



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 290 151**

51 Int. Cl.:
A61Q 7/02 (2006.01)
A61K 8/42 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **01946785 .1**
86 Fecha de presentación : **23.01.2001**
87 Número de publicación de la solicitud: **1250119**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **23.10.2002**

54 Título: **Reducción del crecimiento del pelo.**

30 Prioridad: **25.01.2000 US 490486**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.02.2008

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.02.2008

73 Titular/es: **The Gillette Company
Prudential Tower Building
Boston, Massachusetts 02199, US**

72 Inventor/es: **Styczynski, Peter y
Ahluwalia, Gurpreet, S.**

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 290 151 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

Reducción del crecimiento del pelo.

La invención se refiere a la reducción del crecimiento del pelo en mamíferos, particularmente por motivos cosméticos.

Una función principal del pelo de los mamíferos es la de proporcionar protección frente al medio ambiente. Sin embargo, esa función se ha perdido en gran parte en los seres humanos, en los cuales el pelo se mantiene o se elimina de las diversas partes del cuerpo esencialmente por razones cosméticas. Por ejemplo, se prefiere generalmente tener pelo en el cuero cabelludo pero no en la cara.

Se han empleado diversos procedimientos para eliminar el pelo no deseado, que incluyen el afeitado, electrólisis, cremas o lociones depilatorias, tratamiento con cera, la depilación, y el uso de antiandrógenos terapéuticos. Estos procedimientos convencionales generalmente tienen inconvenientes asociados con los mismos. El afeitado, por ejemplo, puede causar mellas y cortes, y puede dejar una percepción de un incremento de la velocidad de recrecimiento del pelo. El afeitado puede dejar también una barba de días no deseable. La electrólisis, por otra parte, puede mantener una zona tratada libre de pelo durante períodos prolongados de tiempo, pero puede ser cara, dolorosa, y algunas veces da lugar a la formación de escaras. Las cremas depilatorias, aunque muy eficaces, típicamente no son recomendables para un uso frecuente debido a su elevado potencial de irritación. El tratamiento con ceras y la depilación pueden causar dolor, malestar, y una mala eliminación de los pelos cortos. Finalmente, los antiandrógenos, que se han usado en el tratamiento del hirsutismo femenino, pueden tener efectos secundarios no deseados.

Se ha descrito previamente que la velocidad y el carácter del pelo se puede alterar mediante la aplicación a la piel de inhibidores de ciertas enzimas. Estos inhibidores incluyen los inhibidores de la 5-alfa reductasa, la ornitina descarboxilasa, S-adenosilmetionina descarboxilasa, gammaglutamil transpeptidasa, y la transglutaminasa. Véase, por ejemplo, Brenner y colaboradores, Patente de EE.UU. N° 4.885.289; Shander, Patente de EE.UU. N° 4.720.489; Ahluwalia, Patente de EE.UU. N° 5.095.007; Ahluwalia y colaboradores, Patente de EE.UU. N° 5.096.911; y Shander y colaboradores, Patente de EE.UU. N° 5.132.293.

El Documento U.S. 5.554.608 describe un procedimiento para inhibir el crecimiento del pelo en mamíferos que comprende aplicar a una zona de la piel una composición que incluye un inhibidor de la proteína quinasa C.

La ceramida es un metabolito de esfingolípido que existe en la naturaleza presente en la piel y otros tejidos tanto intra como extra-celularmente. La biosíntesis de las ceramidas en las células se inicia generalmente mediante la condensación del aminoácido serina con la palmitoil-CoA lo que da lugar a la formación de la 3-cetodihidroesfingosina, la cual se reduce posteriormente a dihidroesfingosina. El enlace de amida de grupos acilo grasos a la dihidroesfingosina forma la dihidroceramida. La dihidroceramida se convierte en ceramida mediante la introducción de un enlace doble 4,5 trans. Una vez formada, la ceramida actúa como un precursor de la síntesis de otros esfingolípidos complejos tales como la galactosilceramida, la glucosilceramida, y la acilceramida. La mayor parte de los glucoesfingolípidos se sintetizan a partir de la ceramida vía la glucosilceramida, la formación de la cual se cataliza por la glucosilceramida sintasa.

La ceramida se forma también en las células mediante las vías de catabolismo de los glucoesfingolípidos complejos. Por ejemplo, la descomposición de la esfingomielina a través de la acción de las esfingomielinasas da lugar a la formación de ceramida. Otro conjunto de enzimas que pueden regular los niveles de ceramida celular son las ceramidases, las cuales descomponen la ceramida en esfingosina.

Las características de la invención reducen el crecimiento no deseado del pelo en los mamíferos (incluyendo los seres humanos) - particularmente el crecimiento del pelo estimulado por los andrógenos - mediante el incremento de los niveles de ceramida celular. Los niveles de ceramida celular se pueden incrementar, por ejemplo, mediante la aplicación a la piel de una composición que incluye (1) un inhibidor específico de la glucosilceramida sintasa según se define en la reivindicación 1, (2) un inhibidor de la ceramidasa; (3) ceramida (N-acil-trans-D-eritro-2-amino-4-octadeceno-1,3-diol); (4) un análogo específico de la ceramida según se define en la reivindicación 1; y/o (5) un inductor de la esfingomielinasa. Un análogo de la ceramida es un derivado químico de la molécula de ceramida que bien se comporta como una ceramida o se degrada en las células a ceramida. El crecimiento no deseado del pelo que se reduce puede ser el crecimiento normal del pelo, o el crecimiento del pelo que se produce como un estado anormal o de enfermedad.

La presente invención se refiere al método no terapéutico indicado en la reivindicación 1 de la misma; al uso indicado en la reivindicación 9 de la misma; al uso indicado en la reivindicación 18 de la misma; al método indicado en la reivindicación 20 de la misma; y al uso nuevo no terapéutico indicado en la reivindicación 24 de la misma.

Otras características y ventajas de la invención pueden ser evidentes a partir de la descripción de las realizaciones preferidas de la misma, y a partir de las reivindicaciones.

Una composición preferida incluye al menos un compuesto que incrementa los niveles de ceramida celular cuando se aplica por vía tópica en un vehículo cosmética y/o dermatológicamente aceptable. La composición puede ser un

sólido, semi-sólido, o un líquido. La composición puede ser, por ejemplo, un producto cosmético y dermatológico en la forma de un, por ejemplo, ungüento, loción, espuma, crema, gel, o disolución hidro-alcohólica. La composición puede estar también en la forma de una preparación para el afeitado o para después del afeitado. El vehículo mismo puede ser inerte o puede poseer por sí mismo beneficios de tipo cosmético, fisiológicos y/o farmacéuticos.

5 Los inhibidores de la glucosilceramida sintasa son: 1-fenil-2-decanoilamino-3-morfolino-1-propanol (PDMP); 1-fenil-2-hexadecanoilamino-3-morfolino-1-propanol (PPMP); 1-fenil-2-hexadecanoilamino-3-pirrolidino-1-propanol (PPPP); 1-fenil-2-palmitoilamino-3-pirrolidino-1-propanol (P4); D-treo-4'-hidroxi-P4; D-treo-3',4'-metilenodioxifenil-P4; D-treo-trimetilenodioxifenil-P4; D-treo-3',4'-etilenodioxifenil-P4; N-butildesoxinojirimicina (NBDN); y N-(5-adamantano)-1-ilmetoxi)pentil)-desoxinojirimicina. Véase Rani y colaboradores, J. Biol. Chem. 270; 2859-2867, 1999; Olshefski y Ladisch, J. Neurichem. 70; 467-472, 1989; Lee y colaboradores, J. Biol. Chem. 274; 14662-14669, 1999; Neises y colaboradores, Biol. Cell 89; 121311, 1997; y Platt y colaboradores J. Biol. Chem. 269; 8362-8365, 1994.

15 Los ejemplos de inhibidores de la ceramida incluyen los siguientes: D-eritro-2-(N-miristoilamino)-1-fenil-1-propanol (D-eritro-MAPP); N-oleoil etanolamina; y (1S, 2R)- (+)-fenilpropanolamina. Véase Spinedi y colaboradores, Biochem. Biophys. Res. Commun. 255; 456-459, 1999; Vielawska y colaboradores, J. Biol. Chem. 271; 12646-12654, 1996.

20 Los compuestos análogos de la ceramida se seleccionan de los siguientes: N-acetilesfingosina (ceramida C₂); N-hexanoilesfingosina (ceramida C₆); N-octanoilesfingosina (ceramida C₈); N-octanoil-DL-eritro dihidroesfingosina; N-octil-D-eritroesfingosina; y N-tioacetilesfingosina; y 4-dodecanoil-amino-decanol-5. Véase Park y colaboradores, Exp. Mol. Med. 31; 142-150, 1999; Irie y Hirabayashi, J. Neurosci. Res. 54; 475-485, 1998; Karasayvas y colaboradores, Eur. J. Biochem. 236; 729-737, 1996; y Bektas y colaboradores, Exp. Dermatol. 7; 342-349, 1998.

25 La composición puede incluir más de un compuesto que incrementa los niveles de ceramida celular. Además, la composición puede incluir uno o más de otros agentes de reducción del crecimiento del pelo, tales como los descritos en la Patente de EE.UU. N° 4.885.289; Patente de EE.UU. N° 4.720.489; Patente de EE.UU. N° 5.132.293; Patente de EE.UU. N° 5.096.911, Patente de EE.UU. N° 5.095.007; Patente de EE.UU. N° 5.143.925; Patente de EE.UU. N° 5.328.686; Patente de EE.UU. N° 5.440.090. Patente de EE.UU. N° 5.364.885; Patente de EE.UU. N° 5.411.991; Patente de EE.UU. N° 5.648.394; Patente de EE.UU. N° 5.468.476; Patente de EE.UU. N° 5.475.763; Patente de EE.UU. N° 5.554.608; Patente de EE.UU. N° 5.674.477; Patente de EE.UU. N° 5.728.736, Patente de EE.UU. N° 5.652.273; Documento WO 94/27586; Documento WO 94/27563; y Documento WO 98/03149.

35 La concentración del compuesto que incrementa los niveles de ceramida celular en la composición puede variar en un amplio intervalo hasta una disolución saturada, y preferiblemente desde 0,1% a 30% en peso o incluso más; la reducción del crecimiento del pelo se incrementa a medida que se incrementa la cantidad de compuesto aplicado por unidad de área de la piel. La cantidad máxima aplicada eficazmente está limitada sólo por la velocidad a la que el compuesto penetra en la piel. Las cantidades eficaces pueden estar en el intervalo, por ejemplo, desde 10 a 3000 microgramos o más por centímetro cuadrado de piel.

40 Los vehículos se pueden formular con emolientes líquidos o sólidos, disolventes, agentes espesantes, humectantes, y/o polvos. Los emolientes incluyen alcohol estearílico, aceite de visón, alcohol cetílico, alcohol oleico, laurato de isopropilo, polietilen glicol, aceite de oliva, vaselina de petróleo, ácido palmítico, ácido oleico, y miristato de miristilo. Los disolventes pueden incluir alcohol etílico, isopropanol, acetona, dietilen glicol, etilen glicol, dimetil sulfóxido, y dimetil formamida.

50 La composición puede incluir también componentes que potencian la penetración del compuesto en la piel y/o en el sitio de acción. Los ejemplos de potenciadores de la penetración incluyen urea, polioxietilen éteres (por ejemplo Brij-30 y Laureth-4), 3-hidroxi-3,7,11-trimetil-1,6,10-dodecatieno, terpenos, ácidos grasos cis (por ejemplo, ácido oleico, y ácido palmitoleico), acetona, lauro-caprama, dimetilsulfóxido, 2-pirrolidona, alcohol oleico, estearato de 3-glicerilo, propanol-2, éster isopropílico del ácido mirístico, y propilen glicol.

55 La composición se puede formular también para proporcionar un depósito dentro o sobre la superficie de la piel para proporcionar una liberación lenta continua de un compuesto que incrementa los niveles de ceramida celular. La composición se puede formular también para que se evapore lentamente desde la piel, lo que permite al inhibidor un tiempo extra para que penetre en la piel.

60 Los siguientes son ejemplos de composiciones que incluyen un compuesto según se define en la reivindicación 1 que incrementa los niveles de ceramida celular.

Ejemplo 1

65 Se prepararon composiciones que contienen PDMP, PPMP, PPPP, (1S,2R)-(+)-fenilpropanolamina y N-oleoil-etanolamina en un vehículo que contiene 68% de agua, 16% de etanol, 5% de propilen glicol, 5% de dipropilen glicol, 4% de alcohol bencílico, y 2% de carbonato de propileno. Estas composiciones se ensayaron para determinar su efecto sobre el crecimiento del pelo; los resultados se proporcionan en la Tabla 1, junto con las cantidades en peso del compuesto relevante en la composición.

ES 2 290 151 T3

Ejemplo 2

Se prepararon composiciones que contienen ceramida-C₈, ceramida-C₆ y ceramida-C₂ en un vehículo que contiene 68% de agua, 16% de etanol, 5% de propilen glicol, 5% de dipropilen glicol, 4% de alcohol bencílico, y 2% de carbonato de propileno. Las composiciones se ensayaron para determinar su efecto sobre el crecimiento del pelo; los resultados se proporcionan en la Tabla 1, junto con las cantidades en peso del compuesto relevante en la composición.

Ejemplo 3

Se prepararon composiciones que incluyen los compuestos listados en el Ejemplo 1 (las mismas cantidades en peso) en un vehículo que contiene 80,84% de agua, 4,24% de estearato de glicerilo, 4,09% de estearato de polietilen glicol 100, 3,05% de alcohol cetearílico, 2,5% de cetareth-20, 2,22% de aceite mineral, 1,67% de alcohol estearílico y 0,56% de dimeticona.

Ejemplo 4

Se prepararon composiciones que incluyen los compuestos listados en el Ejemplo 2 (las mismas cantidades en peso) en un vehículo que contiene 80,84% de agua, 4,24% de estearato de glicerilo, 4,09% de estearato de polietilen glicol 100, 3,05% de alcohol cetearílico, 2,5% de cetareth-20, 2,22% de aceite mineral, 1,67% de alcohol estearílico y 0,56% de dimeticona.

Opcionalmente, se puede añadir a una composición uno de los potenciadores de la penetración mencionados previamente. Un potenciador de la penetración se puede añadir en concentraciones de, por ejemplo, 0,10% a 20% en peso. La concentración preferida es del 0,5% al 5% en peso.

La composición se debe aplicar por vía tópica a una zona seleccionada del cuerpo de la cual se desea reducir el crecimiento del pelo. Por ejemplo, la composición se puede aplicar en la cara, particularmente en la zona de la barba de la cara, es decir, la mejilla, cuello, labio superior y barbilla. La composición se puede usar también como un auxiliar de otros métodos de eliminación del pelo que incluyen el afeitado, el tratamiento con cera, la depilación mecánica, la depilación química, la electrólisis y la eliminación del pelo ayudada por láser.

La composición se puede aplicar también en las piernas, brazos, torso o axilas. La composición es particularmente adecuada para la reducción del crecimiento no deseado del pelo en las mujeres que padecen hirsutismo u otras afecciones. En los seres humanos, la composición se debe aplicar una vez o dos veces al día, o incluso más frecuentemente, para conseguir una reducción del crecimiento del pelo que se pueda percibir. La percepción de un crecimiento reducido del pelo se puede producir tan pronto como a las 24 horas ó 48 horas (por ejemplo, entre los intervalos normales del afeitado) después de su uso o podría llevar hasta, por ejemplo, tres meses. La reducción del crecimiento del pelo se demuestra, cuando, por ejemplo, la velocidad de crecimiento del pelo se ralentiza, se reduce la necesidad de su eliminación, el sujeto percibe pérdida de pelo en el sitio tratado, o cuantitativamente, cuando el peso de pelo eliminado (es decir la masa de pelo) se reduce.

Ensayo en Hámster Golden Syrian

Los hámsteres Golden Syrian se consideran modelos aceptables de crecimiento del pelo en la barba de los seres humanos ya que ellos presentan órganos laterales de forma ovalada, uno en cada lado, y cada uno de aproximadamente 8 mm de diámetro mayor. Estos órganos producen un pelo fino de color claro típico del pelaje animal encontrado en el cuerpo. En respuesta a los andrógenos los órganos laterales producen un pelo oscuro grueso similar al pelo de la barba de los seres humanos machos. Para evaluar la eficacia de una composición que incluye un compuesto que incrementa los niveles de ceramida celular, los órganos laterales de cada uno de un grupo de hámsteres se depilaron mediante la aplicación de un depilatorio químico a base de tioglicolato (Surgex) y/o se afeitaron. A un órgano de cada animal se aplicó 10 µl de vehículo solo una vez al día, mientras que al otro órgano de cada animal se aplicó una cantidad igual de vehículo que contiene un compuesto que incrementa los niveles de ceramida celular. Después de trece aplicaciones (una aplicación por día durante cinco días por semana) los órganos laterales se afeitaron y se pesó la cantidad de pelo recuperada (masa de pelo) de cada uno. El porcentaje de reducción del crecimiento del cabello se calcula mediante sustracción del valor de la masa de pelo (mg) del lado tratado con el compuesto de ensayo del valor de la masa de pelo del lado tratado con el vehículo; el valor delta obtenido se divide a continuación por el valor de la masa de pelo del lado tratado con el vehículo, y el número que se obtiene se multiplica por 100.

El ensayo descrito anteriormente se denominará en la presente invención como el ensayo "Hámster Golden Syrian". Las composiciones preferidas proporcionan una reducción del crecimiento del pelo de al menos aproximadamente un 15%, más preferiblemente de al menos aproximadamente un 25%, y lo más preferiblemente de al menos aproximadamente un 35% cuando se ensayan en el ensayo Hámster Golden Syrian. Las composiciones descritas en los Ejemplos 1 y 2 (anteriormente) se ensayaron con el ensayo Hámster Golden Syrian; los resultados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1				
Reducción de la masa de pelo				
Compuesto	% en peso	% de reducción	Izquierdo (mg)	Derecho (mg)
PDMP	10	40 ± 11	0,99 ± 0,11	1,83 ± 0,20
PPMP	2,5	32 ± 14	1,60 ± 0,44	2,37 ± 0,66
PPPP	1	42 ± 13	0,95 ± 0,31	1,80 ± 0,49
(1S, 2R) - (+)-fenil propanolamina	10	40 ± 6	1,72 ± 0,27	2,96 ± 0,46
N-oleoiletanolamina	10	48 ± 6	1,00 ± 0,11	1,99 ± 0,16
Ceramida C ₈	1	17 ± 12	1,18 ± 0,17	1,49 ± 0,12
Ceramida C ₆	3	30 ± 5	1,53 ± 0,16	2,23 ± 0,28
Ceramida C ₆	2,5	40 ± 7	1,99 ± 0,39	3,17 ± 0,39
Ceramida C ₂	1	16 ± 7	1,67 ± 0,18	2,14 ± 0,33
Ceramida C ₂	3	42 ± 7	1,85 ± 0,34	3,10 ± 0,36

Ensayo de la Glucosilceramida Transferasa

Este ensayo ha sido descrito previamente de manera general por Matsuo y colaboradores, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1116:97-103, 1992. El ensayo mide la transferencia de glucosa desde la ³H-UDP-glucosa al sustrato de ceramida-sílice-60 en la presencia de homogeneizados de tejido de folículo capilar, obtenidos del órgano lateral. El sustrato sólido de ceramida se preparó mediante disolución de la ceramida en cloroformo y la adición de sílice 60 para dar una concentración de 20 mg de ceramida/mg de sílice. El cloroformo se evaporó bajo una corriente de gas de N₂ y la sílice-ceramida se permitió secar completamente antes de su uso en el ensayo. Cada una de las mezclas de reacción en el ensayo contenía 10 mg del sustrato sólido de ceramida, 50 µl de extracto de folículo capilar del órgano lateral del hámster, 100 µl de ³H-UDP-glucosa (0,54 mM), 250 µl de tampón MOPS (25 mM, pH 6,5) que contiene MgCl₂ 1 mM, MnCl₂ 2 mM, NADH 0,5 mM, y bien 600 µl de H₂O ó 600 µl de H₂O que contiene un compuesto que es un inhibidor de la glucosilceramida transferasa. Las reacciones se iniciaron con la adición de la glucosa marcada radiactivamente y se incubaron a 37°C con suaves sacudidas. El fondo se determinó usando sílice 60 sin ceramida. Las mezclas de reacción se micro-centrifugaron y la sílice-ceramida se lavó 3 veces con 1 ml de una disolución salina tampón de fosfato (PBS) y se analizó usando un líquido de centelleo.

Las condiciones del ensayo se optimizaron de tiempo en tiempo, la concentración de proteína y la concentración del sustrato de ceramida. La actividad catalítica de la enzima se encontró que era lineal con el tiempo durante un período de incubación de 20 minutos a 37°C. La linealidad con respecto a la concentración de la proteína se mostró que estaba en el intervalo desde 10 microgramos/mL hasta 75 microgramos/mL. También, la actividad de la glucosilceramida sintasa era lineal con respecto a la concentración del sustrato de ceramida en el intervalo desde 5 µg/mL hasta 50 µg/mL estando la actividad de la enzima en el intervalo desde 625 - 850 pmoles/minuto x mg de proteína.

Los extractos de folículo capilar se encontraron que poseían la actividad de la glucosilceramida sintasa. Diversos inhibidores conocidos de la glucosilceramida sintasa (PDPM, PPMP y PPPP) que mostraron que reducían la masa de pelo mostraron también que inhibían la actividad de la glucosilceramida sintasa del folículo capilar obtenido del órgano lateral, *in vitro* (Tabla 2). En general, la inhibición de la enzima depende de la concentración del inhibidor usado, de tal manera que el incremento de la dosis de inhibidor da lugar a una inhibición incrementada de la enzima.

ES 2 290 151 T3

Tabla 2			
Inhibición de la actividad de la glucosilceramida sintasa del folículo capilar			
<u>Inhibidor</u>	Actividad de control <u>sin</u> <u>inhibidor</u>	Actividad <u>con</u> <u>inhibidor</u> <u>presente</u>	<u>Porcentaje de</u> <u>inhibición</u>
(pmoles de ^3H -glucosa incorporada/min x mg de proteína)			
PDMP 0,5 mM	177 $\pm$ 15	15 $\pm$ 10	92 $\pm$ 6
PPMP 0,5 mM	173 $\pm$ 15	46 $\pm$ 11	73 $\pm$ 6
PPPP 0,5 mM	190 $\pm$ 16	149 $\pm$ 31	22 $\pm$ 9

Generalmente, los inhibidores preferidos de la glucosilceramida sintasa inhibieron la actividad de la glucosilceramida sintasa del folículo capilar en al menos un 20% y preferiblemente en un 50% cuando se ensayaron en el ensayo descrito anteriormente usando la concentración de 0,5 mM del inhibidor usada para generar los resultados del ensayo en la Tabla 2.

Se puede usar un ensayo análogo para ensayar los inhibidores de la ceramidasa para determinar su efecto de inhibición sobre la actividad de la ceramidasa del folículo capilar.

La actividad de la ceramidasa se puede medir mediante la incubación de una disolución tampón 40 mM que contiene sacarosa 0,21 M, EDTA 0,8 mM, 4 mg/ml de desoxicolato, 0,7 mg/ml de Triton X-100, ^3H ceramida 0,62 mM y 0,1-0,5 mg de proteína. El compuesto a ensayar para determinar la inhibición de la ceramidasa se puede añadir en concentraciones 0,5 mM. A continuación se incubaron las reacciones a 37°C durante 60 minutos y las reacciones se detuvieron mediante las adiciones de 100 μl de ácido palmítico y 4 ml de ácido cítrico del 10% y 5 ml de hexano. Los tubos se mezclaron y se centrifugaron y la fase de hexano se transfirió a un tubo limpio y la fase acuosa se volvió a extraer con una cantidad adicional de 5 ml de hexano. Los extractos de hexano se combinaron y se secaron bajo nitrógeno. El residuo se disolvió en 100 μl de cloroformo y se separó una parte alícuota de 4 μl para su análisis mediante centelleo líquido. Una parte alícuota de 16 μl se aplicó a una placa de capa fina, la cual a continuación se reveló con hexano, éter etílico, y ácido acético (70:30:1). La liberación de ácido graso libre se determina mediante un análisis radio-químico para indicar la actividad de la ceramidasa. Véase generalmente, Wertz, P. W. y Downing, D., "Ceramide activity in porcine epidermis", FBSS 268 (1): 110-112, 1990. Generalmente, los inhibidores preferidos de la ceramidasa inhibirán la actividad de la ceramidas del folículo capilar en al menos un 20% y preferiblemente en al menos un 50% cuando se ensaya en el ensayo anterior.

REIVINDICACIONES

1. Un método no terapéutico de reducir el crecimiento del pelo en los mamíferos que comprende: seleccionar una zona de la piel de la cual se desea reducir el crecimiento del pelo; y aplicar a dicha zona de la piel una composición dermatológicamente aceptable que comprende un compuesto que incrementa los niveles de ceramida celular en una cantidad eficaz para reducir el crecimiento del pelo seleccionado de:

inhibidores de la glucosilceramida sintasa, seleccionados a partir de 1-fenil-2-decanoil-amino-3-morfolino-1-propanol, 1-fenil-2-hexadecanoil-amino-3-morfolino-1-propanol, 1-fenil-2-hexadecanoil-amino-3-pirrolidino-1-propanol, 1-fenil-2-palmitoilamino-3-pirrolidino-1-propanol, D-treo-4'-hidroxi-1-fenil-2-palmitoilamino-3-pirrolidino-1-propanol, D-treo-3',4'-metilenodioxifenil-1-fenil-2-palmitoilamino-3-pirrolidino-1-propanol, D-treo-trimetilenodioxifenil-1-fenil-2-palmitoilamino-3-pirrolidino-1-propanol, D-treo-3',4'-etilenodioxifenil-1-fenil-2-palmitoilamino-3-pirrolidino-1-propanol; N-butildesoxinojirimicina (NBDN); y N-(5-adamantano)-1-il-metoxipentil)-desoxinojirimicina;

inhibidores de la ceramidasa;

ceramida;

compuestos análogos de la ceramida seleccionados de N-hexanoilesfingosina, N-octanoilesfingosina, N-octanoil-DL-eritro dihidroesfingosina, N-octil-D-eritro-esfingosina, N-tioacetilesfingosina, 4-dodecanoilamino-decan-5-ol, y N-acetilesfingosina;

y compuestos inductores de la esfingomielinasa.

2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la concentración de dicho compuesto en dicha composición está entre 0,1% y 30%, en peso.

3. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto proporciona una reducción en el crecimiento del pelo de al menos un 15% cuando se ensaya en el ensayo de Hámster Golden Syrian.

4. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto proporciona una reducción en el crecimiento del pelo de al menos un 25% cuando se ensaya en el ensayo de Hámster Golden Syrian.

5. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto se aplica a la piel en una cantidad desde 10 a 3000 microgramos de dicho compuesto por centímetro cuadrado de piel.

6. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que dicho mamífero es un ser humano.

7. El método de acuerdo con la reivindicación 6, en el que dicha zona de la piel está en la cara, pierna, brazo, axila o torso del ser humano.

8. El método de acuerdo con la reivindicación 6, en el que la composición se aplica a la zona de la piel en conjunción con el afeitado.

9. Uso del compuesto indicado en la reivindicación 1, que incrementa los niveles de ceramida celular para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del hirsutismo.

10. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho crecimiento del pelo comprende el crecimiento del pelo estimulado por los andrógenos.

11. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la composición incluye además un segundo compuesto que da lugar también a una reducción del crecimiento del pelo.

12. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el inhibidor de la glucosilceramida sintasa inhibe la actividad de la glucosilceramida sintasa en los folículos capilares en al menos un 20%.

13. El método de acuerdo con la reivindicación 12, en el que el inhibidor de la glucosilceramida sintasa inhibe la actividad de la glucosilceramida sintasa en los folículos capilares en al menos un 50%.

14. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el inhibidor de la ceramidasa se selecciona de D-eritro-2-(N-miristoilamino)-1-fenil-1-propanol, N-oleoil etanolamina, y (1S, 2R)-(+)-fenilpropanolamina.

15. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el inhibidor de la ceramidasa inhibe la actividad de la ceramidasa en los folículos capilares en al menos un 20%.

ES 2 290 151 T3

16. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el inhibidor de la ceramidasa inhibe la actividad de la ceramidasa en los folículos capilares en al menos un 50%.

5 17. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, en el que dicha aplicación de dicha composición tiene un efecto cosmético.

10 18. El uso del compuesto indicado en la reivindicación 1, que es (1) un inhibidor de la glucosilceramida sintasa, (2) un inhibidor de la ceramidasa; (3) ceramida; (4) un compuesto análogo de la ceramida; y/o (5) un compuesto inductor de la esfingomielinasa para la fabricación de un medicamento para inhibir el crecimiento del pelo en los mamíferos.

19. El uso de acuerdo con la reivindicación 18, en el que dicho compuesto es según se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14.

15 20. Un método de producir una composición para la inhibición del crecimiento del pelo en los mamíferos, que comprende seleccionar el compuesto indicado en la reivindicación 1 precedente y combinar dicho compuesto, en una cantidad eficaz para reducir el crecimiento del pelo, con un vehículo o excipiente no tóxico, y dermatológicamente aceptable.

20 21. Un método de acuerdo con la reivindicación 20, en el que dicho vehículo o excipiente está adaptado para ser extendido sobre la piel de un mamífero.

22. Un método de acuerdo con la reivindicación 20 ó 21, en el que se produce una composición cosmética.

25 23. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 20-22 precedentes, en el que dicho compuesto se selecciona de D-eritro-2-(N-miristoilamino)-1-fenil-1-propanol, N-oleoil etanolamina, y (1S, 2R)-(+)-fenilpropa-nolamina.

24. El uso nuevo no terapéutico indicado en la reivindicación 1, para la reducción del crecimiento del pelo.