



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 353 694**

51 Int. Cl.:  
**A61K 47/32** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04742064 .1**

96 Fecha de presentación : **16.07.2004**

97 Número de publicación de la solicitud: **1652535**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **03.05.2006**

54 Título: **Formulaciones mucoadhesivas semisólidas.**

30 Prioridad: **16.07.2003 ES 200301672**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**04.03.2011**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**04.03.2011**

73 Titular/es: **ITALFARMACO, S.A.**  
**San Rafael, 3**  
**28108 Alcobendas, Madrid, ES**

72 Inventor/es: **Igartua Olaechea, Manuela;**  
**Rodríguez Gascón, Alicia;**  
**Acebrón Fernández, Álvaro;**  
**Hernández Martín, Rosa María;**  
**Pedraz Muñoz, José Luis y**  
**Campuzano García, Ana**

74 Agente: **Arias Sanz, Juan**

ES 2 353 694 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).

**FORMULACIONES MUCOADHESIVAS SEMISÓLIDAS****DESCRIPCIÓN**

5           Esta invención se refiere a formulaciones mucoadhesivas semisólidas de aplicación vaginal, que comprenden al menos dos polímeros gelificantes bioadhesivos y estriol. También se refiere a procedimientos para prepararlas y a sus usos en la prevención o el tratamiento de atrofia urogenital por déficit  
10           estrogénico.

## ESTADO DE LA TÉCNICA

          El término bioadhesión se utiliza para definir la habilidad de un material natural o sintético de pegarse a membranas  
15           biológicas, resultando en un íntimo contacto del material con el tejido por un período más o menos prolongado de tiempo. La mucoadhesión se refiere a un caso especial de bioadhesión en el que el tejido es una membrana mucosa.

          Estos conceptos han recibido un grado significativo de atención debido a su potencial aplicación en la administración  
20           de fármacos. Aunque existe debate acerca del mecanismo de bioadhesión, la mayoría de los investigadores concuerdan en que este fenómeno es de interés porque incrementa el tiempo de residencia de una forma farmacéutica en el sitio de absorción, y  
25           esto puede resultar en un aumento de la biodisponibilidad del fármaco.

          Una formulación bioadhesiva de liberación controlada puede mejorar la eficacia y/o la seguridad de un tratamiento ayudando a mantener las concentraciones de fármaco entre los niveles  
30           efectivo y tóxico, localizándolo en un tejido específico, aumentando la intimidad y duración de contacto entre el complejo fármaco-polímero y la superficie tisular.

          Por otra parte, una composición bioadhesiva cuando es administrada por vía tópica (por ejemplo vaginalmente) no  
35           experimenta metabolismo de primer paso por el hígado.

          Los productos farmacéuticos bioadhesivos se pueden presentar en distintas formas (partículas, suspensiones,

comprimidos, supositorios, geles, etc.) y ser administrados por diferentes vías (ocular, nasal, vaginal, gastrointestinal, rectal, dérmica, etc.).

La administración de fármacos por vía vaginal puede ser una  
5 alternativa preferida en ciertos casos aunque, para que la terapia sea exitosa, se deben superar algunas dificultades.

Las formulaciones a utilizar por esta vía deben ser cuidadosamente diseñadas para no producir efectos indeseados en la paciente que conduzcan al incumplimiento del tratamiento. Se  
10 ha visto que comprimidos y supositorios pueden causar molestias (irritación), óvulos y cremas pueden producir flujo vaginal excesivo.

Además, es preferible que las composiciones posean buenas propiedades bioadhesivas pues, debido a las características  
15 anatómicas y fisiológicas de la vagina, es muy difícil lograr que permanezcan adheridas a sus paredes y puedan liberar el fármaco en esta área durante un período de tiempo prolongado.

ES2173203 describe una formulación de polímero bioadhesivo que comprende un agente anti-STD (por ejemplo nonoxinol-9 o  
20 antimetabolitos tales como AZT) y al menos un polímero de ácido policarboxílico entrecruzado. Se da a conocer también una composición que comprende nonoxinol-9, Policarbofil y Carbopol 934P.

W003037382 describe una formulación de liberación  
25 prolongada que comprende una fuente de peróxido y una mezcla de bioadhesivo que comprende un polímero policarboxílico hinchable en agua, insoluble en agua, entrecruzado (por ejemplo policarbofil) y, preferiblemente, un carbómero.

W00128515 describe una composición farmacéutica para el  
30 tratamiento de erosiones y/o ulceración epitelial de la mucosa que comprende una sustancia bioadhesiva, una sustancia biológicamente activa que tiene actividad inhibidora de MMP y opcionalmente un vehículo fisiológicamente aceptable. Como sustancia bioadhesiva, se menciona que puede ser al menos una  
35 seleccionada de carbómeros o Policarbofil.

W09507699 describe una formulación que comprende progesterona y un polímero de ácido policarboxílico entrecruzado

(por ejemplo polycarbofil). El ejemplo da a conocer una composición que comprende glicerina, aceite mineral, glicérido de aceite de palma hidrogenado, ácido sórbico, metilparabeno, progesterona, agua, polycarbofil y carbopol 934P.

5 EP1325752 describe una composición potenciadora de la permeación cutánea que comprende un ácido graso o alcohol graso saturado y un monoalquil éter de dietilenglicol en un vehículo integrado por un alcanol C1-C4, un polialcohol y agua purificada.

10 WO9629056 describe composiciones que comprenden clotrimazol y un carbómero.

Pinkerton, J. V.; Santen, R. Endocrine Reviews 20(3): 308-320 enseña que la aplicación vaginal de dosis bajas de estradiol o estrona puede ser eficaz en el tratamiento de atrofia urogenital, mientras que se mantienen bajos niveles sistémicos.

15 EP 0431719, EP 0500807, EP 0719146, WO 9610989, WO 9913862 y WO 0124788 describen formulaciones bioadhesivas con un polímero de ácido carboxílico entrecruzado (Policarbofil) y un polímero gelificante (preferiblemente Carbopol 934P) que pueden contener diferentes principios activos.

20 FR 2609391 y GB 2199495 describen supositorios bioadhesivos de aplicación vaginal formados por, al menos, un polímero hidrofílico (NaCMC, HPMC o Carbopol) y un fármaco (antifúngicos del tipo nistatina o imidazólicos).

25 WO 85/02092 describe composiciones bioadhesivas para aplicación en piel o membranas mucosas que incluyen un polímero entrecruzado carboxi-funcional (Policarbofil) y un agente terapéutico.

30 US 5942243 describe una composición mucoadhesiva en forma de hidrogel que comprende uno o más fármacos (clotrimazol, nonoxinol-9, progesterona, etc.) y un copolímero termoplástico.

35 EP 0818194 describe composiciones hidratantes adhesivas a biomembranas que comprenden preferiblemente un polímero entrecruzado con grupos carboxilo (Stablese, Carbopol 934P), un polímero soluble en agua (Gantrez, NaCMC) y un compuesto polihidroxilado (glicerina, propilenglicol). Opcionalmente

pueden contener fármacos (agentes antifúngicos, agentes antibacterianos, antivirales, espermicidas, etc.)

WO 97/15314 describe una composición farmacéutica vaginal en forma de un gel que contiene una fuente de peróxido (peróxido de hidrógeno), un sistema buffer (ácido cítrico / citrato), un  
5 polímero bioadhesivo acuosoluble (Carbopol 974P) y, opcionalmente, un agente terapéutico adicional (nonoxinol-9, etc.)

WO 98/20872 describe formulaciones tópicas que comprenden un lípido microbicida (monocarbin) en un agente formador de  
10 hidrogel (Carbopol, povidona, NaCMC, etc.)

WO 98/05303 describe complejos mucoadhesivos de Policarbofil y antifúngicos o antiprotozoarios (de tipo imidazol o triazol) útiles en el tratamiento tópico de afecciones de  
15 membranas mucosas, y formulaciones en gel que los contienen.

WO 00/47144 describe una composición bioadhesiva vaginal basada en una formulación sinérgica de carragenina, agarosa, polímeros de ácido acrílico (Pemulen) o Policarbofil y agente terapéutico.

WO 00/50078 describe microesferas para aplicación en membranas mucosas que comprenden al menos un antígeno y un bioadhesivo (HPMC, Carbopol, Policarbofil).

En suma, muchas formulaciones farmacéuticas bioadhesivas han sido estudiadas en los últimos años, no siempre con éxito.  
25 Existe, por tanto, la necesidad de disponer de nuevas composiciones con propiedades bioadhesivas y organolépticas optimizadas, en particular para aplicación vaginal.

La vagina es un tubo fibromuscular hueco formado por tres capas tisulares: mucosa, muscular y adventicia.

30 La mucosa vaginal está constituida por epitelio escamoso estratificado no queratinizado, carente de glándulas.

El epitelio vaginal es sensible a hormonas y manifiesta cambios cíclicos y dependientes de la edad tanto morfológicos como funcionales. Hasta la pubertad se produce una atrofia  
35 física. Durante la pubertad, por acción de las hormonas ováricas, el epitelio incrementa su grosor y resistencia para

comenzar a ser más o menos atrófico una vez instaurada la menopausia.

La mucosa vaginal se continúa hacia el exterior, a nivel de los genitales externos, formando la mucosa vulvar, constituida  
5 por un epitelio similar al vaginal.

La vagina está colonizada por flora bacteriana mixta en la que predominan los lactobacilos. Hasta la menopausia, el pH normal está entre 3,5 y 4,5. En las mujeres postmenopáusicas, el pH vaginal pasa a ser relativamente alto y pierde las colonias  
10 de lactobacilos.

La funcionalidad fisiológica de la zona vulvovaginal puede facilitar, en ciertas circunstancias, el establecimiento de patologías de base inflamatoria o infecciosa.

Las condiciones inflamatorias que afectan a la mucosa vaginal y pueden afectar también a la vulva son denominadas  
15 vulvovaginitis. Pueden ser secundarias a múltiples causas incluyendo infecciones, irritación, alergia o enfermedades sistémicas.

Para el alivio sintomático del prurito vaginal extremo, especialmente en las vulvovaginitis pediátricas, se suele recurrir a la administración tópica de adrenocorticoides (en piel o membranas mucosas externas).  
20

Las infecciones vulvovaginales requieren del tratamiento con distintos fármacos por vía oral o intravaginal, por ejemplo  
25 antisépticos, antibióticos, antimicóticos o antivirales, dependiendo de su etiología.

La vulvovaginitis atrófica se suele tratar con geles hidratantes tópicos (vaginales), sin principio activo o con estrógenos, dependiendo de su causa.

Existen además otras indicaciones para el tratamiento por  
30 vía vaginal, tanto para el abordaje de problemas locales como de trastornos sistémicos.

La dificultad o imposibilidad de concebir o mantener el embarazo puede requerir de estimulación/apoyo de la fase lútea  
35 en mujeres en edad fértil.

Asimismo, en los abortos de repetición o amenazas de aborto se recurre a la administración empírica de progesterona natural por vía vaginal.

5 En los programas de reproducción asistida (por diferentes técnicas) se suele recurrir a la administración de hormonas, preferiblemente progesterona natural, tanto por vía oral como vaginal. En algunos de estos programas se administra también estriol por vía vaginal.

10 En inducción del parto o finalización de la gestación, se contempla administrar prostaglandinas o sus análogos, con vistas a la maduración y dilatación del cérvix uterino y la estimulación uterina.

15 En patologías cicatriciales, por ejemplo luego de episiotomía postparto o tras conización cervical, se suelen administrar por vía tópica fármacos que favorecen la cicatrización.

Por otra parte, ante la necesidad de métodos anticonceptivos, se ha propuesto la administración de gestágenos y estrógenos por vía vaginal.

20

#### SUMARIO DE LA INVENCION

25 Existe, por tanto, la necesidad de contar con composiciones farmacéuticas mucoadhesivas vaginales de fácil aplicación, alta capacidad de bioadhesión, no irritantes ni incómodas para la paciente y que permitan la liberación de principios activos según los objetivos preventivos y/o terapéuticos deseados.

30 Los inventores de la presente invención han encontrado que la combinación de al menos un primer polímero gelificante bioadhesivo del tipo de ácido poliacrílico entrecruzado con divinilglicol y al menos un segundo polímero gelificante bioadhesivo derivado de ácido acrílico reticulado con alilsacarosa o alilpentaeritritol permite que se obtengan formulaciones semisólidas con buena capacidad bioadhesiva. En otras palabras, permite un contacto directo prolongado de un agente farmacológicamente activo con biomembranas, garantizando  
35 una acción óptima sobre las mismas sin producir mayores molestias al paciente.

Esta combinación de polímeros significa también que las formulaciones resultantes son hidratantes y tienen propiedades organolépticas agradables que, junto con su alta bioadhesión, contribuyen a mejorar el cumplimiento de tratamientos preventivos o terapéuticos.

En consecuencia, un primer aspecto de la presente invención se refiere a formulaciones mucoadhesivas semisólidas que comprenden al menos:

- 10 - un primer polímero gelificante bioadhesivo del tipo del ácido poliacrílico entrecruzado con divinilglicol en una cantidad entre 0,1% y 5% en peso de la formulación,
- un segundo polímero gelificante bioadhesivo derivado del ácido acrílico entrecruzado con alilsacarosa o alilpentaeritritol, en una cantidad entre 0,1% y 5% en peso de la formulación,
- 15 - un agente hidratante/humectante en una cantidad entre 0% y 20% en peso de la formulación,
- un componente graso/lipofílico, en una cantidad entre 0% y 50% en peso de la formulación,
- 20 - un agente solubilizante/tensioactivo en una cantidad entre 0% y 70% en peso de la formulación,
- un agente neutralizante en cantidad suficiente para situar el pH de la formulación entre 2 y 6,
- estriol en una cantidad entre 0,001% y 0,05% en peso de la formulación,
- 25 - agua, en cantidad suficiente para completar la formulación.

Además, la combinación de polímeros de la presente invención significa que los geles mucoadhesivos resultantes muestran gran versatilidad. Por tanto, pueden incorporar cantidades muy dispares de fármaco (desde centésimas a decenas de gramos de estriol/100 gramos de formulación) manteniendo excelente bioadhesión y logrando eficacia profiláctica o terapéutica.

35 Asimismo, la selección cualitativa y cuantitativa de los componentes de las formulaciones mucoadhesivas de la presente invención permite ajustar el perfil de cesión del fármaco al

objetivo profiláctico y/o terapéutico buscado en cada caso, haciendo posible espaciar las aplicaciones (hasta una aplicación diaria o incluso más) y/o obtener un producto seguro.

5 En suma, las formulaciones de la presente invención pueden aplicarse fácilmente por vía vaginal, tienen buena capacidad bioadhesiva, no provocan irritación o molestias en el paciente, tienen propiedades hidratantes y permiten la liberación controlada de estriol.

10 Otro aspecto de la presente invención se refiere a procedimientos para la preparación de las formulaciones mucoadhesivas de la presente invención.

15 Otro aspecto de la presente invención se refiere al uso de los geles mucoadhesivos de la presente invención en la preparación de un medicamento que va a aplicarse a membranas mucosas por vía vaginal.

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

20 Fig. 1 gráfico que ilustra la bioadhesión *in vitro* (indicada en términos de Area) de cinco formulaciones (A, B, C, D y E) de acuerdo a la presente invención.

Fig. 2 gráfico que ilustra la bioadhesión *in vitro* comparada de dos formulaciones de acuerdo a la presente invención (G y H) con un producto comercialmente disponible (F)

25 Fig. 3 gráfico que ilustra la bioadhesión *in vivo* de una formulación de estriol 0,005% a la mucosa vaginal de ratas ovariectomizadas.

30 Fig. 4 gráfico que ilustra la bioadhesión *in vivo* de una formulación de estriol 0,005% a la mucosa vaginal de ratas ovariectomizadas.

Fig. 5 gráfico que ilustra los perfiles de cesión *in vitro* de cuatro formulaciones (K, L, Q, R) de acuerdo a la presente invención

35 Fig. 6 gráfico que ilustra los perfiles de cesión *in vitro* de seis formulaciones de estriol 0,05% con distintos excipientes (J, K, M, N, O, P).

## DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

Una clase preferida de polímeros gelificantes bioadhesivos a utilizar en esta invención es la constituida por polímeros de ácido acrílico entrecruzado con alilsacarosa o aliléteres del pentaeritritol, disponibles comercialmente bajo la denominación Carbopol® (Carbomer) por B.F.Goodrich Chemical Co.

Carbopol 934P se suele considerar el candidato ideal para administración vaginal. Durante el desarrollo de las formulaciones de la presente invención, se ha encontrado sorprendentemente que otros polímeros, por ejemplo Carbopol® 971P, pueden ser empleados con muy buenos resultados.

Otra clase preferida de polímero gelificante bioadhesivo a emplear en la presente invención es la constituida por polímeros de ácido acrílico entrecruzado con divinilglicol, disponible comercialmente con la marca Noveon® AA-1 Polycarbophil USP (Policarbofil AA1).

En particular, la combinación de Carbopol 971P® NF y Policarbofil AA1 confiere excelentes propiedades bioadhesivas a las formulaciones presentes.

Una realización de la presente invención se refiere a formulaciones mucoadhesivas semisólidas que comprenden al menos:

- un primer polímero gelificante bioadhesivo del tipo del ácido poliacrílico entrecruzado con divinilglicol, en particular Policarbofil AA1 en una cantidad entre 0,1% y 5% en peso de la formulación,
- un segundo polímero gelificante bioadhesivo derivado del ácido acrílico entrecruzado con alilsacarosa o alilpentaeritritol, en particular Carbopol 971P, en una cantidad entre 0,1% y 5% en peso de la formulación,
- un agente hidratante/humectante seleccionado del grupo formado por glicerina, propilenglicol, dipropilenglicol, polietilenglicoles (por ejemplo PEG-4, PEG-6, PEG-8), poligliceroles (como diglicerol o triglicerol), sorbitol, pentaeritriol, derivados de metiléter de glucosa, en una cantidad entre 0% y 20% en peso de la formulación,

- 5 - un componente graso/lipofílico, seleccionado del grupo formado por parafina, vaselina, aceite mineral, aceites vegetales (por ejemplo de palma, maíz, cacahuete), aceites vegetales hidrogenados, en una cantidad entre 0% y 50% en peso de la formulación,
- 10 - un agente solubilizante/tensioactivo seleccionado del grupo formado por ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol (como Labrafil M 1944) y derivados polioxietilenados de aceite de ricino (como Cremophor EL), fosfolípidos y sus mezclas (como lecitina de huevo, lecitina de soja, etc.), ésteres de ácidos grasos de polioxietilensorbitano (por ejemplo Polisorbatos 60 y 80), alquilsulfatos de sodio (como laurilsulfato de sodio),  
15 ésteres de sorbitano, monoestearato de glicerilo, polioxietilen alquil éteres, estearatos de polioxietileno en una cantidad entre 0% y 70% en peso de la formulación,
- un agente neutralizante, seleccionado del grupo formado por disoluciones acuosas de NaOH, KOH y trietanolamina, en  
20 cantidad suficiente para situar el pH de la formulación entre 2 y 6,
- estriol en una cantidad entre 0,001% y 0,05% en peso de la formulación,
- agua, en cantidad suficiente para completar la formulación.

25 En una realización más preferida, se usa Policarbofil AA1 en una cantidad entre 0,5% y 2,5%, y más preferiblemente entre 0,75% y 1,5%, mientras que se usa Carbopol 971 P en una cantidad entre 0,1% y 1%, y más preferiblemente entre 0,25% y 0,5% en peso de la formulación.

30 Cuando las formulaciones de la presente invención contienen un agente hidratante, éste estará preferiblemente en una cantidad entre 5% y 15% en peso de la formulación.

35 Cuando incluyen un componente graso y/o solubilizante, éste estará preferiblemente en una cantidad entre 5% y 50%, y más preferiblemente entre 10% y 40% en peso de la formulación.

Si es también necesario incluir un agente tensioactivo, éste estará preferiblemente en una cantidad entre 0,1% y 15% en peso de la formulación.

Además de los componentes antes mencionados, las formulaciones de la presente invención pueden incluir también otros aditivos farmacéuticamente aceptables.

Aditivos usuales incluyen agentes conservantes seleccionados entre parabenos y sus sales (por ejemplo metilparabeno, propilparabeno), ácido sórbico y sus sales, ácido benzoico y sus sales, etc. en una cantidad entre 0,02% y 1% en peso de la formulación.

Otros aditivos que pueden ser utilizados son ajustadores del pH, aromatizantes, agentes colorantes e incrementadores de la penetración.

Los ajustadores del pH incluyen agentes acidificantes seleccionados de disoluciones acuosas de HCl, ácido láctico y ácido acético.

Otra realización especialmente preferida se refiere a formulaciones mucoadhesivas que contienen estriol en una cantidad entre 0,001 y 0,05%, preferiblemente entre 0,001 y 0,002% en peso de la formulación. Estas composiciones son útiles en el tratamiento o la prevención de atrofia urogenital por déficit estrogénico.

Las composiciones mucoadhesivas de la invención pueden aplicarse en una cantidad suficiente para formar una capa sobre toda la superficie vaginal, usualmente entre 1 y 5 gramos, que permite obtener un régimen de dosificación seguro, relativamente eficaz.

Los dispositivos que se pueden utilizar con este fin son cualquiera de aquellos conocidos en el estado de la técnica, por ejemplo un aplicador con émbolo.

Uno de los procedimientos que pueden usarse para preparar las formulaciones mucoadhesivas de la presente invención comprenden las etapas de:

1- disolver los conservantes en agua destilada, añadiendo, si es necesario, un agente acidificante hasta obtener un pH adecuado

de modo que los polímeros no gelifican en la siguiente etapa (aproximadamente entre 2,5 y 3,5),

2- añadir los polímeros gelificantes a la disolución de la etapa anterior, agitando enérgicamente hasta conseguir una perfecta  
5 dispersión,

3- añadir a la mezcla de la etapa anterior el agente neutralizante, agitando hasta lograr el pH adecuado para la gelificación del polímero y para la aplicación vaginal (aproximadamente entre 4 y 5),

10 4- incorporar el resto de los componentes de la formulación al gel resultante de la etapa anterior.

Alternativamente, y particularmente en el caso de agentes activos solubles en agua, el resto de los componentes pueden incorporarse antes de formarse el gel.

15 Además, los componentes activos liposolubles pueden disolverse o dispersarse en el agente hidratante/humectante antes de incorporarse en el gel.

Otro método que puede usarse para obtener las formulaciones mucoadhesivas de la presente invención comprende las etapas de:

20 1'- disolver los conservantes en agua destilada, añadiendo un agente acidificante hasta obtener un pH adecuado de modo que los polímeros no gelifican en la siguiente etapa,

2'- añadir los polímeros gelificantes a la disolución de la etapa anterior, agitando enérgicamente hasta conseguir una  
25 perfecta dispersión,

3'- incorporar el principio activo a la mezcla formada a partir del componente graso/lipofílico y el agente solubilizante/tensioactivo,

30 4'- añadir la mezcla de la etapa 2' a la dispersión de la etapa 1',

5'- añadir el agente neutralizante hasta conseguir el pH adecuado para la gelificación del polímero y la aplicación vaginal.

35 Sin perjuicio de lo cual, cualquier otro método de los conocidos por un experto en la materia, se puede utilizar para la obtención de las formulaciones de la presente invención.

ENSAYOS

Las propiedades de las formulaciones de la presente invención se manifiestan a través los siguientes ensayos "in vitro" e "in vivo" no limitativos:

5

**1- Ensayos de bioadhesión in vitro**

El aparato utilizado para medir esta propiedad es un analizador de textura, tal como el texturómetro TA-XT 2I de Stable Micro Systems, U.K., y el método es el descrito por Peh, K. et al. en J. Pharm. Sci. 2, 1999 con ciertas modificaciones descritas a continuación.

10

Una membrana de cuero curtido, ligeramente humedecida con agua destilada, se coloca en el soporte superior móvil del equipo. La cantidad necesaria de gel para formar un disco de alrededor de 4 cm de diámetro, se deposita en la plataforma inferior del texturómetro.

15

Se desplaza la membrana en forma descendente hasta que hace contacto con el gel y se aplica una fuerza predeterminada (0,1 kg durante 30 seg). A continuación se inicia la separación desplazando la membrana en sentido ascendente a una velocidad predeterminada (1 mm/s).

20

Para evaluar la mucoadhesión de las diferentes formulaciones se determinan la fuerza de adhesión y el trabajo de adhesión. La medida correspondiente a la fuerza de adhesión se obtiene cuando el gel se separa completamente de la membrana. El trabajo de adhesión se calcula a partir del área bajo la curva obtenida al representar la fuerza que opone el gel a la separación frente al tiempo. Cada gel fue analizado por quintuplicado.

25

Empleando el método antes mencionado (a una temperatura de 25°C) se determinó la bioadhesión de las formulaciones A a H definidas a continuación.

30

## Formulación A:

35

Clotrimazol	25 % (p/p)
Carbopol 971P	0,5 %
Polycarbofil AA-1	1,5 %

## ES 2 353 694 T3

		14
	Glicerina	10 %
	NaOH	csp pH 4,5
	Agua	csp 100 %
5	Formulación B:	
	Progesterona	25 % (p/p)
	Carbopol 971P	0,5 %
	Policarbofil AA-1	1,5 %
	Propilenglicol	10 %
10	Cremophor	10 %
	NaOH	csp pH 4,5
	Agua	csp 100 %
	Formulación C:	
15	Progesterona	25 % (p/p)
	Carbopol 971P	0,5 %
	Policarbofil AA-1	1,5 %
	Propilenglicol	10 %
	NaOH	csp pH 4,5
20	Agua	csp 100 %
	Formulación D:	
	Estriol	0,05 % (p/p)
	Carbopol 971P	0,5 %
25	Policarbofil AA-1	1,5 %
	Glicerina	10 %
	Cremophor	10 %
	NaOH	csp pH 4,5
	Agua	csp 100 %
30	Formulación E:	
	Estriol	0,05 % (p/p)
	Carbopol 971P	0,5 %
	Policarbofil AA-1	1,5 %
35	Glicerina	10 %
	NaOH	csp pH 4,5
	Agua	csp 100

Formulación F: Disponible comercialmente (Crinone®)

Progesterona 8 %

5 Formulación G:

Progesterona 8 % (p/p)

Carbopol 971P 0,5 %

Policarbofil AA-1 1,5 %

Propilenglicol 10 %

10 NaOH csp pH 4,5

Agua csp 100 %

Formulación H:

Progesterona 8 % (p/p)

15 Carbopol 971P 0,5 %

Policarbofil AA-1 1,5 %

Propilenglicol 10 %

Cremophor 10 %

NaOH csp pH 4,5

20 Agua csp 100 %

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla I y en las figuras 1 y 2.

Tabla I

<u>Formulación</u>	Fuerza (g)	Área promedio (g s)
A	95,221	603,392
B	118,525	861,549
C	84,324	566,349
D	178,637	580,897
E	118,318	529,677
F	88,760	332,231
G	89,830	515,224
H	115,476	660,255

25

El análisis de estos resultados permite concluir que los geles de la presente invención tienen excelente capacidad

bioadhesiva, superando los valores obtenidos con la formulación comercialmente disponible (Formulación F).

Esta característica se mantiene aún a altas cargas de principio activo (Formulaciones A, B y C), lo que las hace  
5 útiles en aquellas situaciones en las que se busca una aplicación diaria o una única aplicación de la formulación, como es el caso de los tratamientos FIV con progesterona y la terapia antifúngica con clotrimazol, respectivamente.

## 10 **2- Ensayos bioadhesivos in vivo**

El presente estudio usó un total de 40 ratas Wistar hembra, 20 ovariectomizadas y 20 no ovariectomizadas. Las 20 ratas operadas se distribuyeron aleatoriamente en 4 grupos con 5 animales cada uno (grupos 1A a 4A). Las 20 ratas no operadas se  
15 distribuyeron del mismo modo (grupos 1B a 4B).

Se administró tópicamente la formulación del ejemplo 5, usando una cánula por vía vaginal, a un volumen de 150  $\mu$ L a las ratas de los 8 grupos. Los animales pueden mantenerse durante un tiempo ligeramente suspendidos de sus colas, para impedir que el  
20 gel se salga.

Una hora tras la administración, se realizó un frotis vaginal de cada rata de los grupos 1A y 1B. Se hizo lo mismo tras 2 horas para cada rata de los grupos 2A y 2B, tras 4 horas para las ratas de los grupos 3A y 3B, y tras 6 horas para los  
25 animales de los grupos 4A y 4B.

Se permitió la eliminación natural del gel restante en la mucosa vaginal de las 40 ratas y una semana más tarde se les administró a todas un volumen de 150  $\mu$ L de la formulación en estudio.

8 horas tras la administración, se realizó un frotis vaginal en cada rata de los grupos 1A y 1B. 10 horas tras la administración, se realizó el frotis en cada rata de los grupos 2A y 2B, tras 11 horas para las ratas de los grupos 3A y 3B, y tras 12 horas para los animales de los grupos 4A y 4B.

35 De nuevo, se permitió la eliminación natural del gel restante en la mucosa vaginal de todas las ratas y se repitió el

proceso del párrafo anterior, en este caso realizando el frotis tras 15, 18, 21 y 24 horas para los grupos 1, 2, 3 y 4, respectivamente.

Resultó por tanto el siguiente esquema de trabajo:

- 5 Grupo 1A: ratas ovariectomizadas, frotis realizado tras 1, 8 y 15 horas,  
grupo 2A: ratas ovariectomizadas, frotis realizado tras 2, 10 y 18 horas,  
grupo 3A: ratas ovariectomizadas, frotis realizado tras 4,  
10 11 y 21 horas,  
grupo 4A: ratas ovariectomizadas, frotis realizado tras 6, 12 y 24 horas,  
grupo 1B: ratas no ovariectomizadas, frotis realizado tras 1, 8 y 15 horas,  
15 grupo 2B: ratas no ovariectomizadas, frotis realizado tras 2, 10 y 18 horas,  
grupo 3B: ratas no ovariectomizadas, frotis realizado tras 4, 11 y 21 horas,  
grupo 4B: ratas no ovariectomizadas, frotis realizado tras  
20 6, 12 y 24 horas.

Se tiñeron los frotis con Alcian Blue y se evaluó la mucoadhesión según el método propuesto por Kockish *et al.* en *Journal of Controlled Release* 77, 1-6 (2001).

Los resultados se muestran en las figuras 3 y 4.

- 25 El análisis de los resultados permite concluir que la alta capacidad bioadhesiva mostrada en los ensayos *in vitro* se manifiesta también *in vivo*, quedando todavía gel adherido a las membranas mucosas 24 horas tras su administración a las ratas ovariectomizadas y tras 12 horas en las ratas no operadas.

30

### **3- Ensayos de liberación "in vitro" de formulaciones de estriol**

- El aparato utilizado para determinar los perfiles de liberación es un microdializador, tal como el Quix Sep® de Membrane Filtration Products, Inc. USA, y el método similar al  
35 descrito por Senel, S. *et al.* en *Proceed. Int. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.*, 1998 o Chang, J.Y. *et al.* en *Int. J.*

Pharm., 2002 con ciertas modificaciones descritas a continuación.

Se deposita alrededor de 1 g de gel en el dispositivo microdializador y se cubre con una membrana Cellu Sep® T2 de 5 6.000-8.000 Da de tamaño de corte molecular.

Se introduce el sistema en un vaso con 25-50 ml de solución tampón y se mantiene en agitación magnética media.

A los tiempos preestablecidos se toma 1 ml del medio de disolución y se reemplaza con solución fresca.

10 Las muestras obtenidas se cuantifican por espectrofluorimetría ( $\chi_{\text{excitación}} = 280 \text{ nm}$ ,  $\chi_{\text{emisión}} = 312 \text{ nm}$ ).

Se elabora una recta de calibrado con valores de fluorescencia para disoluciones estándar (0,05-10  $\mu\text{g/ml}$ ) y se utiliza para obtener la concentración de estriol de las 15 diferentes muestras.

Empleando el método antes mencionado se determinaron los perfiles de liberación de las formulaciones J a R definidas a continuación.

20 Formulación J:

Estriol	0,05 % (p/p)
Carbopol 971P	0,5 %
Policarbofil AA-1	1,0 %
Propilenglicol	10 %
25 NaOH	csp pH 4,5
Agua	csp 100

Formulación K:

Estriol	0,05 % (p/p)
30 Carbopol 971P	0,5 %
Policarbofil AA-1	1,5 %
Glicerina	10 %
NaOH	csp pH 4,5
35 Agua	csp 100

Formulación L:

Igual a Form. K pero además contiene 10 % Cremophor.

Formulación M:

Igual a Form. K pero además contiene 5 % Parafina.

5

Formulación N:

Igual a Form. K pero con 10% Propilenglicol en lugar de 10% Glicerina

10

Formulación O:

Igual a Form. K pero además contiene 5 % Labrafil.

Formulación P:

Igual a Form. K pero además contiene 5 % Vaselina.

15

Formulación Q:

Estriol	0,005 % (p/p)
Carbopol 971P	0,5 %
Policarbofil AA-1	1,0 %
Glicerina	10 %
NaOH	csp pH 4,5
Agua	csp 100

20

Formulación R:

25

Igual a Form. Q pero además contiene 10% Cremophor.

Los resultados obtenidos se muestran en las figuras 5 y 6.

30

El análisis de las mismas permite concluir que la selección cualitativa y cuantitativa de los polímeros y demás excipientes permite obtener diferentes perfiles de liberación del principio activo, acordes a los objetivos buscados en cada caso.

Esta característica es particularmente importante en aquellos geles que contienen fármacos de efectos indeseables dependientes de la dosis, como es el caso de los estrógenos.

35

**4- Ensayos de liberación y efectividad "in vivo" de formulaciones de estriol**

En el presente estudio se utilizaron un total de 32 ratas Wistar Han hembras ovariectomizadas que se distribuyeron aleatoriamente en 4 grupos con 8 animales cada uno (2 animales/jaula):

5

Grupo 1: tratado con Formulación T (0,125 mg estriol)

Grupo 2: tratado con Formulación E (0,125 mg estriol)

Grupo 3: tratado con Formulación Q (0,0125 mg estriol)

Grupo 4: tratado con Formulación S (0,005 mg estriol)

10

Formulación E: detallada anteriormente

Formulación Q: detallada anteriormente

Formulación S: igual a Formulaciones E y Q pero conteniendo 0,002 % de estriol en lugar de 0,05 % y 0,005 % de estriol,

15

respectivamente.

Formulación T: disponible comercialmente (Ovestinon®) conteniendo 0,1% de estriol.

Las formulaciones farmacéuticas se administraron tópicamente, mediante una cánula, por vía vaginal en un volumen de 125  $\mu$ L la primera formulación y 250  $\mu$ L las tres restantes.

20

Tras haber transcurrido 15 días desde la ovariectomía, se realizó un frotis vaginal diario a cada rata hasta comprobar el estado menopáusico en todas las ratas, determinando la ausencia de células cornificadas.

25

El mismo día que no se detectaron células cornificadas, se extrajo de cada rata una muestra de 0,1 mL de sangre para la determinación de los niveles basales de estriol mediante inmunoensayo enzimático (EIA) (Kit Comercial Oxford Biomedical).

30

Al día siguiente se administraron las 4 formulaciones a los 4 grupos experimentales y se tomaron muestras de 0,25 mL de sangre a los 30 min. y a las 1, 2, 4, 6, 8, 24 y 48 horas.

35

Coincidiendo con el último muestreo (48 h) se realizó el primer frotis vaginal. Se siguieron realizando frotis vaginales diarios hasta la aparición de células cornificadas y entonces se dejaron de hacer.

Determinación de niveles plasmáticos de estriol

Las muestras de sangre se centrifugaron a 12000 rpm durante 2 min. para la obtención de plasma que se congeló a -20°C. Una vez hecha la extracción de la última muestra de sangre (48 h) se procedió a la extracción de estriol de las muestras de plasma y a su inmediata determinación mediante EIA.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla II.

Tabla II

Tiempo	Niveles plasmáticos de estriol (ng/ml)			
	Form. T	Form. E	Form. Q	Form. S
Basal	0,152	0,144	0,131	0,109
30 minutos	1,405	7,665	0,854	0,635
1 hora	1,680	5,035	4,106	0,857
2 horas	0,684	0,970	0,666	0,289
4 horas	0,846	0,648	0,283	0,264
6 horas	0,932	1,932	0,837	0,426
8 horas	0,304	0,661	0,335	0,433
24 horas	0,333	0,390	0,221	0,224
48 horas	0,250	0,285	0,266	0,267

10

Determinación de actividad estrogénica.

Se introdujo, a través de la vulva, 1 mL de solución salina estéril en la vagina de las ratas y cuidadosamente se realizó la extracción de exudado. A continuación se procedió a la extensión del frotis. Por cada rata se realizaron dos frotis, que fueron fijados y teñidos, uno con el método de Diff-Quick y otro con el de Papanicolau.

El efecto del tratamiento con cada una de las formulaciones se observó en función de la aparición de epitelio vaginal cornificado, según el test de Allen-Doisy. Este es un test de actividad estrogénica. La desaparición de leucocitos y la aparición de células cornificadas en el frotis vaginal constituye un resultado positivo.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla III.

25

Tabla III

Día	N° de ratas con presencia de células cornificadas					
	0	2	3	4	5	6
Form. T	0/8	8/8	-	-	-	-
Form. E	0/8	8/8	8/8	-	-	-
Form. Q	0/8	7/8	7/8	7/8	7/8	7/8
Form. S	0/8	7/8	8/8	-	-	-

El análisis de los resultados obtenidos permite concluir que las formulaciones de la presente invención, a pesar de tener concentraciones entre 2 y 50 veces menores, muestran una eficacia terapéutica similar a la de la formulación comercialmente disponible (Formulación T).

## EJEMPLOS

La invención se ilustra con los siguientes ejemplos no limitativos:

1- Procedimiento de preparación del gel de estriol 0,002%

En un tanque de capacidad adecuada, incorporar 2 kg de glicerina y 0,4 g de estriol. Agitar a 300 r.p.m. hasta que se disuelva completamente (aproximadamente 12 h).

En otro tanque de capacidad adecuada, dotado de un sistema de agitación tipo turbo, cargar 17,2 kg de agua desmineralizada y añadir lentamente, con agitación constante a 900 r.p.m., 36,63 g de metilparabeno sódico (equivalentes a 32 g de metilparabeno) y 4,49 g de propilparabeno sódico (equivalentes a 4 g de propilparabeno). Se acidula entonces con HCl 37% (csp pH = 3,0-3,5).

Agitar a 500 r.p.m. durante 5 minutos. Añadir lentamente, con agitación constante, 300 g de Policarbofil y 100 g de Carbopol 971P. Cuando la incorporación ha concluido, mantener la agitación a 900 r.p.m. durante 30 minutos, hasta que se consiga una mezcla perfecta.

Se cubre el tanque y se deja reposar la fase anterior durante 2 horas para conseguir una humectación perfecta de los agentes gelificantes.

5 Se añade la disolución de estriol en glicerina a la dispersión obtenida con los agentes gelificantes, con el agitador turbo conectado. Agitar durante 20 minutos.

Se añade lentamente una disolución de hidróxido de sodio 10% a la dispersión obtenida en la etapa anterior con agitación continua. Se mantiene la agitación durante 15 minutos.

10 Si es necesario, ajustar el pH del gel resultante con NaOH 10% o HCl 10% para obtener un valor de pH final entre 4,5 y 5,5. Se ajusta el peso con agua desmineralizada y se mezcla bien. Se elimina el aire del gel en un vacío (0,8 bar) durante 2 horas.

#### 7- Formulación de estriol

15	Estriol	0,05 % (p/p)
	Carbopol 971P	0,5 %
	Policarbofil AA-1	1,5 %
	Glicerina	10 %
	Metilparabeno	0,15 %
20	Propilparabeno	0,05 %
	HCl 37%	csp pH 2,5 -3,5
	KOH 10%	csp pH 4,5
	Agua	csp 100 %

#### 25 8- Formulación de estriol:

	Estriol	0,005 % (p/p)
	Carbopol 971P	0,5 %
	Policarbofil AA-1	1,5 %
	Glicerina	10 %
30	Metilparabeno	0,16 %
	Propilparabeno	0,02 %
	HCl 37%	csp pH 2,5 -3,5
	NaOH 10%	csp pH 4,5
	Agua	csp 100 %

**REIVINDICACIONES**

1. Formulaci3n mucoadhesiva semis3lida, caracterizada porque comprende:
  - 5 - al menos un primer pol3mero gelificante bioadhesivo del tipo del 3cido poliacr3lico entrecruzado con divinilglicol, en una cantidad entre 0,1% y 5% en peso de la formulaci3n,
  - 10 - un segundo pol3mero gelificante bioadhesivo, derivado de 3cido acr3lico, entrecruzado con alilsacarosa o alilpentaeritritol, en una cantidad entre 0,1% y 5% en peso de la formulaci3n,
  - al menos un agente hidratante/humectante en una cantidad entre 0% y 20% en peso de la formulaci3n,
  - 15 - al menos un componente graso/lipof3lico, en una cantidad entre 0% y 50% en peso de la formulaci3n,
  - al menos un agente solubilizante/tensioactivo en una cantidad entre 0% y 70% en peso de la formulaci3n,
  - al menos un agente neutralizante en cantidad suficiente para situar el pH de la formulaci3n entre 2 y 6,
  - 20 - estriol en una cantidad entre 0,001% y 0,05% en peso de la formulaci3n,
  - agua, en cantidad suficiente para completar la formulaci3n.
2. Formulaci3n de acuerdo a la reivindicaci3n 1 caracterizada  
25 porque el estriol est3 en una cantidad entre 0,001% y 0,005% en peso de la formulaci3n.
3. Formulaci3n de acuerdo a la reivindicaci3n 1 3 2 caracterizada porque el estriol est3 en una cantidad entre 0,001% y 0,002% en peso de la formulaci3n.
- 30 4. Formulaci3n de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones anteriores caracterizada porque el pol3mero de 3cido acr3lico entrecruzado con divinilglicol es Policarbofil AA1.
- 35 5. Formulaci3n de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones anteriores caracterizada porque el pol3mero de 3cido acr3lico entrecruzado con alilsacarosa o alilpentaeritritol es un carb3mero.

6. Formulación de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones anteriores en la que el agente hidratante/humectante se selecciona del grupo formado por glicerina, propilenglicol, dipropilenglicol, polietilenglicoles, poligliceroles, sorbitol, pentaeritriol y derivados de metiléter de glucosa.
7. Formulación de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el componente graso/lipofílico se selecciona del grupo formado por parafina, vaselina, aceite mineral, aceites vegetales y aceites vegetales hidrogenados.
8. Formulación de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones anteriores en la que el agente solubilizante/tensioactivo se selecciona del grupo formado por ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol, derivados polioxietilenados de aceite de ricino, fosfolípidos y sus mezclas, ácidos grasos de polioxietilensorbitano, alquilsulfatos de sodio, ésteres de sorbitano, monoestearato de glicerilo, polioxietilen alquil éteres y estearatos de polioxietileno.
9. Formulación de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones anteriores en la que el agente neutralizante se selecciona del grupo formado por disoluciones acuosas de NaOH, KOH y trietanolamina.
10. Formulación de acuerdo a las reivindicaciones anteriores caracterizada porque además comprende un agente conservante seleccionado de parabenos y sus sales, ácido benzoico y sus sales y ácido sórbico y sus sales, en una cantidad entre 0,02% y 1% en peso de la formulación.
11. Procedimiento para la preparación de las formulaciones de acuerdo con las reivindicaciones anteriores caracterizado porque comprende las etapas de:
- 1- disolver los conservantes en agua destilada, añadiendo, si es necesario, un agente acidificante hasta obtener un pH entre 2,5 y 3,5, de modo que los polímeros no gelifican en la siguiente etapa,

- 2- añadir los polímeros gelificantes a la disolución de la etapa anterior, agitando energicamente hasta lograr una perfecta dispersión,
- 3- añadir el agente neutralizante a la mezcla de la etapa anterior, agitarla hasta lograr un pH entre 4 y 5, adecuado para la gelificación del polímero y para la aplicación vaginal,
- 4- incorporar los otros componentes de la formulación al gel resultante de la etapa anterior.
- 10 12. Procedimiento de acuerdo a la reivindicación 11, caracterizado porque además comprende disolver o dispersar estriol en el agente hidratante/humectante antes de incorporarlo en el gel.
13. Procedimiento para la preparación de las formulaciones de acuerdo a las reivindicaciones 1 a 10 caracterizado porque comprende las etapas de:
- 15 1'- disolver los conservantes en agua destilada, añadiendo un agente acidificante hasta obtener un pH entre 2,5 y 3,5, de modo que los polímeros no gelifican en la siguiente etapa,
- 20 2'- añadir los polímeros gelificantes a la disolución de la etapa anterior, agitando energicamente hasta lograr una perfecta dispersión,
- 25 3'- incorporar estriol a la mezcla formada a partir del componente graso y el agente solubilizante/tensioactivo,
- 4'- añadir la mezcla de la etapa 2' a la dispersión de la etapa 1',
- 5'- añadir el agente neutralizante hasta lograr un pH entre 4 y 5, adecuado para la gelificación del polímero y la aplicación vaginal.
- 30 14. Uso de las formulaciones de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 10 en la preparación de un medicamento que va a aplicarse a membranas mucosas por vía vaginal.
15. Uso de acuerdo con la reivindicación 14 para la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de atrofia urogenital por déficit estrogénico.
- 35

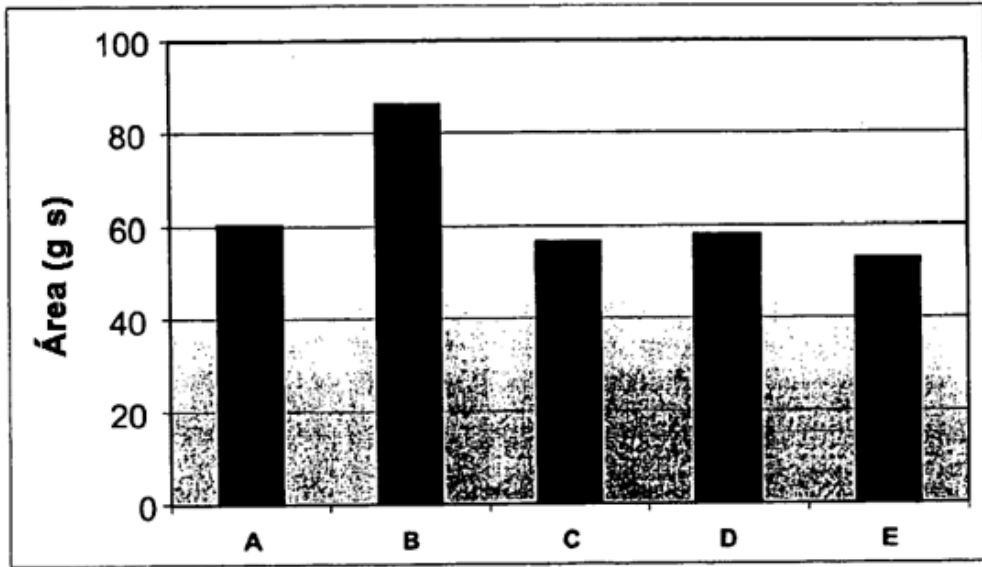


Figura 1

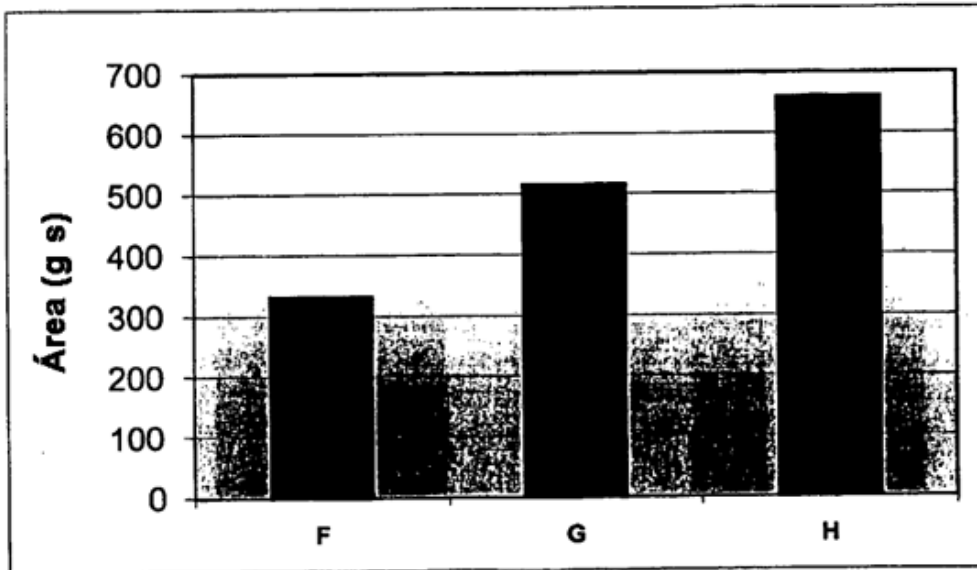


Figura 1

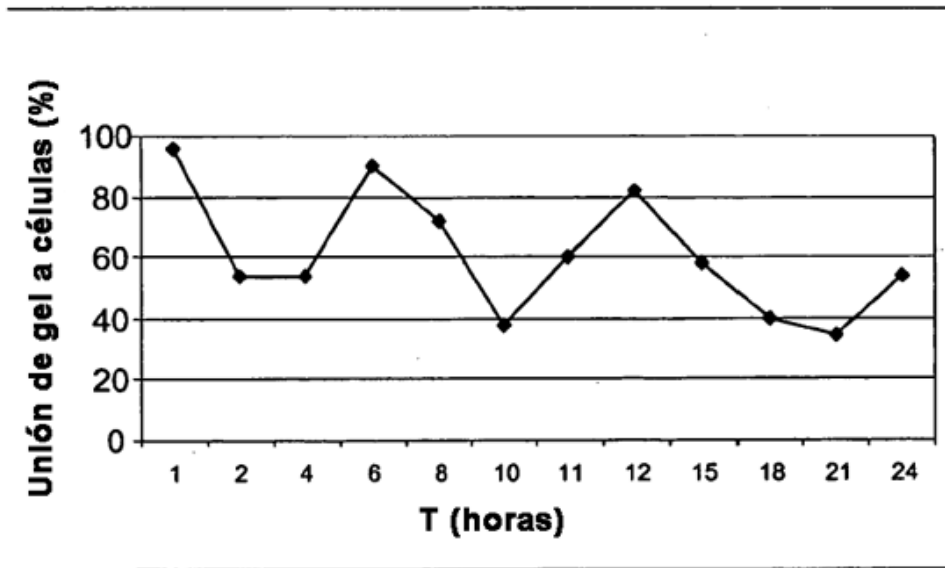


Figura 3

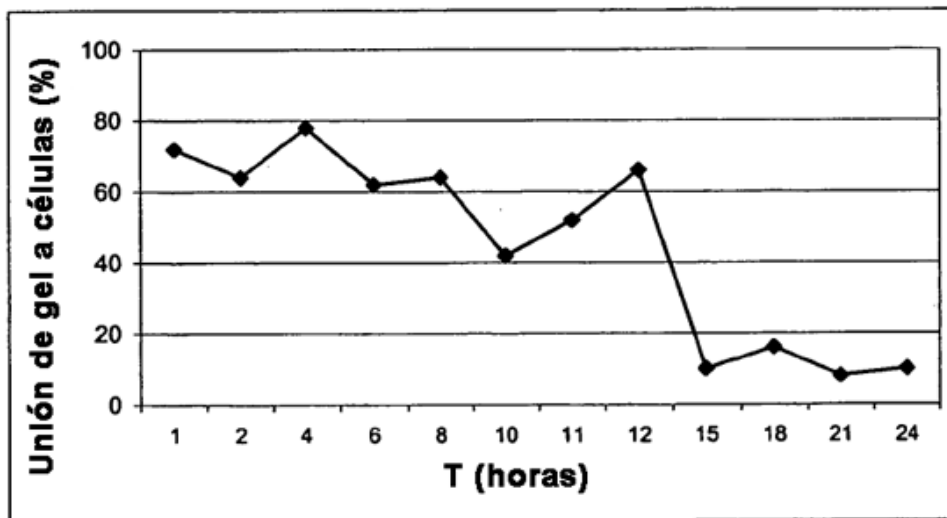


Figura 4

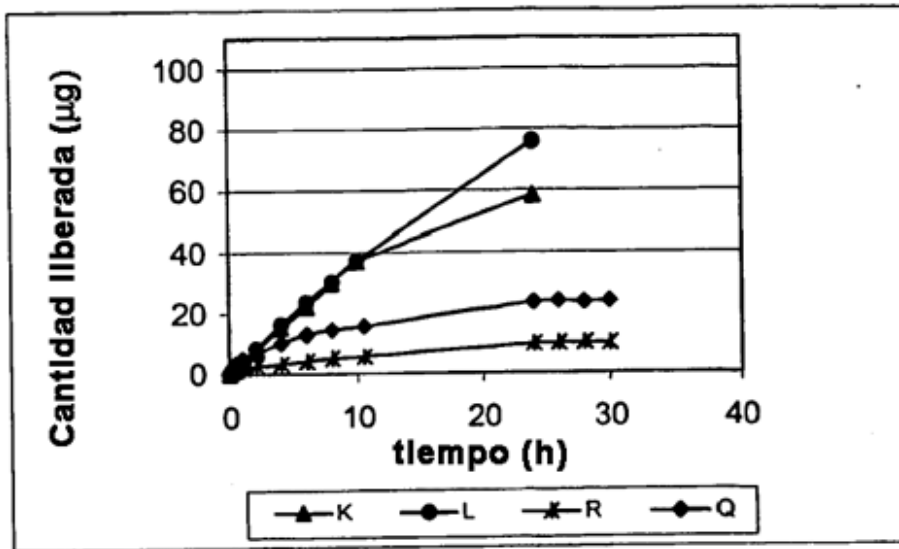


Figura 5

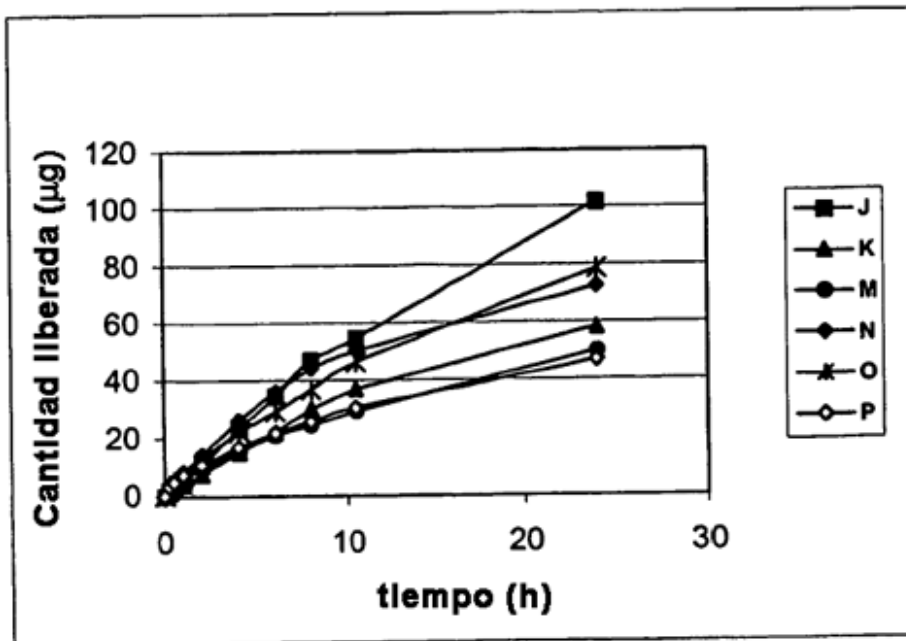


Figura 6