



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 274 879**

51 Int. Cl.:
A61K 31/455 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **01924990 .3**
86 Fecha de presentación : **12.04.2001**
87 Número de publicación de la solicitud: **1272183**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **08.01.2003**

54 Título: **Métodos y composiciones útiles en el potenciamiento del suministro de oxígeno a las células.**

30 Prioridad: **14.04.2000 US 197277 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.06.2007

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.06.2007

73 Titular/es: **Niadyne Corporation**
2509 N. Campbell Avenue 138
Tucson, Arizona 85719, US
University of Kentucky Research Foundation

72 Inventor/es: **Jacobson, Elaine, L.;**
Jacobson, Myron, K.;
Qasem, Jaber;
Kim, Hyuntae y
Kim, MoonSun

74 Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

ES 2 274 879 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

Métodos y composiciones útiles en el potenciamiento del suministro de oxígeno a las células.

5 **Campo de la invención**

Esta invención tiene que ver con el uso de formulaciones para potenciar el suministro de oxígeno a tejidos y órganos tales como la piel. Igualmente se describen usos terapéuticos del método.

10 **Antecedentes y arte anterior**

La piel juega múltiples papeles en la protección contra amenazas ambientales. La exposición al ambiente da como resultado el deterioro progresivo de la piel, que inicialmente puede ser de tipo cosmético, pero que puede conducir a enfermedades terminales tales como queratosis actínica y cáncer de piel. A partir de aquí, al tiempo que se discutirá en forma específica la piel, se entenderá que los comentarios aplican a los órganos y tejidos en general.

La salud de la piel, así como la de otros tejidos y órganos, depende del suministro de muchos nutrientes esenciales a los componentes celulares que son parte de ellos, oxígeno en particular, así como de la remoción eficiente de productos de desecho tales como dióxido de carbono y otros productos metabólicos finales. Se requiere un suministro óptimo de oxígeno para soportar los ciclos metabólicos que, entre otras cosas, soportan a su vez a los mecanismos celulares que conducen a la resistencia de la piel al deterioro.

El suministro de oxígeno a la piel vía circulación sanguínea es distal con el fin de suministrar lo máximo a otros órganos. Más aún, la capa viva más superficial de la piel, es decir, la "epidermis", es no vascular. Esto deja a las capas externas de la piel en alto riesgo de recibir insuficiente oxígeno.

La piel es un sistema complejo de órganos consistente de múltiples capas. La capa más externa o capa "*stratum corneum*", consiste de material no viviente suministrado inicialmente por la diferenciación terminal de los queratinocitos epidérmicos, y provee una barrera protectora para las capas siguientes de la piel. La epidermis contiene un número de tipos de células, aunque los queratinocitos son el tipo principal. Los fibroblastos dérmicos están inmersos dentro de una matriz compuesta por colágeno, elastina, proteoglicanos y otras moléculas matrices extracelulares. En la dermis se encuentran capilares sanguíneos, pero la epidermis no es vascular.

A medida que la gente envejece, en la piel aparecen progresivos cambios de deterioro. Los cambios iniciales son la pérdida de tersura de la piel y la aparición de manchas debidas a la edad, seguidos de cambios en la elasticidad que conduce a la aparición de arrugas. La edad a la cual estos cambios aparecen y la velocidad a la que se pasa de un estadio a otro, varía enormemente de individuo a individuo. Durante el proceso normal de envejecimiento, tanto la dermis como la epidermis se hacen más delgadas con una pérdida en el número de células y tejido conectivo, lo cual conduce a la aparición de arrugas finas. La radiación ultravioleta (UV) del sol causa fotodaño que acelera el deterioro de la piel. En contraste al adelgazamiento observado en la piel protegida del sol, la piel fotodañada presenta un engrosamiento y apariencia áspera con un incremento en arrugas más profundas que ocurren en el tejido dérmico. El fotodaño también puede causar deterioro cutáneo terminal incluyendo lesiones pre-malignas a las que se les conoce como queratosis actínica y cáncer de piel.

Evidencia de peso indica ahora que el estrés oxidativo, definido como una acumulación anormal de especies oxigenadas reactivas (EOR de aquí en adelante), está involucrado en la patofisiología del deterioro de la piel. Las EOR incluyen, entre otros, superóxidos, radical hidroxilo, peróxido de hidrógeno, oxígeno singlete, óxido nítrico, peroxinitrilo e hipoclorito. Ver, por ej., Simonian, *et al.*, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 36: 83-106 (1996), incorporada por referencia. Todas las células están expuestas a las EOR durante el curso normal del metabolismo de energía, vía exposición ambiental y/o monitoreo inmune. Mientras que las EOR están involucradas en las rutas de señalización celular normal, un aumento de las EOR durante el estrés oxidativo interrumpe las rutas de señalización, lo que a menudo da como resultado la muerte celular por apoptosis o necrosis. Así, es probable que las EOR tengan que ver con el descenso del número de células observadas con el paso del tiempo, aún en pieles protegidas del sol.

La exposición a los rayos ultravioleta de la luz solar es una fuente principal de estrés oxidativo en la piel. Dos blancos principales para daño por parte de las EOR en la piel son el ADN y las proteínas. El daño del ADN es de interés particular en cuanto que un daño no reparado puede conducir a la pérdida de células de la piel y al funcionamiento alterado de las células que sobreviven el estrés genotóxico.

Mientras que algunos cambios en la piel durante el envejecimiento no pueden ser evitados, mucho del deterioro de la piel a edades más tempranas es evitable. Las células de la piel tienen un número de mecanismos protectores para la prevención y reparación del daño causado por las EOR al ADN y proteínas. Por ejemplo, un número de moléculas intracelulares, incluyendo glutatión y las vitaminas antioxidantes C y E, juegan un papel en la captura de las EOR antes de que puedan reaccionar con las macromoléculas celulares. Ciertamente, las vitaminas antioxidantes han hallado aplicación en la prevención del deterioro cutáneo al ser involucradas como componentes de muchas cremas para la piel. Igualmente las células presentan mecanismos complejos para el mantenimiento de la integridad genómica. De interés particular aquí es la evidencia acumulativa del involucramiento de los mecanismos de reparación del ADN en

el mantenimiento de la integridad genómica de órganos y tejidos sujetos a estrés genotóxico causado, por ej., por las EOR, incluyendo a la piel.

El suministro de oxígeno es importante para el mantenimiento apropiado de las rutas metabólicas de energía de la célula, las cuales a su vez son importantes para aliviar los problemas discutidos aquí. Es deseable tener disponibilidad de un método mediante el cual el suministro de oxígeno a un tejido u órgano, tal como la piel, pueda ser mejorado. De ahí un objetivo de la invención es un método para mejorar el suministro de oxígeno a tejidos y órganos tales como la piel. Un aspecto adicional de la invención son composiciones útiles para alcanzar este objetivo. Otro aspecto aún de la invención es el tratamiento de condiciones donde se requiera una oxigenación potenciada a través de los métodos y composiciones de la invención.

Cómo estos aspectos de la invención son cubiertos se verá a partir de la revelación que sigue.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra la piel, en sección transversal, en combinación con una ilustración del sistema de suministro de la invención.

La Figura 2 representa datos obtenidos de acuerdo a la invención a través del uso de un monitor transcutáneo de oxígeno.

La Figura 3 muestra resultados de un experimento adicional usando el monitor transcutáneo de oxígeno.

La Figura 4 muestra un experimento que muestra que los ésteres de la niacina son convertidos a niacina con el fin de mejorar la oxigenación de la célula.

Descripción detallada de las modalidades preferidas

La invención descrita aquí involucra varias formulaciones diseñadas para potenciar el suministro de oxígeno a tejidos y órganos tales como la piel. Las composiciones son formuladas de tal manera que rápidamente sufran una partición hacia una capa, tal como la *stratum corneum* de la piel, a una velocidad que permita un suministro sostenido de un agente o agentes activos a, por ej., la epidermis, de una manera prolongada y a una concentración que provoque dilatación capilar. Como resultado de la dilatación capilar, el flujo sanguíneo aumenta, creando así tensión de oxígeno en la dermis la cual a su vez soporta tanto al metabolismo de energía en los fibroblastos epidérmicos como a los queratinocitos epidérmicos cuando se involucra la piel, y a otros tipos paralelos de célula cuando otros tejidos y/o órganos están involucrados.

La naturaleza altamente lipofílica del *stratum corneum* dicta que el agente potenciador de oxígeno tiene que ser lo suficientemente lipofílico para que sufra una partición efectiva en el *stratum corneum* desde el elemento donante, el cual puede ser, por ej., una crema o loción para la piel. Esto requiere la preparación de un agente lipofílico inconfundible, tal como los descritos en más detalle anteriormente. La difusión desde el *stratum corneum* a la epidermis también requiere que el agente sea lo suficientemente lipofílico para sufrir partición rápida desde la crema o loción al *stratum corneum*. Los ésteres de niacina se usan como ejemplo aquí. Los derivados lipofílicos de los ésteres de la niacina pueden ser preparados, y estos convertidos en ésteres activos de la niacina luego de la difusión desde el *stratum corneum* a la epidermis; sin embargo se puede usar otros materiales. La lipofilicidad del agente debe permitir que se le pueda formular en, por ej., crema o loción para la piel y el enlace éster debe ser muy estable en estas formulaciones a, por ej., la hidrólisis química bajo condiciones acuosas.

Los experimentos que siguen a continuación ilustran la invención en mayor detalle, pero no deben ser interpretados como limitantes de la invención en ninguna manera.

Ejemplo 1

Se sintetizaron ésteres ácidos del ácido nicotínico de acuerdo al Serial No. 09/452,617, solicitado en diciembre 1, 1999. Brevemente, se combinó cloruro de nicotinoilo con trietilamina (TEA), dimetil aminopiridina (DAMP) y varios alcoholes alquílicos bajo atmósfera de nitrógeno. Los ésteres resultantes de esta síntesis fueron preparados usando una columna cromatográfica de sílica gel y fueron convertidas en sales HCl para purificación adicional usando métodos estándar. La pureza fue confirmada con cromatografía en capa fina y ¹H-RMN.

Los valores P_{oct/w} para éstos compuestos fueron determinados de acuerdo a Harnisch, *et al.*, J. Chromatog. 282: 315-332 (1983). Esta referencia también describe la determinación de los valores "log P" descritos abajo.

Ejemplo 2

Este ejemplo detalla el primero de dos conjuntos de experimentos diseñados para determinar el efecto vasodilatador de los ésteres alquilniacina. Las formulaciones fueron preparadas combinando los ésteres alquílicos referidos anteriormente en una loción para la piel a concentraciones de 0,1% y 1,0%. Las lociones fueron aplicadas en forma tópica a la piel de humanos voluntarios sobre la superficie anterior de uno de los antebrazos. Se observó visualmente

la vasodilatación, por ej., mirando la coloración desarrollada en el sitio de aplicación o su falta. Se midieron tanto el comienzo como la duración de la vasodilatación.

Los resultados para los ésteres probados son ilustrados en la tabla 1, más adelante. Esta tabla incluye la lipofili-
 5 cidad de los compuestos probados, en valores de log P, según Harnisch, *et al.*, *supra*, así como los resultados de la observación visual.

Se verá que ésteres alquílicos de cadena corta, por ej., aquellos con 8 átomos de carbono en la cadena alquílica, causan vasodilatación tan baja como el 0,1%, mientras que ésteres alquilo C9 y C10 causan vasodilatación en formu-
 10 laciones al 1,0%. Los ésteres de cadena más larga, por ej., aquellos de C12 o superior, no provocan vasodilatación a ninguna concentración.

El inicio y duración de la vasodilatación fueron determinados nuevamente por evaluación visual, para ésteres alquilo C2, C6 y C8. Los resultados se tabulan en la tabla 2. Nótese que el valor de log P provisto para los compuestos C9 y C11 se derivan de un gráfico determinado experimentalmente para otros compuestos. El compuesto C8 provee el efecto más prolongado. Así, se prefieren los ésteres de niacina con valores de log P de menos de 6,0. Más preferidos son los ésteres con valores de log P en un rango desde aproximadamente 4,5 hasta aproximadamente 5,5.

TABLA 1

Propiedades de los Ésteres de Niacina

Longitud de la cadena carbonada alquílica	Valor (*) log P	Vasodilatación a	
		0,1%	1,0%
1 carbón	0,84	Si	Si
2 carbonos	1,3	Si	Si
4 carbonos	2,4	Si	Si
6 carbonos	3,5	Si	Si
8 carbonos	4,8	Si	Si
9 carbonos	5,0*	No	Si
10 carbonos	5,8	No	Si
11 carbonos	6,0*	No	Ligera
12 carbonos	6,6	No	No
13 carbonos	7,5	No	No
14 carbonos	7,6	No	No
15 carbonos	8,3	No	No
16 carbonos	9,2	No	No
18 carbonos	9,7	No	No

TABLA 2

Propiedades de vasodilatación de Esteres de Niacina seleccionados

Éster de niacina	Efecto de vasodilatación	
	Inicio	Duración
Etil niacina	5 - 10 min.	30 - 45 min.
Hexil niacina	10 - 15 min	60 - 90 min
Octil niacina	10 - 20 min	240 - 360 min

Ejemplo 3

Los experimentos reportados en la tabla 1 revelan compuestos que proveen vasodilatación prolongada luego de su aplicación tópica; sin embargo no indican si el efecto de vasodilatación está acompañado o no por una liberación aumentada de oxígeno al tejido cutáneo. Para examinar este aspecto, se determinó directamente el contenido de oxígeno en piel para el cual octil éster discutido anteriormente, utilizando un monitor transcutáneo de oxígeno. La formulación al 1% del octil éster se aplicó a la piel durante 30 minutos. Luego de este período de media hora la piel fue limpiada con jabón y agua, se frotó con un paño con alcohol y se colocó una gota de agua desionizada en la superficie del sensor antes de pegar este a la superficie anterior de los antebrazos de los voluntarios. Los valores transcutáneos fueron registrados constantemente y almacenados en el instrumento. El monitor mide el contenido relativo de oxígeno porque la temperatura a la cual opera el monitor impacta la permeabilidad de oxígeno en el *stratum corneum*. Ver, por ej., Martin, Resp. Care 35: 577-589 (1990). El sensor fue calibrado a intervalos de 4 horas o cada vez que variaba la temperatura del sensor.

Los resultados de un grupo de experimentos se presentan en la figura 2. El monitor fue operado a una temperatura de 40°C. Se dan valores tanto para un control como para la formulación descrita aquí.

El primer valor alto es representativo de la tensión de oxígeno del aire en la sonda del monitor al momento de la aplicación, luego cae rápidamente a un valor muy bajo que demuestra el bajo contenido de oxígeno en la piel. Esto es seguido por un incremento y una meseta atribuida al efecto de la simple operación del monitor a 40°C. Los resultados mostrados señalan entonces un incremento sostenido en el oxígeno de la piel como resultado de la aplicación del éster de niacina. La comparación de los resultados para el control y el compuesto de prueba muestran un claro incremento en la cantidad de oxígeno liberado a los capilares.

En un experimento de seguimiento se operó el monitor a 38°C y se midieron ambos, el contenido de O₂ y de CO₂ con un monitor transcutáneo combinado de oxígeno y CO₂. La figura 3 representa estos resultados. El control es representado por la línea punteada. Los resultados muestran un incremento prolongado en el contenido de oxígeno en la piel y una disminución en el contenido de CO₂ como resultado de la aplicación del éster de niacina. Este último resultado indica que la aplicación tópica también mejora la remoción de metabolitos. Mientras los resultados de medición de oxígeno y CO₂ en piel son consistentes con la vasodilatación observada reportada en la Tabla 1, la sola observación de la vasodilatación no indica necesariamente un aumento o disminución de oxígeno en el tejido de la piel; sin embargo, los resultados revelados en las figuras 2 y 3 demuestran que la aplicación de ésteres de niacina afecta tanto el incremento de flujo sanguíneo en la piel como la liberación aumentada de oxígeno hacia la piel.

Ejemplo 4

Trabajo previo por parte de Sugibayashi *et al.*, J. Controlled Release 62: 201-208 (1999) ha mostrado que, con respecto a la piel, hay poco o ninguna actividad de la esterasa en el *estratum corneum*, la epidermis tiene la mayor actividad y la dermis una actividad reducida con relación a la de la epidermis. De ésta manera se realizaron experimentos para determinar si los ésteres requieren conversión a otras moléculas con el fin de provocar la oxigenación. Un experimento que demostró que los ésteres de niacina requieren conversión a niacina para lograr la oxigenación de la piel se ilustra en la figura 4. Se efectuaron experimentos paralelos usando loción de éster de octil niacina al 0,1%, y una loción con un contenido de éster de octil niacina de 0,1% y 0,1% de benzoato de butilo. El benzoato de butilo tiene un valor de log P de 3,5 comparado con el de 4,8 para el octil éster, lo que sugiere una partición más rápida en la epidermis. La presencia del éster inactivo, por ej., benzoato de butilo, bloquea el incremento en el contenido de oxígeno demostrando que la conversión del éster de niacina es requerida. Esto también muestra que los co-ésteres pueden ser usados para modular el efecto de la oxigenación.

El contenido de oxígeno fue medido en la misma manera ya descrita anteriormente o usando otras técnicas conocidas en el arte.

Los siguientes ejemplos describen la invención, los cuales tienen que ver con métodos y composiciones para incrementar el suministro de oxígeno a las células. Brevemente; éstos requieren del uso de un derivado de un compuesto vasodilatador donde el derivado tenga una estructura tal que se logre una permeación mejorada del compuesto vasodilatador. En el caso de la niacina se prefieren los ésteres. Cualquier éster que sea sustrato para una esterasa nativa puede ser usado y es parte de la invención. Especialmente preferido es el octil éster de niacina. Especialmente preferidos son los ésteres que presentan valores de log P, como se describió anteriormente, menores a cerca de 6,0, más preferiblemente desde cerca de 4,5 hasta cerca de 5,5.

También parte de la invención es el uso de análogos esterificados de alcohol de los ácidos nicotínicos donde el grupo éster contenga entre 8 y 10, preferiblemente 8 átomos de carbono. Tales moléculas también funcionan como lo hacen los ésteres de niacina. Los análogos alcohólicos de la niacina causan vasodilatación y los derivados ésteres actúan en la misma forma que los ésteres descritos anteriormente.

“Derivado” se usa aquí para referirse a cualquier modificación química de la base, compuesto vasodilatador, que da como resultado una molécula con las cualidades de permeación descritas anteriormente, por ej., un valor de log P por debajo de unos 6,0. Los ésteres de compuestos tales como ácidos y alcoholes son ejemplos de tales moléculas, pero no son los únicos dichos compuestos.

ES 2 274 879 T3

El ingrediente activo puede ser aplicado en cualquiera de las formulaciones tópicas estándar, bien conocidas en el arte, tales como cremas, lociones, ungüentos, bálsamos, aplicadores roll-on, champús, lavados, supositorios, etc. La cantidad de la composición activa en la formulación variará. Preferiblemente, sin embargo, la concentración variará desde cerca al 0,05% hasta cerca del 5,0% en peso. Más preferiblemente la formulación es una donde la concentración de éster varía entre aproximadamente 0,1% en peso hasta aproximadamente 1,0% en peso.

Estas formulaciones son útiles en el tratamiento de condiciones donde se desea una oxigenación potenciada o aumentada del tejido. Tales condiciones son bien conocidas al artesano experimentado.

Una oxigenación mejorada, como se discutió anteriormente, mejora otros procesos dentro del órgano. Así, una característica adicional de la invención es el uso de las formulaciones, descritas anteriormente, en combinación con materiales tales como nutrientes, micronutrientes, agentes farmacéuticos y otros materiales donde el suministro potenciado de oxígeno mejorará la eficacia de los materiales adicionales. De interés particular son los compuestos y formulaciones, tales como ésteres del ácido nicotínico que tienen valores de log P en el rango descrito anteriormente. El arte es familiar con el cómo determinar los valores de log P como se mostró a través de la cita de, por ej., Harnisch *et al.*, arriba sin necesidad de ser reiterado aquí. Similarmente, se ilustra una metodología aquí que muestra al artesano experimentado como determinar si un compuesto en particular, tal como un éster del ácido nicotínico, aumenta y/o disminuye la oxigenación. Los ésteres alquílicos del ácido nicotínico han sido descritos aquí; sin embargo, otros materiales, incluyendo otros ésteres del ácido nicotínico, pueden igualmente ser utilizados hasta tanto satisfagan los criterios aducidos aquí.

Otros aspectos de la invención serán claros al artesano experimentado y no necesitan ser referidos aquí.

Los términos y expresiones que han sido empleados se usan como términos descriptivos y no de limitación, y no hay intención en el uso de tales términos y expresiones de excluir cualquier equivalente de las características mostradas y descritas o porciones de ellas, siendo reconocido que varias modificaciones son posibles dentro del objetivo de la invención.

REIVINDICACIONES

1. El uso de un alquil éster del ácido nicotínico para la fabricación de una composición para potenciar el suministro de oxígeno a un tejido, donde el grupo alquilo de dicho alquil éster del ácido nicotínico consiste de 8 a 10 átomos de carbono, donde dicha composición contiene desde aproximadamente 0,5% hasta aproximadamente 5,0% en peso del alquil éster del ácido nicotínico, en una cantidad suficiente para potenciar el suministro de oxígeno a dicho tejido.

2. El uso de acuerdo a la reivindicación 1, donde dicha composición se aplica en forma tópica.

3. El uso de acuerdo a la reivindicación 1 para potenciar el suministro de oxígeno al tejido de la piel.

4. El uso de acuerdo a la reivindicación 1, donde dicho alquil éster del ácido nicotínico es el octil éster del ácido nicotínico.

5. El uso de acuerdo a la reivindicación 1, donde dicha composición contiene desde aproximadamente 0,1% hasta aproximadamente 1% en peso de alquil éster del ácido nicotínico.

6. El uso de acuerdo a la reivindicación 1, donde dicha composición es una crema, una loción, un ungüento, un bálsamo, una barra de bola, un lavado o un supositorio.

7. El uso de acuerdo a la reivindicación 1, donde dicha composición incluye adicionalmente benzoato de butilo en una cantidad suficiente para modular la oxigenación mediante la inhibición de la conversión de dicho alquil éster del ácido nicotínico a ácido nicotínico.

8. El uso de acuerdo a la reivindicación 1, donde dicho grupo alquilo del alquil éster del ácido nicotínico consiste de 8 átomos de carbono.

9. El uso de acuerdo a la reivindicación 1, donde dicho grupo alquilo del alquil éster del ácido nicotínico consiste de 9 átomos de carbono.

10. El uso de acuerdo a la reivindicación 1, donde dicho grupo alquilo del alquil éster del ácido nicotínico consiste de 10 átomos de carbono.

11. El uso de acuerdo a la reivindicación 1, donde dicha composición potencia el suministro de oxígeno durante al menos 4 horas.

Un éster de niacina sufre partición desde una crema o loción para la piel hasta la capa superficial de la piel

El éster de niacina sufre la partición a una velocidad deseada desde la capa superficial hasta la epidermis

El éster de niacina es bioconvertido a niacina por parte de las enzimas presentes en la epidermis

La niacina es suministrada a las células capilares sanguíneas

La niacina causa una dilatación prolongada de los capilares que causan un suministro aumentado de oxígeno a la dermis donde da soporte al metabolismo de los fibroblastos dérmicos.

El oxígeno incrementado en la dermis se difunde en la epidermis donde da soporte al metabolismo energético en los queratinocitos epidérmicos

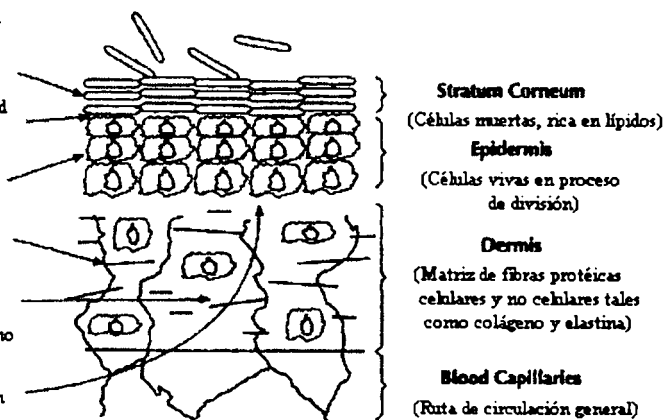


FIG. 1

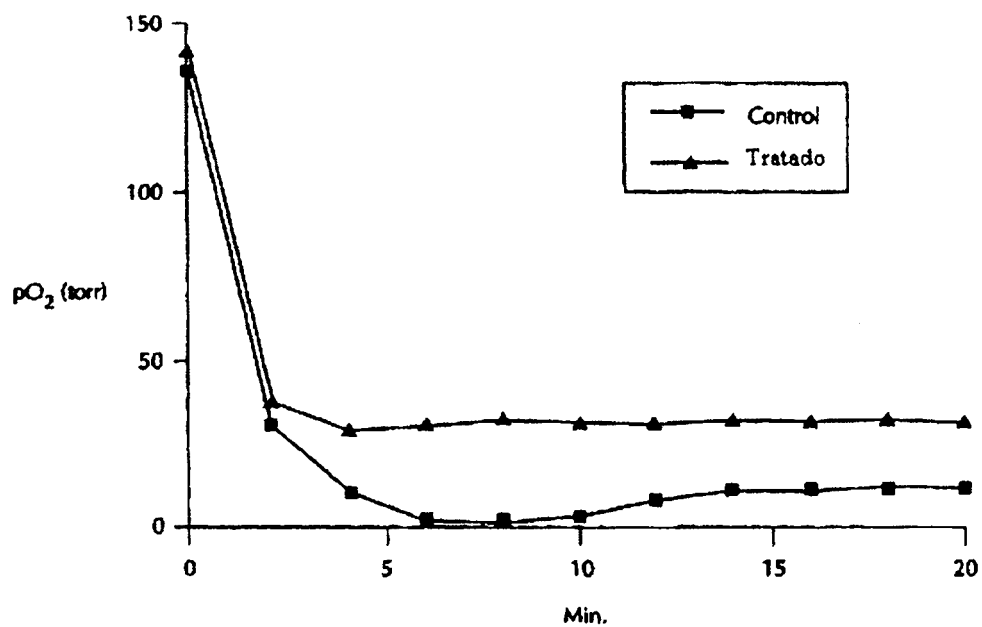


FIG. 2

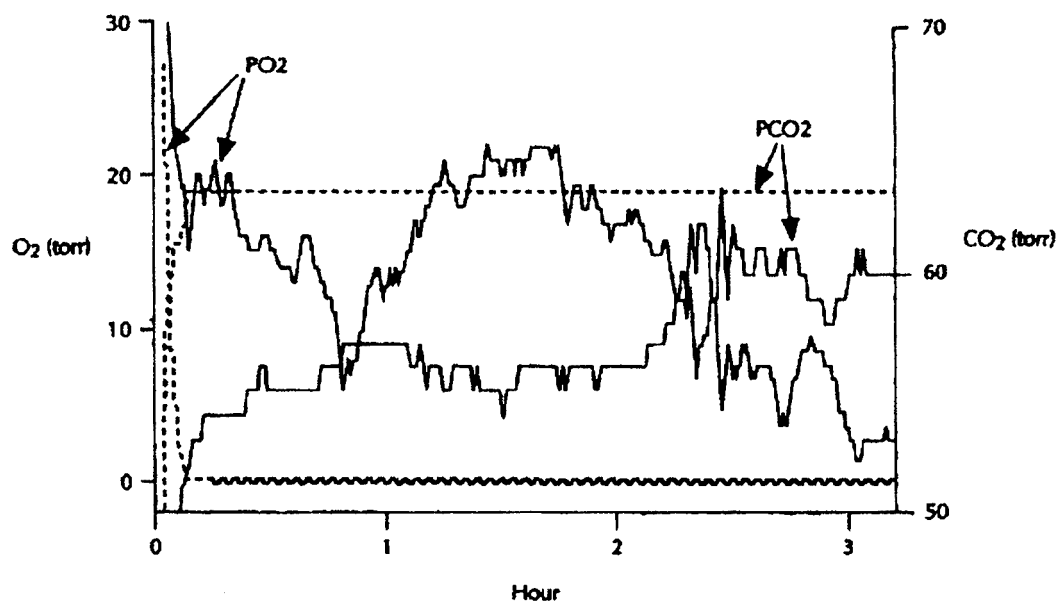


FIG. 3

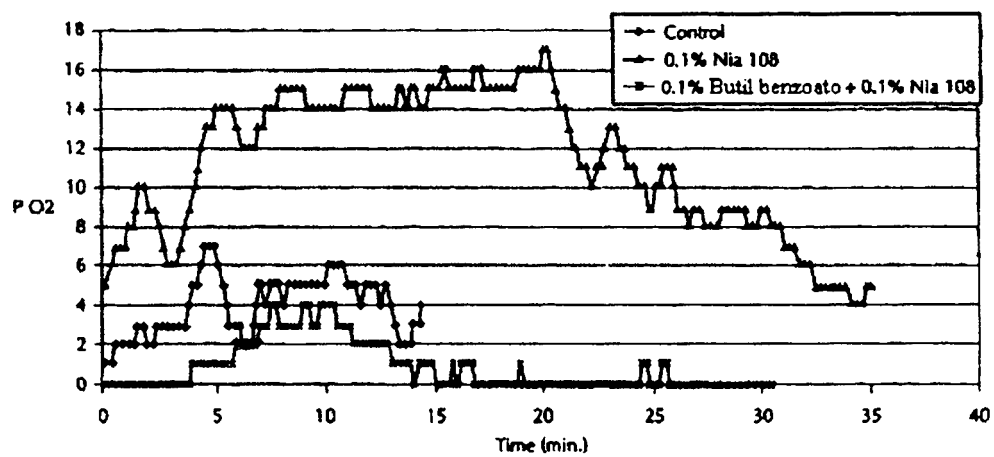


FIG. 4