente, de 60 : 40 a 40 : 60. La preparación a emplear conforme a la invención puede contener otras sustancias efectivas contra el acné o antiinflamatorias como componentes adicionales, como por ejemplo, extractos vegetales o vitamina B6. Ejemplos típicos de extractos vegetales apropiados son los principios activos de las siguientes plantas: *Aesculus hippocastanum* (castaña de indias), *Argania spinosa*, *Baptista tinctoria* (índigo salvaje), *Centella asiatica*, *Camelia sinensis* (té verde), *Chamodernolla recutita* (camomila), *Ginkgo biloba* (ginkgo), *Oleo europea* (aceituna), *Litchi chinensis* (litchi), *Melissa officinalis* (melisa), *Panax ginseng* (ginseng), *Passiflora incarnata* (flor de la pasión), *Prunus dulcis* (almendra dulce), *Pterocarpus marsupium*, *Ruscus aculeatus*, *Trifolium pratense* (trébol rojo), *Uva ursi* (uva de oso), *Vaccinium myrtillus* (arándanos), *Vigna acontifolia*, y *Vitis vinifera* (viña salvaje).

En un modo de ejecución preferente de la invención, se emplean aquellas preparaciones, que contengan - relativo a los principios activos-

- (a) del 10 al 90, preferentemente del 20 al 80% en peso de ácido acelaico y/o su sal de zinc
- (b) del 10 al 90, preferentemente del 20 al 80% en peso de sal de zinc del ácido glicirrético, y
- (c) del 0 al 20, preferentemente del 5 al 10% en peso de extractos vegetales y/o vitamina B6

con la condición de, que las concentraciones se sumen hasta el 100% en peso.

Microcápsulas y Pro-liposomas

Los expertos entienden bajo el término "microcápsulas" aquellos agregados esféricos con un diámetro en el rango de aprox. 0,0001 a aprox. 5 mm, que contienen al menos un núcleo sólido o líquido, recubierto por al menos un recubrimiento continuo. Para ser exactos se trata de fases finamente dispersas, líquidas o sólidas, recubiertas de polímeros filmógenos, en cuya elaboración precipitan los polímeros sobre el material a recubrir tras la emulsificación y coacervación o la polimerización de la superficie límite. En otro procedimiento se introducen ceras fundidas en una matriz ("microesponja"), que puede estar recubierta adicionalmente por polímeros filmógenos como micropartículas. Las cápsulas microscópicamente pequeñas, también denominadas nanocápsulas, se pueden secar como polvo. Además de las microcápsulas mononucleadas se conocen también los agregados multinucleados, también denominados microesferas, que contienen dos o más núcleos distribuidos en el material de recubrimiento continuo. Las microcápsulas uni- o multinucleadas se pueden recubrir además con un segundo, tercer, etc. recubrimiento adicional(es). El recubrimiento puede consistir en materiales naturales, semisintéticos o sintéticos. Son materiales naturales de recubrimiento, por ejemplo, la goma arábiga, agar-agar, agarosa, maltodextrina, ácido algínico o sus sales, por ejemplo el alginato sódico o cálcico; grasas y ácidos grasos, alcohol cetílico, colágeno, chitosán, lecitina, gelatina, albúmina, goma laca, polisacáridos como el almidón o dextrán, polipéptidos, proteínas hidrolizadas, sucrosa y ceras. Materiales semisintéticos de recubrimiento son, entre otros, las celulosas químicamente modificadas, especialmente los ésteres y éteres de celulosa, por ejemplo: acetato de celulosa, etilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa y carboximetilcelulosa; así como los derivados del almidón, especialmente los éteres y ésteres de almidón. Materiales sintéticos de recubrimiento son, por ejemplo, los polímeros como los poliacrilatos, poliamidas, polivinilalcohol o polivinilpirrolidona.

ES 2 300 399 T3

Son ejemplos de microcápsulas del estado de la técnica los siguientes productos comerciales (entre paréntesis se da en cada caso el material de recubrimiento): *Hallcrest Microcapsules* (gelatina, goma arábiga), *Coletica Thalasphe-*
5 *res* (colágeno marino), *Lipotec Millicapseln* (ácido algínico, agar-agar), *Induchem Unispheres* (lactosa, celulosa microcristalina, hidroxipropilmetilcelulosa); *Unicerin C30* (lactosa, celulosa microcristalina, hidroxipropilmetilcelu-
10 *losa*), *Kobo Glycospheres* (almidón modificado, éster de ácido graso, fosfolípido), *Softspheres* (agar-agar modificado) y *Kuhs Probiol Nanospheres* (fosfolípido), así como *Primaspheres* y *Primasponges* (chitosán, alginato) y *Primasys* (fosfolípido).

Las cápsulas de chitosán y los procedimientos para su elaboración son objeto de anteriores solicitudes de patentes del solicitante [WO 01/01926, WO 01/01927, WO 01/01928, WO 01/01929].

Otro objeto de la invención se relaciona con microcápsulas con diámetros medios del orden de 0,0001 a 5 mm, preferentemente de 0,001 a 0,5 y, particularmente, de 0,005 a 0,1 mm, consistentes en una membrana de recubrimiento y una matriz conteniendo los principios activos, obtenibles

- 15 (a1) preparando una matriz a partir de los gelificantes, chitosanes y principios activos,
- (a2) dispersando, si fuera necesario, la matriz en una fase oleica,
- 20 (a3) tratando la matriz opcionalmente dispersa con disoluciones acuosas de polímeros aniónicos y extrayendo además, si fuera necesario, la fase oleica;

o

- 25 (b1) preparando una matriz a partir de los gelificantes, polímeros aniónicos y principios activos,
- (b2) dispersando, si fuera necesario, la matriz en una fase oleica,
- (b3) tratando la matriz opcionalmente dispersa con disoluciones acuosas de chitosán y extrayendo además, si fuera necesario, la fase oleica;
- 30

o

- 35 (c1) procesando las preparaciones acuosas de principios activos con componentes oleicos en presencia de emulgentes para formar emulsiones O/W (aceite/agua),
- (c2) tratando las emulsiones así obtenidas con disoluciones acuosas de polímeros aniónicos,
- (c3) poniendo en contacto la matriz así obtenida con disoluciones acuosas de chitosán y
- 40 (c4) extrayendo los productos de encapsulado así obtenidos de la fase acuosa.

Se requiere además un procedimiento para la elaboración de microcápsulas con diámetros medios del orden de 0,0001 a 5 mm, preferentemente de 0,001 a 0,5 y, particularmente, de 0,005 a 0,1 mm, compuestas por una membrana de recubrimiento y una matriz conteniendo los principios activos, en las que

- (a1) se prepara una matriz de gelificantes, chitosanes y principios activos,
- (a2) se dispersa, si fuera necesario, la matriz en una fase oleica,
- 50 (a3) se trata la matriz opcionalmente dispersa con disoluciones acuosas de polímeros aniónicos y se extrae además, si fuera necesario, la fase oleica;

o

- 55 (b1) se prepara una matriz de gelificantes, polímeros aniónicos y principios activos,
- (b2) se dispersa, si fuera necesario, la matriz en una fase oleica,
- 60 (b3) se trata la matriz opcionalmente dispersa con disoluciones acuosas de chitosán y se extrae además, si fuera necesario, la fase oleica;

o

- 65 (c1) se procesan preparaciones acuosas de principios activos con componentes oleicos en presencia de emulgentes para formar emulsiones O/W,
- (c2) se tratan las emulsiones así obtenidas con disoluciones acuosas de polímeros aniónicos,

ES 2 300 399 T3

(c3) se pone la matriz así obtenida en contacto con disoluciones acuosas de chitosán y

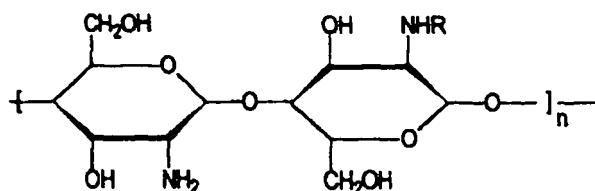
(c4) se extraen los productos de encapsulado así obtenidos de la fase acuosa.

5 *Gelificante*

En el sentido de la invención entran en consideración como gelificante preferentemente aquellas sustancias, que muestran la propiedad de formar geles en disolución acuosa a temperaturas superiores a los 40°C. Ejemplos típicos de éstos son los heteropolisacáridos y proteínas. Como heteropolisacáridos termogelificantes se emplean preferentemente las azarasas, que pueden encontrarse también, en forma de agar-agar a extraer de las algas rojas, junto a hasta un 30% en peso de agarpectinas no gelificantes. El componente principal de las agarosas son polisacáridos lineales de D-galactosa y 3,6-anhidro-L-galactosa, con enlaces glicosídicos β -1,3- y β -1,4 alternantes. Los heteropolisacáridos poseen preferentemente un peso molecular del orden de 110.000 bis 160.000 y son tanto incoloros como inodoros. Como alternativa, se emplean pectinas, xantanos (también goma xantán), así como sus mezclas. Se prefieren además aquellos tipos, que forman geles incluso en una disolución acuosa al 1% en peso, que no funden por debajo de 80°C y se resolidifican de nuevo por encima de 40°C. Del grupo de las proteínas termogelificantes se citan ejemplarmente los diferentes tipos de gelatinas.

20 *Chitosanes*

Los chitosanes representan biopolímeros y se cuentan entre el grupo de los hidrocoloides. Desde un punto de vista químico se trata de quitinas parcialmente desacetiladas de diferentes pesos moleculares, con la siguiente configuración monomérica -ideal-:



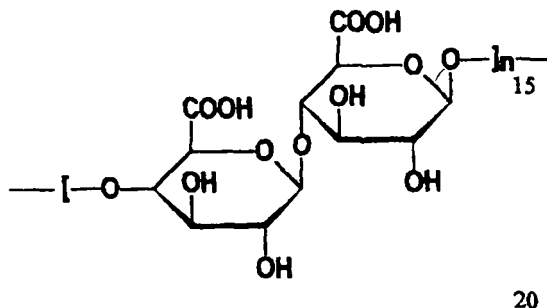
En contraste con la mayoría de los hidrocoloides, cargados negativamente del orden del valor biológico del pH, los chitosanes constituyen biopolímeros catiónicos en estas condiciones. Los chitosanes cargados positivamente pueden interactuar con superficies cargadas opuestamente y se emplean, por tanto, en productos cosméticos de cuidado del cabello y del cuerpo, así como en preparaciones farmacéuticas. Para la elaboración de los chitosanes se parte de la quitina, preferentemente de restos de conchas de crustáceos, disponibles en grandes cantidades como materias primas económicas. La quitina pasa por un procedimiento, descrito por primera vez por Hackmann *et al.*, en el que primero se desproteiniza convencionalmente mediante la adición de bases, se desmineraliza mediante la adición de ácidos minerales y, finalmente, se desacetila mediante la adición de bases fuertes, pudiéndose distribuir los pesos moleculares en un amplio espectro. Se emplean preferentemente aquellos tipos, como los que presentan un peso molecular medio de 10.000 a 500.000 y/o de 800.000 a 1.200.000 Dalton y/o poseen una viscosidad Brookfield (ácido glicólico al 1% en peso) inferior a 5000 mPas, un grado de desacetilización del orden del 80 al 88% y un contenido en cenizas de menos del 0,3% en peso. Por motivos de mejora de la hidrosolubilidad, los chitosanes se emplean generalmente en forma de sus sales, preferentemente como glicolatos.

50 *Fase Oleica*

La matriz puede dispersarse opcionalmente en una fase oleica antes de la formación de la membrana. Para este propósito entran en consideración como aceites, por ejemplo, los alcoholes de Guerbet a base de alcoholes grasos con de 6 a 18, preferentemente de 8 a 10 átomos de carbono, ésteres de ácidos grasos C₆-C₂₂ lineales con alcoholes grasos C₆-C₂₂ lineales, ésteres de ácidos carboxílicos C₆-C₁₃ ramificados con alcoholes grasos C₆-C₂₂ lineales, como por ejemplo: miristil-, cetil-, estearil-, isoestearil-, oleil-, behenil- y erucilmiristato, -palmitato, -estearato, -isostearato, -oleato, -behenato, -erucato. Junto a ellos se emplean los ésteres de ácidos grasos C₆-C₂₂ lineales con alcoholes ramificados, especialmente 2-etilhexanol; ésteres de ácidos hidroxicarboxílicos con alcoholes grasos C₆-C₂₂ lineales o ramificados, particularmente el dioctil malato; ésteres de ácidos grasos lineales y/o ramificados con alcoholes polivalentes (como por ejemplo, propilenglicol, dimerdiol o trimetriol) y/o alcoholes de Guerbet, triglicéridos a base de ácidos grasos C₆-C₁₀, mezclas líquidas de mono-/di-/triglicéridos a base de ácidos grasos C₆-C₁₈; ésteres de alcoholes grasos C₆-C₂₂ y/o alcoholes de Guerbet con ácidos carboxílicos aromáticos, particularmente el ácido bencénico; ésteres de ácidos dicarboxílicos C₂-C₁₂ con alcoholes lineales o ramificados con de 1 a 22 átomos de carbono o polioles con de 2 a 10 átomos de carbono y de 2 a 6 grupos hidroxílicos, aceites vegetales, alcoholes primarios ramificados, ciclohexanos sustituidos, carbonatos de alcoholes grasos C₆-C₂₂ lineales y ramificados, carbonatos de Guerbet, ésteres del ácido bencénico con alcoholes C₆-C₂₂ lineales y/o ramificados (por ejemplo, Finsolv[®] TN), dialquiléteres lineales o ramificados, simétricos o asimétricos, con de 6 a 22 átomos de carbono por grupo alquílico, productos de anillo abierto de ésteres epoxidados de ácidos grasos con polioles, aceites de silicona y/o hidrocarburos alifáticos y/o naftalénicos, como por ejemplo: esqualano, esqualeno o dialquilociclohexano.

Polímeros Aniónicos

Los polímeros aniónicos tienen el objetivo de formar membranas con los quitosanes. Con este fin se emplean preferentemente las sales del ácido algínico. En el caso del ácido algínico se trata de una mezcla de polisacáridos
5 conteniendo grupos carboxílicos, con la siguiente configuración monomérica ideal:



El peso molecular medio de los ácidos algínicos y/o de los alginatos se encuentra en el rango de 150.000 a 250.000. Se entiende además por sales del ácido algínico sus productos de neutralización tanto total como parcial, especialmente las sales de metales alcalinos y, entre estas, preferentemente el alginato sódico (“algin”), así como las sales de amonio y de metales alcalino-térreos. Se prefieren especialmente los alginatos mixtos, como por ejemplo, los alginatos de sodio/magnesio o sodio/calcio. En un modo de ejecución alternativo de la invención, se emplean también para este propósito derivados aniónicos del quitosán, como por ejemplo, los productos de la carboxilación y, especialmente, los de succinilación. Alternativamente se emplean también poli(met)acrilatos con pesos moleculares medios del orden de 5.000 a 50.000 Dalton, así como las diversas carboximetilcelulosas. Para la construcción de la membrana de recubrimiento se pueden utilizar, en vez de los polímeros aniónicos, también tensoactivos aniónicos o sales inorgánicas de bajo peso molecular, como por ejemplo, los pirofosfatos.
30

Emulgentes

Como emulgentes se utilizan, por ejemplo, los tensoactivos no iogénicos con al menos uno de los siguientes grupos:

- Productos de la adición de 2 a 30 moles de óxido de etileno y/o de 0 a 5 moles de óxido de propileno a alcoholes grasos lineales con de 8 a 22 átomos de carbono, a ácidos grasos con de 12 a 22 átomos de carbono, a alquilfenoles con de 8 a 15 átomos de carbono en el grupo alquilo, así como alquilaminas con de 8 a 22 átomos de carbono en el radical alquilo;
- Alquil- y/o alquenciloliglicósidos con de 8 a 22 átomos de carbono en el grupo alqu(en)ilo y sus análogos etoxilados;
- Productos de la adición de 1 a 15 moles de óxido de etileno a aceite de ricino y/o aceite de ricino hidrogenado;
- Productos de la adición de 15 a 60 moles de óxido de etileno a aceite de ricino y/o aceite de ricino hidrogenado;
- Ésteres parciales de glicerina y/o sorbitán con ácidos grasos ramificados insaturados, lineales o saturados, con de 12 a 22 átomos de carbono y/o ácidos hidroxicarboxílicos con de 3 a 18 átomos de carbono, así como sus aductos con de 1 a 30 moles de óxido de etileno;
- Ésteres parciales de poliglicerol (grado de auto-condensación medio de 2 a 8), polietilenglicol (peso molecular entre 400 y 5000), trimetilolpropano, pentaeritrita, alcoholes de azúcar (por ejemplo sorbitol), alquilglucósidos (por ejemplo metilglucósido, butilglucósido, laurilglucósido), así como poliglucósidos (por ejemplo celulosa) con ácidos grasos saturados y/o insaturados, lineales o ramificados con de 12 a 22 átomos de carbono y/o ácidos hidroxicarboxílicos con de 3 a 18 átomos de carbono, así como sus aductos con de 1 a 30 moles de óxido de etileno;
- Ésteres mixtos de pentaeritrita, ácidos grasos, ácido cítrico y alcohol graso y/o ésteres mixtos de ácidos grasos con de 6 a 22 átomos de carbono, metilglucosas y polioles, preferentemente glicerol o poliglicerol.
- Mono-, di- y trialquilfosfatos así como mono-, di- y/o tri-PEG-alquilfosfatos y sus sales;
- Alcoholes de cera de lana;
- Copolímeros polisiloxano-polialquil-poliéter y/o los correspondientes derivados;

ES 2 300 399 T3

- Copolímeros en bloque, como por ejemplo: polietilenglicol-30 dipolihidroxiestearato;
- Emulgentes poliméricos, por ejemplo, tipos de Pemulen (TR-1,TR-2) de Goodrich;
- 5 ➤ polialquilenglicoles, así como
- carbonato de glicerol.

➤ *Productos de la adición de óxido de etileno*

10 Los productos de la adición de óxido de etileno y/u óxido de propileno a alcoholes grasos, ácidos grasos, alquilfenoles o aceite de ricino son productos comerciales conocidos. Son además mezclas homólogas cuyo grado medio de alcoxilación corresponde a la razón entre las cantidades de óxido de etileno y/o óxido de propileno y sustrato, con las que se lleva a cabo la reacción de adición. Los mono- y diésteres de ácido graso C_{12/18} de los productos de la adición de óxido de etileno a glicerol se conocen como reengrasantes para preparaciones cosméticas.

➤ *Alquil- y/o Alqueniloligoglicósidos*

20 Los alquil- y/o alqueniloligoglicósidos, su elaboración y su empleo se conocen gracias al estado actual de la técnica. Su elaboración se lleva a cabo particularmente mediante la reacción de glucosa u oligosacáridos con alcoholes primarios con de 8 a 18 átomos de carbono. En lo que afecta a la unidad glicosídica, resultan apropiados los monoglicósidos en los que se combina una unidad de azúcar cíclica al alcohol graso mediante una unión glicosídica, así como los glicósidos oligoméricos con un grado de oligomerización preferente de hasta aproximadamente 8. El grado de oligomerización es además un valor estadístico medio en el que se basa la distribución homóloga típica de aquellos productos industriales corrientes.

➤ *Glicéridos Parciales*

30 Son ejemplos típicos de glicéridos parciales apropiados: mono- y diglicérido del ácido hidroxiesteárico, mono- y diglicérido del ácido isoesteárico, mono- y diglicérido del ácido oleico, mono- y diglicérido del ácido ricinoleico, mono- y diglicérido del ácido linoleico, mono- y diglicérido del ácido linoléico, mono- y diglicérido del ácido erúrico, mono- y diglicérido del ácido tartárico, mono- y diglicérido del ácido cítrico, mono- y diglicérido del ácido DL-málico así como sus mezclas industriales, que, dependiendo del proceso de elaboración, pueden contener aún pequeñas concentraciones de triglicérido. Resultan asimismo apropiados los productos de la adición de 1 a 30, preferentemente de 5 a 10 moles de óxido de etileno a los citados glicéridos parciales.

➤ *Ésteres de Sorbitán*

40 Como ésteres de sorbitán se emplean mono-, sesqui-, di- y triisoestearato de sorbitán; mono-, sesqui-, di- y trioleato de sorbitán, mono-, sesqui-, di- y trierucato de sorbitán, mono-, sesqui-, di- y tricinoleato de sorbitán, mono-, sesqui-, di- y trihidroxiestearato de sorbitán, mono-, sesqui-, di- y tritartrato de sorbitán, mono-, sesqui-, di- y tricitrato de sorbitán, mono-, sesqui-, di- y trimaleato de sorbitán así como sus mezclas industriales. Asimismo apropiados son los productos de la adición de 1 a 30, preferentemente de 5 a 10 moles de óxido de etileno a los ésteres de sorbitán citados.

➤ *Ésteres de Poliglicerol*

50 Ejemplos típicos de ésteres de poliglicerol son: poligliceril-2 dipolihidroxiestearato (Dehimuls® PGF), poligliceril-3-diisoestearato (Lameform® TGI), poligliceril-4-isoestearato (Isolan® GI 34), poligliceril-3 oleato, diisoestearato diisosteatoil poligliceril-3 (Isolan® PDI), metilglucosa diestearato de poligliceril-3 (Tego Care® 450), cera de abejas poligliceril-3 (Cera Bellina®), caprato poligliceril-4 (Caprato Poliglicerol T2010/90), éter cetílico poligliceril-3 (Chimexano® NL), diestearato poligliceril-3 (Cremofor® GS 32) y poliricinoleato poligliceril (Admul® WOL 1403), poligliceril dimerato isoestearato así como sus mezclas. Son ejemplos de otros ésteres de polioliol apropiados, los transformados, si fuera necesario, con de 1 a 30 moles de óxido de etileno mono-, di- y triésteres de trimetilolpropano o pentaeritrita con ácido láurico, ácido graso de coco, ácido graso de sebo, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido behénico y similares.

➤ *Emulgentes Aniónicos*

60 Son emulgentes aniónicos típicos los ácidos grasos alifáticos con de 12 a 22 átomos de carbono, como los ácidos palmítico, esteárico o behénico, así como los ácidos dicarboxílicos con de 12 a 22 átomos de carbono, como los ácidos azelaico o sebáico.

➤ *Emulgentes Anfóteros y Catiónicos*

65 Se pueden emplear además como emulgentes los tensoactivos anfóteros. Se denominan tensoactivos anfóteros aquellos compuestos de superficie activa, que contienen al menos un grupo amonio cuaternario y al menos un gru-

ES 2 300 399 T3

po carboxilato y uno sulfonato en la molécula. Son tensoactivos anfóteros especialmente apropiados las llamadas betaínas, como el N-alkil-N,N-dimetilamonioglicinato (por ejemplo el alquildimetilamonioglicinato de coco), N-acilaminopropil-N,N-dimetilamonioglicinato (por ejemplo el acilaminopropildimetilamonioglicinato de coco) y la 2-alkil-3-carboximetil-3-hidroxiethylimidazolina, en cada caso, con de 8 a 18 átomos de carbono en el grupo alquílico o acílico, así como el acilaminoethylhidroxietilcarboximetilglicinato de coco. Se prefiere especialmente el derivado amido de ácido graso conocido bajo la denominación CTFA *Cocamidopropil Betaina*. Son emulgentes asimismo apropiados los tensoactivos anfólicos. Se entiende por tensoactivos anfólicos aquellos compuestos de superficie activa que, además de un grupo alquílico o acílico C_{8/18} en la molécula, contienen al menos un grupo amino libre y al menos un grupo -COOH- o -SO₃H- y son capaces de formar sales internas. Son ejemplos de tensoactivos anfólicos apropiados: N-alkilglicinas, ácidos N-alkilpropiónicos, ácidos N-alkilaminobutíricos, ácidos N-alkiliminodipiónicos, N-hidroxiethyl-N-alkilamidopropilglicinas, N-alkiltaurinas, N-alkilsarcosinas, ácidos 2-alkilaminopiónicos y ácidos alkilaminoacéticos, en cada caso, con aproximadamente de 8 a 18 átomos de carbono en el grupo alkil. Son tensoactivos anfólicos especialmente preferentes el N-cocoalkilaminopropionato, el cocoalkilaminoethylaminopropionato y la C_{12/18}-acilsarcosina. Finalmente, entran también en consideración como emulgentes los tensoactivos catiónicos, prefiriéndose especialmente aquellos del tipo de los esterquats, preferentemente las sales de éster de trietanolamina de diácido graso metilcuaternario.

Procedimientos de Elaboración de Microcápsulas

Para la elaboración de las microcápsulas se produce convencionalmente una disolución acuosa del 1 al 10, preferentemente del 2 al 5% en peso de gelificante, preferentemente de agar-agar y se calienta con reflujo. Al calor de ebullición, preferentemente de 80 a 100°C, se añade una segunda disolución acuosa, conteniendo el chitosán en concentraciones del 0,1 al 2, preferentemente del 0,25 al 0,5% en peso; y los principios activos en concentraciones del 0,1 al 25 y especialmente del 0,25 al 10% en peso; esta mezcla se designa como matriz. La carga de las microcápsulas con principios activos puede ascender, por tanto, asimismo a del 0,1 al 25% en peso, relativo al peso de la cápsula. Cuando se desee, se pueden añadir también en ese momento componentes no hidrosolubles (como los pigmentos inorgánicos) para el ajuste de la viscosidad, añadiéndose estos generalmente en forma de dispersiones acuosas o acuosas/alcohólicas. Para la emulsificación y/o dispersión de los principios activos puede resultar además beneficioso, añadir emulgentes y/o disolventes a la matriz. Tras la elaboración de la matriz a partir de gelificante, chitosán y la mezcla de principios activos, se puede dispersar opcionalmente la matriz muy finamente en una fase oleica con fuerte cizallamiento, para preparar partículas lo más pequeñas posibles en el posterior encapsulado. Se ha mostrado además particularmente favorable, calentar la matriz a temperaturas en el rango de 40 a 60°C, mientras que la fase oleica se enfría a de 10 a 20°C. Para finalizar, se lleva a cabo ahora un paso de nuevo obligatorio después del propio encapsulado, es decir la formación de la membrana de recubrimiento mediante la puesta en contacto del chitosán de la matriz con los polímeros aniónicos. Para ello se recomienda tratar la matriz opcionalmente dispersa en la fase oleica, a una temperatura en el rango de 40 a 100, preferentemente de 50 a 60°C, con una disolución acuosa del polímero aniónico de aprox. el 1 al 50 y preferentemente del 10 al 15% en peso, y además - si fuera necesario - extraer simultánea o posteriormente la fase oleica. Las preparaciones acuosas resultantes presentan generalmente un contenido en microcápsulas en el rango del 1 al 10% en peso. En algunos casos puede resultar además ventajoso que la disolución de polímeros contenga constituyentes adicionales, por ejemplo, emulgentes o conservantes. Tras la filtración se obtienen microcápsulas, que presentan un diámetro medio en el rango de preferentemente aprox. 1 mm. Se aconseja tamizar las cápsulas, para garantizar una distribución lo más uniforme posible de los tamaños. Las microcápsulas así obtenidas pueden presentar, en el ámbito condicionado por la elaboración, cualquier forma, prefiriéndose sin embargo las aproximadamente esféricas. Alternativamente, se pueden usar también los polímeros aniónicos para la elaboración de la matriz y efectuar el encapsulado con los chitosanos.

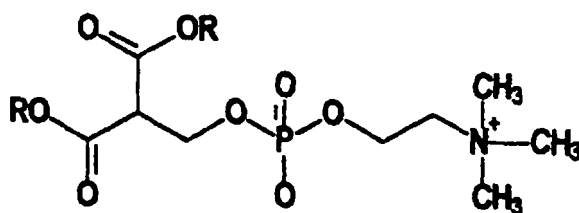
En un procedimiento alternativo para la elaboración de microcápsulas conformes a la invención se prepara primero una emulsión O/W que, además del componente oleico, agua y los principios activos, contiene una cantidad efectiva de emulgente. Para la elaboración de la matriz se mezcla esta preparación, con fuerte agitación, con una cantidad proporcional de una disolución acuosa de polímeros aniónicos. La formación de la membrana se lleva a cabo mediante la adición de la disolución de chitosán. El procedimiento global se verifica preferentemente en el rango ácido débil a pH = 3 a 4. Cuando sea necesario, se lleva a cabo el ajuste del pH mediante la adición de ácidos minerales. Tras la formación de la membrana, se eleva el valor del pH hasta 5-6, por ejemplo, mediante la adición de trietanolamina o de otra base. En esta ocasión se obtiene un aumento de la viscosidad, que podría fomentarse aún más mediante la adición de espesantes, como por ejemplo, polisacáridos, especialmente goma xantán, guar-guar, agar-agar, alginatos y tilosas, carboximetilcelulosa e hidroxietilcelulosa, mono- y diésteres de polietilenglicol de ácidos grasos de alto peso molecular, poliacrilatos, poliacrilamidas y similares. Por último, se separan las microcápsulas de la fase acuosa, por ejemplo, mediante decantación, filtración o centrifugado.

Pro-liposomas

En vez de las microcápsulas descritas, también se emplean pro-liposomas como soporte para las mezclas de principios activos. Para la aclaración del término se indica, que los pro-liposomas no contienen ningún agua y sólo la absorben después con formación de los liposomas genuinos, cuando se introducen en un entorno acuoso. Otro objeto de la invención se relaciona, por tanto, con mezclas pro-liposomiales de principios activos, presentando los componentes (a) y (b), y que se obtienen tratando las mezclas en disolventes cosméticamente aceptables con lecitinas y/o fosfolípidos.

ES 2 300 399 T3

Los expertos conocen por el término lecitina a aquellos glicero-fosfolípidos, formados mediante la esterificación de ácidos grasos, glicerina, ácido fosfórico y colina. Por tanto, las lecitinas se denominan también frecuentemente como fosfatidilcolina (FC) en el mundo científico.



En la Fórmula representada anteriormente se muestra esquemáticamente una lecitina, representando R típicamente radicales hidrocarburo alifáticos lineales con de 15 a 17 átomos de carbono y hasta 4 dobles enlaces cis-. Como ejemplos de lecitinas naturales, empleadas para el encapsulado, hay que mencionar las cefalinas, denominadas también ácidos fosfatídicos, y que representan derivados del ácido 1,2-diacil-sn-glicero-3-fosfórico. En contraste, se conocen normalmente por fosfolípidos los mono- y, preferentemente, diésteres del ácido fosfórico con glicerina (glicero-fosfonatos), que generalmente se cuentan entre las grasas. Además, se emplean también la esfingosina y/o los esfingolípidos para el encapsulado liposomal.

Procedimiento de Elaboración de Pro-liposomas

Los pro-liposomas se pueden obtener en el sentido de la invención, tratando posprincipios activos en disolventes cosmética y/o farmacéuticamente aceptables con lecitinas y/o fosfolípidos. Para ello, o bien se precargan los principios activos convencionalmente en un disolvente y se ponen en contacto con las lecitinas y/o fosfolípidos a temperaturas en el rango de 30 a 70°C o, por el contrario, se mezclan las mezclas anhidras con agitación en una disolución de las lecitinas y/o fosfolípidos. Los principios activos y las lecitinas y/o fosfolípidos se pueden emplear además en la razón en peso 1 : 20 a 5 : 1, preferentemente 1 : 2 a 4 : 1. Como disolvente sirven preferentemente los alcoholes menores con de 1 a 4 átomos de carbono, como por ejemplo, etanol o polioles, que poseen generalmente de 2 a 15 átomos de carbono y al menos dos grupos hidroxílicos; aquí se prefiere el propilenglicol.

Ejemplos

Ejemplos de Elaboración

Ejemplo 1

En un matraz de tres cuellos de 500 ml provisto de agitador y refrigerante en posición de reflujo se disolvieron a calor de ebullición 3 g de agar-agar en 200 ml de agua. A continuación se hizo reaccionar la mezcla durante aproximadamente 30 min con fuerte agitación, primero, con una dispersión homogénea de 10 g de glicerina y 2 g de talco in ad 100 g de agua y, después, con una preparación de 25 g de chitosán (Hydagen® DCMF, ácido glicólico al 1% en peso, Cognis, Düsseldorf/FRG), 4 g de ácido acelaico, 4 g de sal de zinc del ácido glicirrético, Phenonip® (mezcla de conservantes conteniendo fenoxietanol y parabeno) y 0,5 g de Polisorbat-20 (Tween® 20, ICI) in ad 100 g de agua. Se filtró la matriz obtenida, se calentó a 60°C y se dejó gotear en una disolución de alginato sódico al 0,5% en peso. Tras el tamizado se obtuvo una preparación acuosa con un 8% en peso de las microcápsulas con un diámetro medio de 1 mm.

Ejemplo Comparativo 2

En un matraz de tres cuellos de 500 ml provisto de agitador y refrigerante de reflujo se disolvieron a calor de ebullición 3 g de agar-agar en 200 ml de agua. A continuación se hizo reaccionar la mezcla durante aproximadamente 30 min con fuerte agitación, primero, con una dispersión homogénea de 10 g de glicerina y 2 g de talco in ad 100 g de agua y, después, con una preparación de 25 g de chitosán (Hydagen® DCMF, ácido glicólico al 1% en peso, Cognis, Düsseldorf/FRG), 4 g de sal de potasio del ácido acelaico, 4 g de sal de zinc del ácido glicirrético, 0,5 g de Phenonip® (mezcla de conservantes conteniendo fenoxietanol y parabeno) y 0,5 g de Polisorbat-20 (Tween® 20, ICI) in ad 100 g de agua. Se filtró la matriz obtenida, se temperó a 50°C y se dispersó con fuerte agitación en 2,5 veces el volumen de aceite de parafina, enfriada anteriormente a 15°C. La dispersión se lavó, a continuación, con una disolución acuosa conteniendo el 1% en peso de laurilsulfato sódico y el 0,5% en peso de alginato sódico y después, en múltiples ocasiones, con una disolución acuosa al 0,5% en peso de Phenonip, eliminándose la fase oleica. Tras el tamizado se obtuvo una preparación acuosa con un 8% en peso de las microcápsulas con un diámetro medio de 1 mm.

Ejemplo 3

En un matraz de tres cuellos de 500 ml provisto de agitador y refrigerante en posición de reflujo se disolvieron a calor de ebullición 3 g de agar-agar en 200 ml de agua. A continuación se hizo reaccionar la mezcla durante aproximadamente 30 min con fuerte agitación, primero, con una dispersión homogénea de 10 g de glicerina y 2 g de talco

ES 2 300 399 T3

in ad 100 g de agua y, después, con una preparación de 25 g de chitosán (Hydagen® DCMF, ácido glicólico al 1% en peso, Cognis, Düsseldorf/FRG), 4 g de sal de zinc del ácido acelaico, 4 g de sal de zinc del ácido glicirrético, 0,5 g de Phenonip® (mezcla de conservantes conteniendo fenoxietanol y parabeno) y 0,5 g de Polisorbat-20 (Tween® 20, ICI) in ad 100 g de agua. Se filtró la matriz obtenida, se calentó a 60°C y se dejó gotear en una disolución de laurilsulfato sódico al 15% en peso. Tras el tamizado se obtuvo una preparación acuosa con un 9% en peso de las microcápsulas con un diámetro medio de 1 mm.

Ejemplo Comparativo 4

En un matraz de tres cuellos de 500 ml provisto de agitador y refrigerante de reflujo se disolvieron a calor de ebullición 3 g de agar-agar en 200 ml de agua. A continuación se hizo reaccionar la mezcla durante aproximadamente 30 min con fuerte agitación, primero, con una dispersión homogénea de 10 g de glicerina y 2 g de talco in ad 100 g de agua y, después, con una preparación de 25 g de chitosán (Hydagen® DCMF, ácido glicólico al 1% en peso, Cognis, Düsseldorf/FRG), 4 g de ácido acelaico, 4 g de extracto de Glycyrrhiza glabra (Plantactiv® GLA 18, al 98% en peso, Cognis), 0,5 g de Phenonip® (mezcla de conservantes conteniendo fenoxietanol y parabeno) y 0,5 g de Polisorbat-20 (Tween® 20, ICI) in ad 100 g de agua. Se filtró la matriz obtenida, se calentó a 60°C y se dejó gotear en una disolución de pirofosfato sódico al 15% en peso. Tras el tamizado se obtuvo una preparación acuosa con un 8% en peso de las microcápsulas con un diámetro medio de 1 mm.

Ejemplo Comparativo 5

En un matraz de tres cuellos de 500 ml provisto de agitador y refrigerante de reflujo se disolvieron a calor de ebullición 3 g de agar-agar en 200 ml de agua. A continuación se hizo reaccionar la mezcla durante aproximadamente 30 min con fuerte agitación, primero, con una dispersión homogénea de 10 g de glicerina y 2 g de talco in ad 100 g de agua y, después, con una preparación de 25 g de chitosán (Hydagen® DCMF, ácido glicólico al 1% en peso, Cognis, Düsseldorf/FRG), 4 g de sal de zinc del ácido acelaico, 4 g de extracto de Glycyrrhiza glabra (Plantactiv® GLA 18, al 98% en peso, Cognis), 0,5 g de Phenonip® (mezcla de conservantes conteniendo fenoxietanol y parabeno) y 0,5 g de Polisorbat-20 (Tween® 20, ICI) in ad 100 g de agua. Se filtró la matriz obtenida, se temperó a 50°C y se dispersó con fuerte agitación en 2,5 veces el volumen de aceite de parafina, enfriada anteriormente a 15°C. La dispersión se lavó, a continuación, con una disolución al 15% en peso de pirofosfato sódico y después, en múltiples ocasiones, con una disolución acuosa al 0,5% en peso de Phenonip, eliminándose la fase oleica. Tras el tamizado se obtuvo una preparación acuosa con un 10% en peso de las microcápsulas con un diámetro medio de 1 mm.

Ejemplo Comparativo 6

En un matraz de tres cuellos de 500 ml provisto de agitador y refrigerante de reflujo se disolvieron a calor de ebullición 3 g de gelatina en 200 ml de agua. A continuación se hizo reaccionar la mezcla durante aproximadamente 30 min con fuerte agitación, primero, con una dispersión homogénea de 10 g de glicerina y 2 g de talco in ad 100 g de agua y, después, con una preparación de 25 g de chitosán (Hydagen® DCMF, ácido glicólico al 1% en peso, Henkel KGaA, Düsseldorf/FRG), 4 g de sal de zinc del ácido acelaico, 4 g de extracto de Glycyrrhiza glabra (Plantactiv® GLA 18, al 98% en peso, Cognis), 0,5 g de Phenonip® in ad 100 g de agua. Se filtró la matriz obtenida, se calentó a 60°C y se dejó gotear en una disolución al 0,5% en peso de Hydagen® SCD (chitosán succinilado, Cognis). Tras el tamizado se obtuvo una preparación acuosa con un 8% en peso de las microcápsulas con un diámetro medio de 1 mm.

Ejemplo Comparativo 7

En un matraz de tres cuellos de 500 ml provisto de agitador y refrigerante de reflujo se disolvieron a calor de ebullición 3 g de agar-agar en 200 ml de agua. A continuación se hizo reaccionar la mezcla durante aproximadamente 30 min con fuerte agitación, primero, con una dispersión homogénea de 10 g de glicerina y 2 g de talco in ad 100 g de agua y, después, con una preparación de 25 g de chitosán (Hydagen® DCMF, ácido glicólico al 1% en peso, Cognis, Düsseldorf/FRG), 3 g de ácido acelaico, 3 g de extracto de Glycyrrhiza glabra (Plantactiv® GLA 18, al 98% en peso, Cognis), 2 g de extracto de Camellia sinensis (Herbalia® Green Tea, Cognis), 0,5 g de Phenonip® (mezcla de conservantes conteniendo fenoxietanol y parabeno) y 0,5 g de Polisorbat-20 (Tween® 20, ICI) in ad 100 g de agua. Se filtró la matriz obtenida, se calentó a 60°C y se dejó gotear en una disolución de alginato sódico al 0,5% en peso. A continuación, se tamizaron las preparaciones, para la obtención de microcápsulas del mismo diámetro.

Ejemplo 8

En un agitador se disolvieron 0,5 g de conservante (Phenonip®) en 50 g de una preparación acuosa al 2% en peso de carboximetilcelulosa, ajustándose la mezcla a pH = 3,5. A continuación se añadió con fuerte agitación una mezcla consistente en 5 g de ácido acelaico, 5 g de sal de zinc del ácido glicirrético y monoesterato de sorbitán + 20EO (Eumulgin® SMS 20, Cognis Alemania GmbH). Posteriormente se añadió con agitación ulterior tal cantidad de una disolución de chitosán al 1% en peso en ácido glicólico (Hydagen® CMF Cognis Alemania GmbH), que se logra ajustar a una concentración de chitosán del 0,075% en peso - relativo a la preparación -. A continuación se elevó el valor del pH a 5,5 mediante la adición de trietanolamina y se decantaron las microcápsulas producidas.

ES 2 300 399 T3

Ejemplo Comparativo 9

En un agitador se disolvieron 0,5 g de conservante (Phenonip®) en 50 g de una preparación acuosa al 2% en peso de ácido poliacrílico (Pemulen® TR-2), ajustándose un valor del pH de 3. A continuación se añadió con fuerte agitación una mezcla consistente en 5 g de ácido acelaico, 5 g de extracto de Glycyrrhiza glabra (Plantactiv® GLA 18, al 98% en peso, Cognis), y monolaurato de sorbitán + 15 EO (Eumulgin® SMS 15, Cognis Alemania GmbH). Posteriormente se añadió con agitación ulterior tal cantidad de una disolución de chitosán al 1% en peso en ácido glicólico (Hydagen® CMF Cognis Alemania GmbH), que se logra ajustar a una concentración de chitosán del 0,01% en peso - relativo a la preparación -. A continuación se elevó el valor del pH a 5,5 mediante la adición de trietanolamina y se decantaron las microcápsulas producidas.

Ejemplo 10

En un agitador se precargaron 5 g de ácido acelaico y 5 g de sal de zinc del ácido glicirrético y se mezclaron con 100 g de una disolución al 20% en peso de lecitina de soja en propilenglicol. Se calentó la mezcla a 65°C y se agitó hasta obtener una disolución homogénea clara.

Ejemplo Comparativo 11

En un agitador se precargaron 5 g de ácido acelaico y 5 g de un extracto secado por frío de Glycyrrhiza glabra y se mezclaron con 100 g de una disolución al 20% en peso de lecitina de soja en propilenglicol. Se calentó la mezcla a 65°C y se agitó hasta obtener una disolución homogénea clara.

Efectividad Antibacteriana

A continuación se examinaron los siguientes principios activos y/o sus mezclas:

A1 ácido acelaico

A1 sal de potasio del ácido acelaico (principio activo comparativo)

A2 sal de zinc del ácido acelaico-

B1 sal de zinc del ácido glicirrético

B2 extracto de Glycyrrhiza glabra; Plantactiv® GLA 18 (Cognis) (principio activo comparativo).

La efectividad antibacteriana de los principios activos y mezclas de principios activos se examinó con ayuda de los métodos de difusión sobre placas de agar y/o de dilución del agar. Además, primero se impregna un papel filtrante circular de diámetro definido con la disolución de ensayo y entonces se aplica éste sobre la superficie de una placa de agar, inoculada ya anteriormente con los microorganismos de ensayo. A continuación se determina el tamaño de las zonas de inhibición tras tiempos definidos. Esta técnica permite determinar particularmente la MIC (Minimum Inhibitory Concentration - concentración inhibitoria mínima) como la concentración de sustancia de ensayo más baja, con la que aún puede obtenerse una inhibición total de los microorganismos.

Método de Difusión del Agar. El inóculo se elaboró con empleo de un cultivo fresco en una fase estacionaria de crecimiento (tras aprox. 18-24 h) en una disolución BHI (Brain-Heart-Infusion). La suspensión de bacterias se ajustó a 0,5 unidades MacFarland, correspondientemente a $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colonias (cfu)/ml; a continuación se diluyó la suspensión con una disolución de sal de cocina 1/100, para ajustar un valor de $1,5 \times 10^6$ cfu/ml. A continuación se esterilizó agar Mueller-Hinton (*Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus aureus*) y agar Wilkins-Chalgrens con un 5% en peso de sangre de carnero (*Propionibacterium acnes*) durante 15 min a 121°C y entonces se aplicó en placas de Petri. Las placas de Petri se mezclaron con de 2 a 4 ml de las suspensiones de bacterias y se secaron a temperatura ambiente. Los papeles filtrantes se impregnaron con 20 µl de las sustancias de ensayo y se aplicaron sobre la superficie de las placas de agar. Las placas de Petri inoculadas se incubaron durante de 18 a 24 h a 37°C (las placas de Petri con *Propionibacterium acnes* en condiciones anaerobias) y, a continuación, se determinó la efectividad antimicrobiana mediante determinación de la zona de inhibición del crecimiento. Los resultados se resumen en la Tabla 1. Se indica, en cada caso, el diámetro de la superficie de inhibición en mm.

Método de Dilución del Agar (determinación de la MIC). Se prepararon diferentes agares, tal y como se describe anteriormente, se mezclaron con diferentes concentraciones de sustancias de ensayo, se homogenizaron y después se secaron. A continuación se llevó a cabo la inoculación de las placas de Petri con, en cada caso, 2 µl de las suspensiones de bacterias. Tras el nuevo secado, se incubaron las placas de Petri a 37°C durante de 18 a 24 h. En la Tabla 2 se indican las MIC en mg/ml, es decir, las concentraciones de sustancia de ensayo más bajas, con las que aún puede obtenerse una inhibición total del crecimiento bacteriano. Se trata, en cada caso, del valor medio de determinaciones dobles.

TABLA 1

Zonas de Inhibición [mm]			
Razón de Principios Activos	Staphylococcus aureus	Staphylococcus epidermidis	Propionibacterium acnes
A1 (muestra ciega)	4	5	7
B1 (muestra ciega)	5	5	4
A1 : B1 = 75 : 25	12	13	10
A1 : B1 = 50 : 50	14	16	12
A1 : B1 = 25 : 75	11	15	10
A2 : B1 = 50 : 50	12	15	10
A3 : B1 = 50 : 50	11	15	11
A1 : B1 = 50 : 50	13	16	13

TABLA 2

MIC [mg/ml]			
Principios Activos	Staphylococcus epidermidis	Staphylococcus aureus	Propionibacterium acnes
A1 (muestra ciega)	1,25	>10	1,25
B1 (muestra ciega)	1,25	>10	1,25
A1 : B1 = 75 : 25	1,25	1,25	0,625
A1 : B1 = 50 : 50	0,625	1,25	0,625
A1 : B1 = 25 : 75	1,25	1,25	0,625
A2 : B1 = 50 : 50	1,25	1,25	0,625
A3 : B1 = 50 : 50	1,25	1,25	0,625
A1 : B1 = 50 : 50	0,625	1,25	0,625

Los resultados demuestran, que las mezclas de principios activos tienen propiedades antimicrobianas sinérgicamente mejoradas frente a los componentes individuales, especialmente contra aquellos gérmenes involucrados en la formación del acné.

ES 2 300 399 T3

REIVINDICACIONES

1. Empleo de una mezcla de principios activos, conteniendo

- (a) ácido acelaico o su sal de zinc y
- (b) sal de zinc del ácido glicirrético

para la elaboración de un medicamento para el tratamiento del acné.

2. Empleo acorde a la Reivindicación 1, **caracterizado** porque los componentes (a) y (b) se emplean en la razón en peso 90:10 a 10:90.

3. Empleo acorde a las Reivindicaciones 1 y/o 2, **caracterizado** porque como componente adicional (c) se emplea vitamina B6.

4. Empleo acorde a la Reivindicación 3, **caracterizado** porque como componente (d) adicional se emplean extractos de plantas, seleccionadas del grupo formado por *Aesculus hippocastanum* (castaña de indias), *Argania spinosa*, *Baptista tinctoria* (índigo salvaje), *Centella asiatica*, *Camelia sinensis* (té verde), *Chamonella recutita* (camomila), *Ginkgo biloba* (ginkgo), *Oleo europea* (aceituna), *Litchi chinensis* (litchi), *Melissa officinalis* (melisa), *Panax ginseng* (ginseng), *Passiflora incarnata* (flor de la pasión), *Prunus dulcis* (almendra dulce), *Pterocarpus marsupium*, *Ruscus aculeatus*, *Trifolium pratense* (trébol rojo), *Uva ursi* (uva de oso), *Vaccinium myrtillus* (arándanos), *Vigna acontifolia*, y *Vitis vinifera* (viña salvaje), así como sus mezclas.

5. Empleo acorde a al menos una de las Reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado** porque se emplean mezclas, que contienen - relativo a los principios activos -

- (a) del 10 al 90% en peso de ácido acelaico y/o su sal de zinc,
- (b) del 10 al 90% en peso de sal de zinc del ácido glicirrético y
- (c) del 0 al 20% en peso de extractos vegetales y/o vitamina B6

con la condición de, que las concentraciones se sumen hasta el 100% en peso.

6. Empleo acorde a al menos una de las Reivindicaciones 1 a 10, **caracterizado** porque las mezclas de principios activos se emplean en forma de microcápsulas o pro-liposomas.