

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 945 590**

51 Int. Cl.:

A61K 47/10	(2007.01) A61K 31/573	(2006.01)
A61K 47/12	(2006.01) A61K 9/00	(2006.01)
A61K 47/14	(2007.01) A61P 5/00	(2006.01)
A61K 9/06	(2006.01) A61P 43/00	(2006.01)
A61K 9/08	(2006.01)	
A61K 31/565	(2006.01)	
A61K 31/568	(2006.01)	
A61K 31/57	(2006.01)	
A61K 31/56	(2006.01)	
A61K 31/566	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.10.2010 E 18163659 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.04.2023 EP 3360575**

54 Título: **Composiciones farmacéuticas transdérmicas que comprenden agentes activos**

30 Prioridad:

27.10.2009 US 25524109 P
10.12.2009 EP 09178762

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
04.07.2023

73 Titular/es:

BESINS HEALTHCARE LUXEMBOURG SARL
(100.0%)
2-8 rue Julien Vesque
2668 Luxembourg, LU

72 Inventor/es:

MASINI-ETEVE, VALÉRIE y
CANET, DENIS

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 945 590 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

Composiciones farmacéuticas transdérmicas que comprenden agentes activos

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a composiciones para administrar un agente terapéuticamente activo a través de la piel de un sujeto, por ejemplo, a composiciones farmacéuticas transdérmicas, así como a dichas composiciones para su uso en un método terapéutico

10

Antecedentes

Es bien sabido que ciertos agentes terapéuticamente activos no son adecuados para la administración oral por diversas razones asociadas, entre otros, con un alto nivel de metabolismo en el hígado ("efecto de primer paso") o con un alto nivel de degradación gastrointestinal. Se han desarrollado formulaciones transdérmicas o transmucosales para salvar estos inconvenientes. Específicamente, las composiciones farmacéuticas para administración transdérmica o transmucosal tienen varias ventajas sobre las formas orales, incluyendo la eliminación de los problemas asociados con el metabolismo del agente terapéuticamente activo por el hígado y con la degradación gástrica del agente activo. El documento WO2004/091631 A1 describe métodos y composiciones para el tratamiento de la depresión mediante la administración transdérmica de composiciones tópicas que comprenden un esteroide en la vía sintética de la testosterona.

15

20

25

Sin embargo, las composiciones transdérmicas y transmucosales se enfrentan a problemas asociados con la cinética de paso de los agentes terapéuticamente activos desde la superficie de la piel hasta el torrente sanguíneo.

30

De hecho, la piel es un tejido heterogéneo que comprende dos capas: la dermis y la capa más externa la epidermis, que se puede dividir además en el estrato córneo y la epidermis viable. Estas capas proporcionan a la piel capacidades de barrera contra la entrada de sustancias extrañas tales como los fármacos. El estrato córneo actúa como una barrera física difusiva, mientras que la epidermis y la dermis pueden proporcionar además una barrera bioquímica o enzimática.

35

40

45

50

Los estudios sobre la absorción de agentes terapéuticamente activos por la piel se han enfocado en su mayor parte en mejorar la velocidad de absorción de los ingredientes activos a través de la piel, en lugar de prestar atención al destino de los agentes activos absorbidos. Por ejemplo, se propuso el uso de potenciadores de permeación para aumentar la velocidad inicial de penetración de agentes activos a través de la piel. El término "potenciador de permeación" generalmente se refiere a cualquier molécula que promueve la difusión reversible de un agente activo a través de la piel o de las membranas mucosas, y a cualquier agente solubilizante que promueve el reparto del agente activo entre el vehículo y la capa córnea de la epidermis o de las membranas mucosas. La mayoría de los potenciadores afectan a las capacidades de barrera del estrato córneo, es decir, alteran de forma reversible la estructura del estrato córneo, aumentando así la difusividad y la solubilidad del fármaco. Esto de hecho mejora la penetración en la piel de los agentes activos, pero esto también puede dar como resultado la absorción directa de una gran cantidad del fármaco a través de los tejidos, llevando a una concentración pico de agente activo en la sangre en las horas inmediatas después de la aplicación de la composición. Este pico inicial a menudo va seguido por una bajada en las concentraciones sanguíneas antes de la siguiente aplicación de la composición, lo que generalmente tiene lugar muchas horas después, o una vez al día. Tal aumento repentino de la concentración de fármaco en la sangre podría ser peligroso para el paciente ya que puede exceder la dosis de fármaco tolerada por el organismo. Además, como la dosis total de agente activo es administrada al torrente sanguíneo y a los tejidos en las primeras horas después de la aplicación, puede ser que los efectos deseados del fármaco no duren hasta la siguiente aplicación.

55

Sigue existiendo por lo tanto, la necesidad de composiciones farmacéuticas transdérmicas capaces de administrar al menos una parte de su contenido activo en una forma de liberación controlada, por ejemplo a través de un almacenamiento temporal en la dermis.

Sumario

Se describen aquí composiciones farmacéuticas transdérmicas de liberación sostenida, y métodos para su preparación y su uso. La invención se define mediante las reivindicaciones adjuntas. Cualquier realización o divulgación descrita en la presente memoria que no esté dentro del alcance de las reivindicaciones tiene únicamente fines ilustrativos.

60

65

Según un primer aspecto de la invención, se proporcionan composiciones farmacéuticas de liberación sostenida para administración tópica a una superficie de la piel que comprenden: un agente farmacéuticamente activo que comprende uno o más esteroides, 0,01 % a 5 % en peso del peso total de la composición farmacéutica de un éster de ácido graso, agua, un monoalcohol C2-C6, ácido graso y 0,05 % a 5 % en peso de un agente gelificante,

en donde la relación peso:peso del éster de ácido graso en la composición frente al agente activo total en dicha composición es al menos 4:1 de éster de ácido graso:agente activo, y preferiblemente varía de 4:1 a 20:1.

5 En algunas realizaciones, la composición comprende además un codisolvente, tal como propilenglicol. En algunas realizaciones, el codisolvente está presente en una cantidad que varía de 0,01 % a 7 % en peso con respecto al peso total de la composición farmacéutica, o en una cantidad que varía de 3 % a 7 % en peso con respecto al peso total de la composición farmacéutica.

10 En algunas realizaciones, el éster de ácido graso se selecciona del grupo que consiste en oleato de etilo, oleato de isopropilo, miristato de isopropilo, isoestearato de isopropilo, palmitato de isopropilo, octanoato de etilo, dodecanoato de etilo, linoleato de etilo, palmitoleato de etilo, isoestearato de etilo y linolenato de etilo. En algunas realizaciones, el éster de ácido graso es el éster que resultaría de la reacción del ácido graso formulado en la composición con un alcohol. En otras realizaciones, el éster de ácido graso no es el éster que resultaría de la reacción del ácido graso formulado en la composición con el alcohol formulado en la composición. El éster de ácido graso está presente en una cantidad que varía de 0,01 % a 5 % en peso con respecto al peso total de la composición farmacéutica, o en una cantidad que varía de 0,05 % a 2,4 % en peso con respecto al peso total de la composición farmacéutica, o en una cantidad que varía de 0,1 % a 2,2% en peso con respecto al peso total de la composición farmacéutica. En algunas realizaciones, el ácido graso es un ácido graso C8-C22. En algunas realizaciones, el ácido graso se selecciona del grupo que consiste en ácido cáprico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido isoesteárico, ácido palmitoleico, ácido linoleico y ácido linolénico. En una realización preferida, el ácido graso es ácido oleico. En algunas realizaciones, el ácido graso está presente en una cantidad que varía de 0,01 % a 5 % en peso con respecto al peso total de la composición farmacéutica, o en una cantidad que varía de 0,05 % a 3,5 % en peso con respecto al peso total de la composición farmacéutica, o en una cantidad que varía de 1,0 % a 3,0 % en peso con respecto al peso total de la composición farmacéutica.

25 En realizaciones específicas, las composiciones comprenden 2 % de oleato de etilo como el éster de ácido graso, 2 % de ácido oleico como el ácido graso, y 5 % de propilenglicol como el codisolvente, todo en peso con respecto al peso total de la composición farmacéutica. En otras realizaciones específicas, las composiciones comprenden 0,3 % de oleato de etilo como éster de ácido graso, 0,3 % de ácido oleico como ácido graso y 0,75 % de propilenglicol como codisolvente, todo en peso con respecto al peso total de la composición farmacéutica.

30 En algunas realizaciones, el agente farmacéuticamente activo se selecciona del grupo que consiste en estrógenos, andrógenos, antiandrógenos, progestinas y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, el agente farmacéuticamente activo se selecciona de estradiol y progesterona, y el éster de ácido graso es oleato de etilo. En otras realizaciones específicas, el agente farmacéuticamente activo se selecciona de testosterona y dihidrotestosterona (DHT), y el éster de ácido graso se selecciona de oleato de etilo y miristato de isopropilo. En algunas realizaciones, el agente activo está presente en una cantidad de al menos 0,01 % en peso con respecto al peso total de la composición farmacéutica.

35 En algunas realizaciones, el alcohol se selecciona del grupo que consiste en etanol, *n*-propanol, isopropanol, *n*-butanol, isobutanol, *tert*-butanol y mezclas de los mismos. En una realización preferida, el alcohol es etanol. En algunas realizaciones, el alcohol está presente en una cantidad que varía de 10 % a 90 % en peso con respecto al peso total de la composición farmacéutica, o en una cantidad que varía de 20 % a 80 % en peso con respecto al peso total de la composición farmacéutica, o en una cantidad que varía de 45 % a 75 % en peso con respecto al peso total de la composición farmacéutica.

40 Los métodos de preparación de la composición farmacéutica de liberación sostenida para administración tópica a una superficie de la piel comprenden mezclar un agente farmacéuticamente activo que comprende uno o más esteroides, un éster de ácido graso, agua, un monoalcohol C2-C6 y un ácido graso, en donde la relación peso:peso del éster de ácido graso en la composición con respecto al agente activo total en dicha composición es de al menos 4:1 de éster de ácido graso:agente activo, y preferiblemente varía de aproximadamente 4:1 a aproximadamente 20:1. Cualquier composición como se ha descrito antes y se describe más adelante se puede preparar por tales métodos.

45 En segundo aspecto de la invención se proporcionan composiciones según el primer aspecto de la invención para uso en un método terapéutico de tratamiento de un sujeto, comprendiendo dicho método proporcionar una liberación sostenida de un agente farmacéuticamente activo a través de la piel de un sujeto administrando tópicamente la composición a la piel del sujeto. Cualquier composición como se ha descrito antes y se describe más adelante se puede utilizar en tales métodos. En realizaciones específicas, el éster de ácido graso está presente en la composición en una cantidad que varía de 0,1 % a 5 % en peso con respecto al peso total de la composición farmacéutica.

50 En algunas realizaciones, la liberación sostenida del agente farmacéuticamente activo a través de la piel se observa al menos 24 horas después de su administración. En otras realizaciones, la liberación sostenida del agente farmacéuticamente activo a través de la piel se observa al menos 36 horas después de su administración.

En otras realizaciones más, la liberación sostenida del agente farmacéuticamente activo a través de la piel se observa al menos 48 horas después de su administración.

Breve descripción de los dibujos

- 5 La figura 1 representa la cantidad de progesterona administrada a través de la piel en 48 horas (flujo, $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$) para las diferentes formulaciones ensayadas en el Ejemplo 5. (■ -Formulación 1; ●-Formulación 2; ▲-Progestogel (gel hidroalcohólico de progesterona al 1 %) (Besins Healthcare)).
- 10 La figura 2 representa la cantidad de estradiol administrada (μg) a través de la piel en 48 horas con respecto a la carga de fármaco en un ejemplo de formulación (diamantes) y en comparación con Estrogel® (gel de estradiol al 0,06 %, cuadrados) (Ascend Therapeutics).
- 15 La figura 3 representa el efecto de las concentraciones de ácido oleico, propilenglicol y estradiol sobre la penetración total de estradiol (μg) durante 48 horas.
- La figura 4 representa el efecto de las concentraciones de ácido oleico, propilenglicol y estradiol sobre la penetración total de estradiol (μg) durante 48 horas.
- 20 La figura 5 representa el efecto de las concentraciones de oleato de etilo y estradiol sobre la penetración total de estradiol (μg) durante 48 horas.
- La figura 6 representa el efecto de las concentraciones de oleato de etilo y estradiol sobre la penetración total de estradiol (μg) durante 48 horas.
- 25 La figura 7 representa el perfil de flujo ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$) a lo largo del tiempo para tres composiciones ensayadas en el Ejemplo 7. (■ -Formulación 301; ●- Formulación 303; A-Formulación 309).
- 30 La figura 8 representa el perfil de flujo ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$) a lo largo del tiempo para tres composiciones ensayadas en el Ejemplo 7. (■ -Formulación 306; ●- Formulación 307; A-Formulación 311).
- La figura 9 representa el perfil de flujo ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$) a lo largo del tiempo para cinco composiciones ensayadas en el Ejemplo 7. (■-Formulación 302; ●- Formulación 304; A-Formulación 305; ▼-Formulación 308; ◀-Formulación 310).
- 35 La figura 10 representa la solubilidad del oleato de etilo (g/100 g) en función de la concentración de etanol (96 %) (v/v) en una mezcla que contiene 0,24 % de estradiol, 5 % de propilenglicol y 2 % de ácido oleico, todos en peso con respecto al peso total de la composición.

40 Descripción detallada

- Algunos estudios han investigado si los agentes activos administrados transdérmicamente pasan directamente a través de la piel al torrente sanguíneo, o si primero se retienen en un compartimento dentro de la piel que sirve como depósito de almacenamiento del agente activo, antes de ser liberados a la circulación. Se conoce por el artículo titulado "Will cutaneous levels of absorbed material be systemically absorbed?" (Drugs and Pharmaceutical Science, Vol. 97, 235-239, 1999), que la piel se puede comportar como un depósito de almacenamiento para los materiales absorbidos. Por ejemplo, ha sido descrito por Vickers, Adv Biol Skin, Vol. 12, 177-89 (1972), un depósito de almacenamiento de la piel para productos químicos, que existe en el estrato córneo para productos químicos lipófilos aplicados tópicamente tales como los esteroides.
- 50 Sin embargo, según la presente invención, se ha encontrado que un depósito de almacenamiento en la dermis puede ser más eficaz que un depósito de almacenamiento en el estrato córneo y puede proporcionar mejores medios para regular la cinética de difusión de los agentes activos en los tejidos y una mejor administración eficaz del fármaco a lo largo del tiempo. De hecho, la dermis constituye la parte mayoritaria de la masa cutánea.
- 55 Contiene una vasculatura sanguínea y linfática densa, y es el sitio de absorción del fármaco en la circulación sistémica. Sin embargo, la dermis rara vez ha sido elegida como un sitio para la administración o deposición de sustancias, probablemente debido a la dificultad de controlar la capa de la piel en la que el agente activo es retenido realmente.
- 60 Por lo tanto, se describen en la presente memoria composiciones farmacéuticas transdérmicas que presentan propiedades ventajosas y alcanzan resultados ventajosos con respecto a sus perfiles de administración de fármacos. Por ejemplo, las realizaciones de las composiciones descritas en la presente memoria logran la administración sistémica de un agente o agentes terapéuticamente activos a través de las capas externas de la piel hasta la dermis, donde se forma un depósito a partir del cual el agente activo es administrado al torrente sanguíneo durante un período de tiempo prolongado, tal como durante un período de tiempo de al menos 12 horas, al menos 24 horas, al menos 36 horas o al menos 48 horas. Esto se puede observar, por ejemplo, cuando
- 65

el agente activo continúa siendo liberado en el torrente sanguíneo hasta 24 horas o más después del lavado de la piel.

5 Las composiciones de la invención también alcanzan ventajosamente un alto nivel de administración del agente activo en un amplio intervalo de concentraciones de agente activo. Además, las composiciones se formulan para promover la reproducibilidad de los niveles de absorción entre diferentes aplicaciones y entre diferentes pacientes.

10 Por lo tanto, según el primer aspecto de la invención, se proporcionan composiciones farmacéuticas transdérmicas de liberación sostenida para la administración tópica a una superficie de la piel que comprenden un agente farmacéuticamente activo que comprende uno o más esteroides, 0,01 % a 5% en peso con respecto al peso total de la composición farmacéutica de un éster de ácido graso, agua, un monoalcohol C2-C6, un ácido graso y 0,05 % a 5 % en peso de un agente gelificante, en donde la relación peso:peso del éster de ácido graso en la composición frente al agente activo total en dicha composición es al menos 4:1 de éster de ácido graso:agente activo y preferiblemente varía de 4:1 a 20:1.

15 En algunas realizaciones, la composición comprende además un codisolvente, tal como propilenglicol. Se pueden incluir también otros componentes convencionales para las composiciones farmacéuticas transdérmicas, como se expone con más detalle a continuación.

20 En particular, como se expone con más detalle en los ejemplos que siguen, la presente invención se refiere al descubrimiento inesperado de que proporcionar un éster de ácido graso en al menos un exceso de cuatro veces sobre el agente terapéuticamente activo (en una base p/p) da como resultado una composición farmacéutica transdérmica con propiedades ventajosas, incluyendo liberación sostenida, perfiles de administración constantes en un intervalo de concentraciones de agente activo y reproducibilidad de aplicación a aplicación y de paciente a paciente. Sin querer limitarse a ninguna teoría, se cree que esta alta relación de éster de ácido graso a agente activo facilita el reparto del agente activo en la dermis y la formación de un depósito dentro de la dermis, dando como resultado la retención dérmica del agente activo, seguida por una liberación sostenida en el torrente sanguíneo. Por lo tanto, las composiciones y los métodos descritos en la presente memoria proporcionan también un método para aumentar la retención dérmica de un agente activo, y lograr la administración de liberación sostenida.

25 Por lo tanto, según el segundo aspecto de la invención, se proporcionan composiciones según el primer aspecto de la invención para uso en un método terapéutico de tratamiento de un sujeto, comprendiendo dicho método proporcionar una liberación sostenida de un agente farmacéuticamente activo a través de la piel de un sujeto administrando tópicamente la composición a la piel del sujeto. En algunas realizaciones, la composición comprende además un codisolvente, tal como propilenglicol. Se pueden incluir también otros componentes convencionales para las composiciones farmacéuticas transdérmicas, como se expone con más detalle a continuación.

30 Como se usa en la presente memoria, la frase "administración sostenida" significa que las composiciones continúan administrando el agente activo durante un período de tiempo de al menos 12 horas, al menos 24 horas, al menos 36 horas o al menos 48 horas, incluyendo un período de tiempo de al menos 24 horas. Por ejemplo, las composiciones de administración sostenida pueden continuar administrando el agente activo después de las primeras 24 horas después de la aplicación. En algunas realizaciones, las composiciones de administración sostenida descritas en esta memoria continúan administrando una cantidad terapéuticamente eficaz del agente activo después de las primeras 24 horas después de la aplicación. Dependiendo de la composición y del agente activo, esto puede constituir la administración después de las primeras 24 horas de, por ejemplo, al menos 5 %, al menos 10 %, al menos 15 %, al menos 20 %, al menos 25 %, al menos 30 %, o más, de la cantidad total de agente activo administrado. De nuevo dependiendo de la composición y del agente activo, esto puede constituir la administración después de las primeras 24 horas de, por ejemplo, al menos 2 %, al menos 3 %, al menos 4 %, al menos 5 %, o más, de la cantidad total de agente activo aplicado en la composición. Esto se puede observar, por ejemplo, cuando el agente activo continúa siendo liberado en el torrente sanguíneo hasta 24 horas o más después de la aplicación.

35 En algunas realizaciones, las composiciones de administración sostenida descritas en la presente memoria continúan administrando el agente activo después de las primeras 12, 24, 36 o 48 horas después de la aplicación, a un nivel que es mayor que la cantidad administrada durante el mismo período de tiempo por una composición comparable que no incluye un éster de ácido graso. Como se ilustra en el Ejemplo 2, esto se puede observar, por ejemplo, ensayando una composición como se describe en la presente memoria y una composición comparable que no incluye un éster de ácido graso (por ejemplo, una composición que es idéntica excepto por la ausencia del éster de ácido graso) en un ensayo de la celda de Franz *in vitro*, donde las composiciones se aplican a una muestra de piel en la celda de Franz, se dejan durante 24 horas y luego se lavan y después se determina y se compara la administración del fármaco a través de la piel después del lavado (por ejemplo, después de las primeras 24 horas después de la aplicación).

Las composiciones y métodos se describen con más detalle a continuación, y se ilustran en los ejemplos.

Como se usa en la presente memoria, y a menos que se especifique otra cosa, "un" o "una" significa "uno o más".

Como se usa en la presente memoria, "aproximadamente" será entendido por los expertos en la técnica y variará en cierta medida según el contexto en el que se use. Si hay usos del término que no están claros para los expertos en la técnica dado el contexto en el que se utiliza, "aproximadamente" significará hasta más o menos 10 % del término particular.

Composiciones farmacéuticas

Como se ha indicado antes, se describen en la presente memoria composiciones que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente terapéuticamente activo y un éster de ácido graso, en donde la relación peso:peso del éster de ácido graso en la composición frente al agente activo en la composición es al menos 4:1 de éster de ácido graso:agente activo, y preferiblemente varía de 4:1 a 20:1. Las composiciones comprenden un agente farmacéuticamente activo, un éster de ácido graso, agua, un alcohol y un ácido graso. En otras realizaciones particulares, la composición comprende además un codisolvente, tal como propilenglicol.

En realizaciones específicas, la composición comprende aproximadamente 2 % de ácido graso (tal como ácido oleico), aproximadamente 2 % de éster de ácido graso (tal como oleato de etilo) y aproximadamente 5 % de codisolvente (tal como propilenglicol). En otras realizaciones específicas, la composición comprende 2 % de ácido graso (tal como el ácido oleico), 2 % de éster de ácido graso (tal como oleato de etilo) y 5 % de codisolvente (tal como propilenglicol). En otras realizaciones específicas, la composición comprende aproximadamente 0,3 % de ácido graso (tal como ácido oleico), aproximadamente 0,3 % de éster de ácido graso (tal como oleato de etilo) y aproximadamente 0,75 % de codisolvente (tal como propilenglicol). En otras realizaciones específicas, la composición comprende 0,3 % de ácido graso (tal como ácido oleico), 0,3 % de éster de ácido graso (tal como oleato de etilo) y 0,75 % de codisolvente (tal como propilenglicol). Como se ha indicado anteriormente, como se usa en la presente memoria, el término "aproximadamente" abarca más o menos el 10 % de las cantidades indicadas.

En algunas realizaciones, la composición comprende los componentes especificados. En algunas realizaciones, la composición consiste en los componentes especificados. En otras realizaciones, la composición consiste esencialmente en los componentes especificados. Como se usa en la presente memoria, "consiste esencialmente en" los componentes especificados significa que la composición incluye al menos los componentes especificados, y también puede incluir otros componentes que no afecten materialmente a las características básicas y novedosas de la invención.

Los componentes específicos de las composiciones se describen en detalle a continuación.

Agentes activos

Las composiciones descritas en esta memoria incluyen al menos un agente terapéuticamente activo. El agente activo puede ser, por ejemplo, una molécula de fármaco de naturaleza generalmente hidrófoba, con un tamaño pequeño, tal como un peso molecular por debajo de 500 dalton. Según la presente invención, las composiciones comprenden un agente activo que se selecciona de esteroides, incluyendo hormonas y hormonas sexuales. El término "hormonas sexuales" se refiere a hormonas esteroideas naturales o sintéticas que interactúan con los receptores de andrógenos o estrógenos de vertebrados, tales como estrógenos, andrógenos, antiandrógenos, progestinas y mezclas de los mismos.

Cuando la composición comprende más de un esteroide, la relación peso:peso del éster de ácido graso en la composición frente a la cantidad total de esteroide en la composición es al menos 4:1 de éster de ácido graso:esteroides, y preferiblemente varía de 4:1 a 20:1.

Cuando la composición de la invención comprende uno o más esteroides y uno o más de otros agentes terapéuticamente activos, la relación peso:peso del éster de ácido graso en la composición frente a la cantidad total de agentes activos en la composición es al menos 4:1 de éster de ácido graso:agentes activos.

Por ejemplo, las hormonas esteroideas adecuadas para uso en las composiciones descritas en la presente memoria incluyen las numerosas hormonas esteroideas naturales y sintéticas, incluyendo andrógenos, estrógenos y progestágenos y sus derivados, tales como la deshidroepiandrosterona (DHEA), androstenodiona, androstenodiol, dihidrotestosterona, testosterona, progesterona, progestinas, estriol, estradiol. Otras hormonas esteroideas adecuadas incluyen glucocorticoides, calciferol, pregnenolona, aldosterona, cortisol y sus derivados. Las hormonas esteroideas adecuadas incluyen especialmente las hormonas sexuales que tienen efectos estrogénicos, progestacionales, androgénicos o anabólicos, tales como estrógeno, estradiol y sus ésteres, por ejemplo, el valerato, benzoato o undecilato, etinilestradiol, etc.; progestágenos, tales como acetato de

noretisterona, levonorgestrel, acetato de clormadinona, acetato de ciproterona, desogestrel o gestodeno, etc.; andrógenos, tales como testosterona y sus ésteres (propionato, undecilato, etc.), etc.; anabólicos, tales como metandrostenolona, nandrolona y sus ésteres.

5 **Estrógenos**

En realizaciones específicas, el uno o más estrógenos se seleccionan del grupo que consiste en estrógenos naturales, tales como 17β-estradiol, estrona, estrógenos conjugados equinos, estriol y fitoestrógenos; estrógenos seminaturales, tales como valerato de estradiol; o estrógenos sintéticos, tales como etinilestradiol.

10

En algunas realizaciones, la invención proporciona una composición farmacéutica para administración tópica a una superficie de la piel que comprende agua, al menos un agente terapéuticamente activo seleccionado de los estrógenos, un alcohol y un éster de ácido graso. En algunas realizaciones, la invención proporciona una composición farmacéutica para administración tópica a una superficie de la piel que comprende agua, al menos un agente terapéuticamente activo que es estradiol, un alcohol y un éster de ácido graso. En realizaciones particulares de tales composiciones cuando el agente activo es estradiol, la composición no comprende además la combinación de progesterona, propilenglicol, ácido oleico, oleato de etilo, etanol, hidroxipropilcelulosa y agua purificada.

15

20 **Andrógenos**

Los andrógenos se pueden seleccionar del grupo que consiste en el andrógeno natural, testosterona y sus derivados semi-naturales o sintéticos, por ejemplo, metiltestosterona; precursores fisiológicos de la testosterona tales como deshidroepiandrosterona o DHEA, o alternativamente prasterona y sus derivados, por ejemplo, sulfato de DHEA, Δ-4-androstenodiona y sus derivados; metabolitos de testosterona, por ejemplo dihidrotestosterona (DHT) obtenida después de la acción enzimática de 5-α-reductasas; o sustancias con un efecto de tipo androgénico, tal como la tibolona.

25

En una realización particular, la invención proporciona una composición farmacéutica para administración tópica a una superficie de la piel que comprende agua, al menos un agente activo seleccionado de los andrógenos, un alcohol y un éster de ácido graso. En realizaciones particulares de tales composiciones, cuando el agente activo es testosterona o dihidrotestosterona (DHT), la composición comprende también un ácido graso como potenciador de la penetración.

30

35 **Antiandrógenos**

Los antiandrógenos se pueden seleccionar del grupo que consiste en compuestos esteroideos tales como acetato de ciproterona y medroxiprogesterona.

40

En una realización particular, la invención proporciona una composición farmacéutica para administración tópica a una superficie de la piel que comprende agua, al menos un agente activo seleccionado de los antiandrógenos, un alcohol y un éster de ácido graso¹.

45 **Progestinas**

La progestina o progestinas utilizadas en la composición farmacéutica según la invención se pueden seleccionar del grupo que consiste en progestinas naturales, progesterona o sus derivados de tipo éster, y progestinas sintéticas de tipo 1, 2 o 3.

45

50 El primer grupo comprende moléculas similares a la progesterona o las progestinas sintéticas 1 (SP1) (pregnanos), por ejemplo, el isómero de progesterona (retroprogesterona), medrogesterona y derivados de norprogesterona (demegestona o promegestona).

55

El segundo grupo comprende derivados de 17α-hidroxi-progesterona o progestinas sintéticas 2 (SP2) (pregnanos), por ejemplo acetato de ciproterona y acetato de medroxiprogesterona.

60

El tercer grupo comprende noresteroides o progestinas sintéticas 3 (SP3), (estranos o nor-androstanos). Estos son derivados de la 19-nortestosterona, por ejemplo, noretindrona. Este grupo comprende también moléculas de tipo gonano, que se derivan de estos nor-androstanos o estranos y tienen un grupo metilo en C18 y un grupo etilo en C13. Los ejemplos que se pueden mencionar incluyen norgestimato, desogestrel (3-cetodesogestrel) o gestodeno. La tibolona, que tiene actividad tanto de progestina como androgénica, también se puede seleccionar ventajosamente en la composición farmacéutica según la invención.

65

En una realización particular, la invención proporciona una composición farmacéutica para administración tópica a una superficie de la piel que comprende agua, al menos un agente terapéuticamente activo seleccionado de las progestinas, un alcohol y un éster de ácido graso. En realizaciones particulares de tales composiciones, cuando

el agente activo es progesterona, la composición no comprende además la combinación de estradiol, propilenglicol, ácido oleico, oleato de etilo, etanol, hidroxipropilcelulosa y agua purificada.

5 En realizaciones particulares, el agente terapéuticamente activo en la composición farmacéutica según la invención es una progestina, un estrógeno o una combinación de los dos.

10 Como se ha indicado antes, cuando la composición comprende más de un esteroide, la relación peso:peso del éster de ácido graso en la composición frente a la cantidad total de agente esteroide activo en la composición es al menos 4:1 de éster de ácido graso:agente activo, tal como variando de 4:1 a 20:1.

15 La cantidad de agente terapéuticamente activo presente en la composición generalmente estará influenciada por la dosis a administrar para el efecto terapéutico y las consideraciones del formulario. Las composiciones generalmente incluyen una cantidad terapéuticamente eficaz de agente activo. Como se usa en la presente memoria, la frase "cantidad terapéuticamente eficaz" significa una cantidad (dosis) que logra en un sujeto la respuesta farmacológica específica para la que se administra el fármaco. Se enfatiza que una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un fármaco que se administra a un sujeto particular en un caso particular puede no ser siempre eficaz en el tratamiento de las enfermedades/afecciones objetivas, incluso aunque dicha dosis se considere que es una cantidad terapéuticamente eficaz por los expertos en la técnica. Los expertos en la técnica reconocerán que la "cantidad terapéuticamente eficaz" puede variar de paciente a paciente, o de afección a afección, y pueden determinar una "cantidad terapéuticamente eficaz" para un paciente/afección dada por medios rutinarios.

20 El agente terapéuticamente activo está ventajosamente presente en la composición en una cantidad que varía de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 5 %, o de 0,01 % a 5 %, incluyendo de aproximadamente 0,02 % a aproximadamente 3 %, o de 0,02 % a 3 %, tal como como de aproximadamente 0,03 % a aproximadamente 2 %, o de 0,03 % a 2 %, incluyendo de aproximadamente 0,05 % a aproximadamente 0,5 %, o de 0,05 % a 0,5 %, tal como de aproximadamente 0,2 % a aproximadamente 0,4 %, o de 0,2 % a 0,4 %, siendo expresados estos porcentajes en peso, con respecto al peso total de la composición farmacéutica. Las composiciones según la invención reivindicada son sólo aquellas que tienen adicionalmente la relación peso:peso reivindicada entre el éster de ácido graso y el agente activo total.

25 Según una realización ventajosa, cuando el agente activo comprende una progestina, el contenido de progestina varía de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 5 %, incluyendo de aproximadamente 0,05 % a aproximadamente 3 %, tal como de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 1 %, siendo expresados estos porcentajes en peso, con respecto al peso total de la composición farmacéutica. Por lo tanto, el contenido de progestina puede variar de 0,01 % a 5 %, incluyendo de 0,05 % a 3 % tal como de 0,1 % a 1 %. Las composiciones según la invención reivindicada son sólo aquellas que tienen adicionalmente la relación peso: peso reivindicada entre el éster de ácido graso y el agente activo total.

35 Según otra realización, cuando el agente activo comprende un estrógeno, el contenido de estrógeno varía de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 5 %, incluyendo de aproximadamente 0,02 % a aproximadamente 3 %, tal como de aproximadamente 0,03 % a aproximadamente 2 %, incluyendo de aproximadamente 0,05 % a aproximadamente 0,50 %, tal como de aproximadamente 0,20 % a aproximadamente 0,40 %, siendo expresados estos porcentajes en peso, con respecto al peso total de la composición farmacéutica. Por lo tanto, el contenido de estrógeno puede variar de 0,01 % a 5 %, incluyendo de 0,02 % a 3 %, tal como de 0,03 % a 2 %, incluyendo de 0,05 % a 0,50 %, tal como de 0,20 % a 0,40 %, incluyendo de aproximadamente 0,30 % a 0,40 %. Las composiciones según la invención reivindicada son sólo aquellas que tienen adicionalmente la relación peso: peso reivindicada entre el éster de ácido graso y el agente activo total.

40 En una realización más preferida, cuando el agente activo comprende un estrógeno, el contenido de estrógeno variará de aproximadamente 0,30 % a 0,40 %.

Éster de ácido graso

55 Las composiciones descritas en la presente memoria comprenden al menos un éster de ácido graso.

60 Los ésteres de ácidos grasos adecuados para uso en la presente memoria incluyen ésteres de ácidos grasos alifáticos de cadena larga que contienen de 8 a 22 átomos de carbono, tales como de 12 a 20 átomos de carbono. Los ésteres de ácidos grasos pueden ser aquellos que resultarían de la reacción de un alcohol con un ácido graso seleccionado, de forma no limitativa, del grupo que consiste en ácido cáprico (10:0), ácido láurico (12:0), ácido mirístico (14:0), ácido palmítico (16:0), ácido esteárico (18:0), ácido oleico (18:1), ácido isoesteárico (18:0), ácido palmitoleico (16:1), ácido linoleico (18:2) y ácido linolénico (18:3).

65 Así, por ejemplo, el éster de ácido graso se puede seleccionar opcionalmente del grupo que consiste en oleato de etilo, oleato de isopropilo, miristato de isopropilo, isoestearato de isopropilo, palmitato de isopropilo, octanoato de etilo, dodecanoato de etilo, linoleato de etilo, palmitoleato de etilo, isoestearato de etilo y linolenato de etilo.

En una realización particular, el éster de ácido graso es un éster que resultaría de la reacción de un alcohol con ácido oleico.

5 En una realización, el éster de ácido graso es un éster que resultaría de la reacción del ácido graso formulado en la composición con un alcohol. En otras realizaciones, el éster de ácido graso no es un éster que resultaría de la reacción del ácido graso formulado en la composición con un alcohol. En una realización, el éster de ácido graso no es el éster que resultaría de la reacción del ácido graso con el alcohol formulado en la composición.

10 Por ejemplo, en el contexto de la presente invención, los resultados ventajosos expuestos en la presente memoria, tales como la administración sostenida que se cree que es debida a la formación de un depósito en la dermis, se pueden observar independientemente de si el éster de ácido graso formulado en la composición corresponde a cualquier ácido graso formulado también en la composición.

15 Como se ha indicado antes, ese éster de ácido graso está presente en la composición en al menos un exceso de cuatro veces con respecto al agente terapéuticamente activo (en base p/p), es decir, la relación peso:peso del éster de ácido graso presente en la composición frente al agente activo presente en la composición es al menos 4:1 de éster de ácido graso:agente activo, y preferiblemente varía de 4:1 a 20:1. En una realización preferida, la relación peso:peso del éster de ácido graso presente en la composición frente al agente activo presente en la composición varía de 4:1 a 15:1, preferiblemente de 5:1 a 10:1, y más preferiblemente de 5:1 a 7:1. Dentro de estos parámetros, el contenido de éster de ácido graso en la composición farmacéutica puede variar de aproximadamente 0,1 % a 5 % en peso, tal como de aproximadamente 0,2 % a 5 % en peso, incluyendo de aproximadamente 0,5 % a 5 % en peso, todo basado en el peso total de la composición farmacéutica. Por lo tanto, las composiciones pueden comprender éster de ácido graso en una cantidad de 0,1 % a 5 % en peso, tal como de 0,2 % a 5 % en peso, incluyendo de 0,5 % a 5 % en peso.

25 En particular, el contenido de éster de ácido graso en la composición farmacéutica puede variar de 0,01 % a 5 %, incluyendo de aproximadamente 0,05 % a aproximadamente 2,4 %, tal como de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 2,2 %, siendo expresados estos porcentajes en peso, con respecto al peso total de la composición farmacéutica. Por lo tanto, el contenido de éster de ácido graso puede variar de 0,01 % a 5 %, incluyendo de 0,05 % a 2,4 %, tal como de 0,1 % a 2,2 %.

Ácido graso

35 La composición comprende al menos un ácido graso que puede ser saturado o insaturado, tal como un ácido graso potenciador de la penetración. Ácidos grasos adecuados para su uso según la invención incluyen ácidos grasos alifáticos de cadena larga que contienen de 8 a 22 átomos de carbono, tales como de 10 a 18 átomos de carbono. Los ácidos grasos se pueden seleccionar, de forma no limitativa, del grupo que consiste en ácido cáprico (10:0), ácido láurico (12:0), ácido mirístico (14:0), ácido palmítico (16:0), ácido esteárico (18:0); ácido oleico (18:1), ácido isoesteárico (18:0), ácido palmitoleico (16:1), ácido linoleico (18:2) y ácido linoléico (18:3).

40 En una realización particular, el ácido graso es ácido oleico.

En una realización particular, el ácido graso formulado en la composición corresponde al éster de ácido graso también formulado en la composición, tal como una composición de oleato de etilo y ácido oleico. Por lo tanto, en una realización particular, la composición de la invención comprende tanto ácido oleico como al menos uno de sus ésteres correspondientes. En otras realizaciones, el ácido graso formulado en la composición no corresponde al éster de ácido graso también formulado en la composición

45

El contenido de ácido graso en la composición según la presente invención variará ventajosamente de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 5 %, incluyendo de aproximadamente 0,05 % a aproximadamente 3,5 %, tal como de aproximadamente 1 % a aproximadamente 3 %, siendo expresados estos porcentajes en peso, con respecto al peso total de la composición farmacéutica. Por lo tanto, el contenido del ácido graso puede variar de 0,01 % a 5 %, incluyendo de 0,05 % a 3,5 %, tal como de 1 % a 3 %.

50

Alcohol

55 Como se ha indicado antes, las composiciones de la invención comprenden al menos un monoalcohol C2-C6. Como se usa en esta memoria, el término "alcohol" se refiere a una molécula orgánica que contiene al menos un átomo de carbono y solamente un grupo alcohol -OH (monoalcohol).

60 Los ejemplos de alcoholes C2-C6 pueden incluir alcoholes C2-C4, tales como etanol, *n*-propanol, isopropanol, *n*-butanol, isobutanol, *terc*-butanol o mezclas de los mismos. Ejemplos de monoalcoholes C2-C6, no limitantes, adecuados para uso en las composiciones de la invención son etanol e isopropanol.

La presencia de tal monoalcohol C2-C6 puede acelerar también el secado de la composición sobre la piel. Por esa razón, se pueden elegir monoalcoholes C2-C6 que tienen un punto de ebullición en el intervalo de aproximadamente 70 a aproximadamente 130 °C, incluyendo en el intervalo de aproximadamente 75 a

65

aproximadamente 85 °C.

Típicamente, el monoalcohol C2-C6 se usará en una cantidad que varía de aproximadamente 10 % a aproximadamente 90 %, incluyendo de aproximadamente 20 % a aproximadamente 80 %, tal como de aproximadamente 45 % a aproximadamente 75 %, siendo expresados estos porcentajes en peso, con respecto al peso total de la composición farmacéutica. Por lo tanto, el monoalcohol C2-C6 puede estar presente en una cantidad que varía de 10 % a 90 %, incluyendo de 20 % a 80 %, tal como de 45 % a 75 %.

Codisolvente

La composición farmacéutica según la invención también puede comprender un codisolvente. Los codisolventes adecuados para uso en composiciones farmacéuticas son conocidos en la técnica, tales como polioles o poliglicoles, seleccionados ventajosamente del grupo que consiste en glicerol, propilenglicol y polietilenglicol.

El codisolvente puede estar presente en la composición de la invención, en una cantidad que varía de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 7 %, incluyendo de aproximadamente 3 % a aproximadamente 7 %, tal como de aproximadamente 4 % a aproximadamente 6 %, siendo expresados estos porcentajes en peso, con respecto al peso total de la composición farmacéutica. Por lo tanto, el codisolvente puede estar presente en una cantidad que varía de 0,01 % a 7 %, incluyendo de 3 % a 7 %, tal como de 4 % a 6 %.

El codisolvente generalmente aumenta la solubilidad del agente o agentes terapéuticamente activos y en particular puede contribuir a mantener en solución el agente terapéuticamente activo que permanece sobre la superficie de la piel una vez que se ha secado el alcohol. Por esa razón, se pueden seleccionar codisolventes que tienen un punto de ebullición en el intervalo de aproximadamente 150 °C a aproximadamente 300 °C, tal como en el intervalo de aproximadamente 150 °C a aproximadamente 200 °C.

Agentes gelificantes

Las composiciones de la invención comprenden al menos un agente gelificante.

Como se usa en la presente memoria, el término "agente gelificante" especifica un compuesto, opcionalmente de naturaleza polimérica, que tiene la capacidad de formar un gel cuando se pone en contacto con un disolvente específico, por ejemplo, agua. Los agentes gelificantes (por ejemplo, espesantes) adecuados para uso en composiciones farmacéuticas son conocidos en la técnica. Los agentes gelificantes pueden actuar para aumentar la viscosidad de las composiciones farmacéuticas de la invención. Por ejemplo, un agente gelificante puede proporcionar a la composición una viscosidad suficiente para permitir la aplicación fácil de la composición sobre la piel. Adicional o alternativamente, los agentes gelificantes pueden actuar como agentes solubilizantes.

Los ejemplos de agentes gelificantes incluyen polímeros aniónicos tales como polímeros a base de ácido acrílico (incluyendo polímeros de ácido poliacrílico, por ejemplo Carbopol® de Noveon, Ohio), derivados de celulosa, poloxámeros y poloxaminas, más precisamente, carbómeros que son polímeros a base de ácido acrílico, p.ej. Carbopol® 980 o 940, 981 o 941, 1342 o 1382, 5984, 934 o 934P (Carbopol® suelen ser polímeros de ácido acrílico reticulados con alil sacarosa o alilpentaeritritol), Ultrez, Pemulen TR1® o TR2® comercializados por Lubrizol (copolímero de ácido acrílico de alto peso molecular y acrilato de alquilo C10-C30 reticulado con alil pentaeritritol), Synthalen CR, etc.; derivados de celulosa tales como carboximetilcelulosas, hidroxipropilcelulosas (Klucel®, por ejemplo Klucel HF® o Klucel HPC® comercializados por Hercules Incorporated), hidroxietilcelulosas, etilcelulosas, hidroximetilcelulosas, hidroxipropilmetilcelulosas, y similares, y mezclas de los mismos; poloxámeros o copolímeros de polietileno-polipropileno tales como Lutrol® grado 68 o 127, poloxaminas y otros agentes gelificantes tales como quitosano, dextrano, pectinas y gomas naturales. Uno cualquiera o más de estos agentes gelificantes se pueden usar solos o en combinación en las composiciones farmacéuticas según la invención. En un aspecto, el agente gelificante se selecciona del grupo que consiste en ácidos poliacrílicos, productos celulósicos y mezclas de los mismos.

En una realización preferida, las composiciones de la invención comprenden Pemulen® como agente gelificante.

El agente gelificante se usa en una cantidad que varía de 0,05 % a aproximadamente 5 % en peso, incluyendo de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 3 %, tal como de aproximadamente 1,5 % a aproximadamente 2,5 % en peso, siendo expresados estos porcentajes en peso, con respecto al peso total de la composición farmacéutica. Por lo tanto, el agente gelificante puede estar presente en una cantidad que varía de 0,05 % a 5 % en peso, incluyendo 0,1 % a 3 %, tal como de 1,5 % a 2,5 % en peso.

Humectantes

Las composiciones de la invención pueden comprender opcionalmente al menos un humectante.

Como se usa en la presente memoria, "humectante" especifica un agente que hidrata la piel. Los humectantes

adecuados para uso en composiciones farmacéuticas son conocidos en la técnica. Los humectantes se pueden usar solos o en combinación, por ejemplo, se puede usar una combinación de dos o tres (o más) humectantes diferentes. En algunas realizaciones, los humectantes se seleccionan de emolientes y/o hidratantes.

5 Como se usa en la presente memoria, "emolientes" especifica sustancias que suavizan la piel y tienden a mejorar la humectación de la piel. Los emolientes adecuados para uso en composiciones farmacéuticas son bien conocidos en la técnica e incluyen aceite mineral, vaselina, polideceno, isohexadecano, ácidos grasos y alcoholes que tienen de 10 a 30 átomos de carbono; ácidos y alcoholes pelargónico, láurico, mirístico, palmítico, esteárico, isoesteárico, hidroxisteárico, oleico, linoleico, ricinoleico, araquídico, behénico y eurístico; ésteres de triglicéridos, aceite de ricino, manteca de cacao, aceite de cártamo, aceite de girasol, aceite de jojoba, aceite de algodón, aceite de maíz, aceite de oliva, aceite de hígado de bacalao, aceite de almendras, aceite de aguacate, aceite de palma, aceite de sésamo, escualeno, aceite de Kikui, aceite de soja, ésteres de acetoglicéridos, glicéridos etoxilados, monoestearato de glicerilo etoxilado, ésteres alquílicos de ácidos grasos con 10 a 20 átomos de carbono, laurato de hexilo, laurato de isohexilo, palmitato de isohexilo, palmitato de isopropilo, oleato de decilo, oleato de isodecilo, estearato de hexadecilo, estearato de decilo, adipato de diisopropilo, adipato de diisohexilo, sebacato de diisopropilo, lactato de laurilo, lactato de miristilo, lactato de acetilo; ésteres alquénlicos de ácidos grasos que tienen de 10 a 20 átomos de carbono, miristato de oleilo, estearato de oleilo, oleato de oleilo, ésteres de ácidos grasos de alcoholes grasos etoxilados, ésteres de alcoholes polihidroxilados, monoésteres y diésteres de ácidos grasos con etilenglicol, monoésteres y diésteres de ácidos grasos con dietilenglicol, polietilenglicol, ésteres de cera, cera de abeja, espermaceti, miristato de miristilo, estearato de estearilo, aceites de silicona, dimeticonas, ciclometiconas. En algunas realizaciones, la composición comprende uno o más emolientes que son líquidos a temperatura ambiente.

25 Como se usa en la presente memoria, "hidratantes" especifica sustancias higroscópicas que absorben agua desde el aire. Los hidratantes adecuados para uso en la invención incluyen glicerina, propilenglicol, triacetato de glicerilo, un poliol, sorbitol, maltitol, un poliol polimérico, polidextrosa, quilya, ácido láctico y urea.

Los humectantes adecuados para uso en la presente invención pueden comprender aminas, alcoholes, glicoles, amidas, sulfóxidos y pirrolidonas. En un aspecto, el humectante se selecciona del grupo que consiste en ácido láctico, glicerina, propilenglicol y urea.

35 En una realización de la invención, el humectante se usa en una cantidad que varía de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 30 % en peso, incluyendo de aproximadamente 0,05 % a aproximadamente 20 % en peso, tal como de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 10 % en peso, incluyendo de aproximadamente 0,5 % a aproximadamente 5 % en peso, siendo expresados estos porcentajes en peso, con respecto al peso total de la composición farmacéutica. Así, por ejemplo, se puede usar un humectante en una cantidad que varía de 0,01 % a 30 % en peso, incluyendo de 0,05 % a 20 % en peso, tal como de 0,1 % a 10 % en peso, incluyendo de 0,5 % a 5 % en peso.

40 En una realización, la composición comprende glicerina en una cantidad que varía de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 30 % en peso, incluyendo de aproximadamente 0,05 % a aproximadamente 20 % en peso, tal como de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 10 % en peso, incluyendo de aproximadamente 0,5 % a aproximadamente 5 % en peso, siendo expresados estos porcentajes en peso, con respecto al peso total de la composición farmacéutica. Por lo tanto, una composición puede comprender glicerina en una cantidad que varía de 0,01 % a 30 % en peso, incluyendo de 0,05 % a 20 % en peso, tal como de 0,1 % a 10 % en peso, incluyendo de 0,5 % a 5 % en peso.

Vehículo acuoso

50 Como se ha indicado antes, la composición de la invención comprende un vehículo acuoso, y por lo tanto incluye agua. Los vehículos acuosos adecuados para composiciones farmacéuticas son conocidos en la técnica.

Según un aspecto de la invención, el vehículo acuoso comprende, además de agua, ingredientes útiles para ajustar el pH, por ejemplo al menos un agente tamponante, que hace posible ventajosamente mantener el pH de la composición entre aproximadamente 4 y aproximadamente 10, tal como entre aproximadamente 5 y aproximadamente 9, o entre aproximadamente 6 y aproximadamente 8, incluyendo de 4 a 10, de 5 a 9 y de 6 a 8.

60 Según una realización particular de la composición farmacéutica según la invención, los tampones se seleccionan del grupo que consiste en:

- tampones basificantes o básicos tales como un tampón de fosfato (por ejemplo, fosfato de sodio dibásico o monobásico), un tampón de citrato (por ejemplo, citrato de sodio o citrato de potasio), carbonato de sodio, bicarbonato de sodio, incluyendo una mezcla de carbonato de sodio y bicarbonato de sodio, o
- tampones neutros tales como un tampón Tris (por ejemplo, tris maleato) o un tampón de fosfato.

En una realización preferida, las composiciones de la invención comprenden una mezcla de carbonato de sodio y bicarbonato de sodio.

5 El tampón se puede introducir en la composición bien directamente, por ejemplo, añadido en forma de polvo, o diluido en agua, por ejemplo a una concentración que varía de 1 a 500 mM. De este modo, la solución tampón líquida se puede introducir en la composición.

10 Los expertos en la técnica deben saber cómo ajustar la cantidad de tampón para obtener el efecto amortiguador deseado, dependiendo de la naturaleza química del tampón utilizado, su forma (en polvo o diluido en agua) y el pH de la composición de partida y deseado.

15 Sin limitarse a estos valores, se puede estimar razonablemente que cuando los tampones utilizados en la composición son una mezcla de carbonato de sodio y bicarbonato de sodio introducida en forma de polvo (véase el ejemplo 8 de la presente solicitud), se puede introducir carbonato de sodio en una cantidad que varía de aproximadamente 0,01 a 0,1 %, y se puede introducir bicarbonato de sodio en una cantidad que varía de aproximadamente 0,001 a 0,01 %, siendo expresados estos porcentajes en peso, con respecto al peso total de la composición farmacéutica.

20 Sin limitarse a estos valores, se puede estimar razonablemente que cuando el tampón utilizado en la composición es una solución 60 mM de tampón de carbonato que tiene un pH = 10,7 (véanse los ejemplos 1 a 3 de la presente solicitud), se puede introducir la solución tampón 60 mM en una cantidad que varía de aproximadamente 1 % a aproximadamente 80 %, incluyendo de aproximadamente 5 % a aproximadamente 70 %, tal como de aproximadamente 10 % a aproximadamente 50 %, siendo expresados estos porcentajes en peso, con respecto al peso total de la composición farmacéutica.

Sin embargo, la cantidad de tampón en la composición puede variar además dependiendo de la composición de la fórmula en la que se introduce, de acuerdo con las técnicas estándar de amortiguación.

30 En otro aspecto, la composición farmacéutica de la invención comprende además una base. Ventajosamente, la base es, por ejemplo, farmacéuticamente aceptable, y se selecciona típicamente del grupo que consiste en trietanolamina, hidróxido de sodio, hidróxido de amonio, hidróxido de potasio, arginina, aminometilpropanol o trometamina, y sus mezclas. Cuando el pH de la composición farmacéutica no está optimizado para administración transdérmica, por ejemplo, cuando el agente gelificante comprende al menos un polímero a base de ácido acrílico que da como resultado un pH más ácido que el deseado para el producto final, el uso de una base puede contribuir a la neutralización de la composición farmacéutica. Además, el uso de la base (neutralizador) puede mejorar u optimizar el hinchamiento de las cadenas poliméricas durante la neutralización de las cargas y la formación de sales poliméricas. En realizaciones en las que el agente gelificante comprende un polímero a base de ácido acrílico, la base puede comprender trietanolamina. El uso de una base también puede mejorar u optimizar la viscosidad.

45 Los expertos sabrán cómo elegir una cantidad adecuada de base para uso en la composición, y pueden seleccionar la base basándose en la naturaleza del agente gelificante presente en la composición, y en el contenido de alcohol de la composición. Por ejemplo, con carbómeros y/o un alto contenido de alcohol, se pueden seleccionar como base la trometamina y/o el NaOH, en cantidades elegidas para alcanzar el pH final deseado en la composición.

Componentes adicionales opcionales

50 Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden comprender opcionalmente otros aditivos farmacéuticos habituales, incluyendo sal o sales, estabilizante o estabilizantes, agente o agentes antimicrobianos tales como compuestos de parabeno, fragancias y/o propelentes.

55 Por ejemplo, puede ser ventajoso incluir un estabilizante tal como butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT) y ácido ascórbico. El BHA, sin embargo, puede colorear las composiciones de la invención de amarillo. Por lo tanto, en una realización más preferida, la composición de la invención no comprende BHA.

60 Dependiendo de la naturaleza de los ingredientes seleccionados, puede ser ventajoso incluir un tensioactivo. Los tensioactivos adecuados para uso en composiciones farmacéuticas son conocidos en la técnica, y los expertos pueden seleccionar tensioactivos adecuados para uso en la presente invención, tales como tensioactivos que son dermatológica y/o cosméticamente aceptables. Los ejemplos de los mismos incluyen tensioactivos no iónicos, por ejemplo:

- ésteres, tales como:
 - o ésteres de polietilenglicol con ácidos grasos, incluyendo Labrasol®, que es una mezcla de mono-, di- y

triglicéridos y de mono y diésteres de polietilenglicol con ácidos grasos;

o ésteres de sacarosa con ácidos grasos, tales como laurato de sacarosa con HLB16; palmitato de sacarosa con HLB 16;

o ésteres de polioxietilen sorbitán, tales como compuestos Tween® incluyendo Tween® 20, 60 y/u 80;

- copolímeros de óxido de alquileo, tales como copolímeros de óxido de etileno y óxido de propileno, p.ej. Pluronic®.

Otros ejemplos incluyen tensioactivos aniónicos tales como SDS (dodecilsulfato de sodio) y similares y tensioactivos catiónicos tales como cetrimida (bromuro de alquiltrimetilamonio) y similares.

Típicamente, los tensioactivos se utilizarán en las composiciones de la invención en una cantidad que varía de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 5 % en peso, incluyendo de aproximadamente 0,05 % a aproximadamente 3 % en peso, siendo expresados estos porcentajes en peso, con respecto al peso total de la composición farmacéutica. De este modo, se puede usar un tensioactivo en las composiciones en una cantidad que varía de 0,01 % a 5 % en peso, incluyendo de 0,05 % a 3 % en peso.

La composición farmacéutica según la invención puede estar en forma de una solución, un gel, una crema, una loción, una leche, una pomada, un aerosol o un parche.

En una realización particular, la composición de la invención está en la forma de un gel o una solución.

Ejemplos de composición y usos

A continuación se proporcionan composiciones ejemplares, no limitantes. Como se ha mencionado antes, los porcentajes (%) se refieren a cantidades en peso basadas en el peso total de la composición (p/p). La suma de los diferentes componentes de la composición completa hasta el 100 % (p/p) de la composición total. En una realización preferida, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica para administración tópica a una superficie de la piel en donde la composición comprende:

(i) 0,01 a 1,25 % (p/p), preferiblemente 0,30 a 0,50 % (p/p), de un agente farmacéuticamente activo elegido de los estrógenos, preferiblemente estradiol,

(ii) 20 a 80 % (p/p) de al menos un monoalcohol C2-C6, tal como etanol o isopropanol,

(iii) 0,04 a 5 % (p/p) de un éster de ácido graso, preferiblemente oleato de etilo

(iv) 0,01 a 5 % (p/p) de un ácido graso, preferiblemente ácido oleico,

(v) 0,05 % a 5 % (p/p) de al menos un agente gelificante, preferiblemente un copolímero de alto peso molecular de ácido acrílico y acrilato de alquileo C10-C30 reticulado con alilpentaeritritol, por ejemplo Pemulen® TR-1,

(vi) agua c.s.p. 100 % (p/p),

en donde la relación peso:peso del éster de ácido graso en la composición frente al agente activo total en dicha composición es al menos 4:1 de éster de ácido graso:agente activo, y preferiblemente varía de 4:1 a 7:1.

Dependiendo del agente activo utilizado, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden ser útiles para diversos tratamientos. Por ejemplo, las composiciones se pueden utilizar en cualquier método donde se desee la administración de un agente farmacéuticamente activo, y pueden ser particularmente útiles cuando se desee una administración sistémica sostenida del agente farmacéuticamente activo. Las composiciones de la invención se pueden usar en cualquier método donde se desee la administración de los esteroides, y puede ser particularmente útil cuando se desee una administración sostenida y sistémica de los esteroides. Por ejemplo, las composiciones se pueden utilizar en métodos para tratar a un paciente que padece o está en riesgo de desarrollar cualquier afección que se pueda tratar, mejorar o prevenir por la administración sistémica de uno o más esteroides.

Los métodos terapéuticos ejemplares, no limitantes incluyen:

- Cuando el agente activo es un estrógeno tal como estradiol, un andrógeno tal como testosterona o DHT, las composiciones de la invención son útiles para tratar un trastorno relacionado con los huesos tales como osteoporosis, osteoporosis asociada a la menopausia, osteoporosis inducida por glucocorticoides, enfermedad de Paget, resorción ósea anormal, cáncer óseo, pérdida ósea (pérdida ósea generalizada y/o

pérdida ósea localizada), metástasis ósea (con o sin hipercalcemia), mieloma múltiple y otras afecciones que presentan fragilidad ósea.

- 5 - Cuando el agente activo es un estrógeno tal como el estradiol, las composiciones de la invención son útiles para:
- la prevención de enfermedades cardiovasculares o la mejora de las funciones cognitivas;
 - 10 - el control de los síntomas de la menopausia, tales como sofocos, sudores nocturnos, problemas para dormir (insomnio), fatiga, sequedad vaginal y picazón y ardor, pérdida de deseo sexual, períodos irregulares, problemas de vejiga y cambios de humor;
 - cáncer de próstata; y
 - 15 - otras terapias que implican la administración sistémica de un estrógeno.
- Cuando el agente activo es un progestágeno tal como progesterona, las composiciones descritas en la presente memoria son útiles para tratar:
- 20 - las enfermedades mamarias benignas, mastodinia, mastopatía, mastalgia cíclica, y para prevenir los quistes y la recaída de un tumor benigno,
 - síndrome premenstrual, irregularidades menstruales debidas a trastornos de la ovulación o anovulación, mastopatía benigna, premenopausia, uso coadyuvante con estrógenos en mujeres posmenopáusicas, prevención de la hiperplasia endometrial en mujeres postmenopáusicas no hysterectomizadas que reciben
 - 25 - terapia de estrógenos, infertilidad debida a defecto de la fase lútea, amenaza de aborto y amenaza de parto prematuro, apoyo de progesterona durante insuficiencia ovárica o insuficiencia ovárica completa, en mujeres sin función ovárica (donación de oocitos), para soporte de la fase lútea durante ciclos de fertilización *in vitro*, para soporte de la fase lútea durante ciclos espontáneos o inducidos, en infertilidad
 - 30 - primaria o secundaria o subfertilidad en particular debida a disovulación; y
 - otras terapias que implican la administración sistémica de un progestágeno.

35 Cuando el agente activo es un andrógeno tal como testosterona o DHT, las composiciones de la invención son útiles para tratar:

- hipogonadismo;
- 40 - trastorno depresivo, diabetes tipo 2, para aumentar el control glucémico, disfunción eréctil, síndrome metabólico, fragilidad, angina de pecho, insuficiencia cardíaca congestiva, osteopenia y osteoporosis; y
- otras terapias que implican la administración sistémica de un andrógeno.

45 Aunque se han proporcionado los ejemplos anteriores, los expertos en la técnica apreciarán fácilmente que las composiciones descritas en la presente memoria son útiles en cualquier contexto en el que se desee la administración sistémica de un agente farmacéuticamente activo, tal como uno o más esteroides. Además, para todos y cada uno de los usos, un experto en la técnica podrá determinar las cantidades apropiadas de gel a aplicar diariamente para alcanzar un objetivo de nivel de administración *in vivo* utilizando un gel dado con una concentración dada de agente activo tal como utilizando datos de permeación tales como como los que se

50 presentan en la figura 2.

Ejemplos de modos de administración

55 Como se ha indicado antes, las composiciones descritas en la presente memoria son adecuadas para administración transdérmica. Por ejemplo, las composiciones se pueden aplicar directamente a una superficie de la piel, para aplicación directa transdérmica/transcutánea no oclusiva. Como se usa en la presente memoria, los términos "directo" / "directamente" y "no oclusivo" reflejan que las composiciones no requieren una matriz o membrana para efectuar la administración y, por lo tanto, no se requiere que sean dispensadas a través de un parche, yeso, sistema de cinta adhesiva, o similares. Sin embargo, las composiciones se pueden dispensar

60 opcionalmente a través de un parche, yeso, sistema de cinta adhesiva o similares.

Las composiciones se pueden administrar por cualquier medio eficaz para aplicar la composición a una superficie de la piel. Por ejemplo, las composiciones se pueden aplicar manualmente, directamente utilizando la mano o con un aplicador tal como un gotero o pipeta, un aplicador tal como un hisopo, cepillo, paño, almohadilla, esponja

65 o con cualquier otro aplicador, tal como un soporte sólido que comprende papel, cartón o un material laminado, incluyendo material que comprende fibras flocadas, encoladas o fijadas de otro modo. Alternativamente, las

composiciones se pueden aplicar como una pulverización en aerosol o no aerosol, desde un recipiente presurizado o no presurizado. En algunas realizaciones, las composiciones se administran en dosis medidas, tal como desde un aplicador de dosis medida o desde un aplicador que comprende una única dosis de la composición.

5 En algunas realizaciones, la composición se administra a una superficie de la piel sobre un área superficial definida. La administración de una cantidad finita definida de la composición a un área superficial definida permite el control de la cantidad de sustancia activa que se aplica a un área superficial dada, es decir, controlando la concentración local. Al controlar (por ejemplo, limitar) la concentración local, se pueden minimizar los efectos secundarios locales, tales como los efectos androgénicos locales (que incluyen, pero no se limitan a: acné, piel grasa).

10 En algunas realizaciones, la cantidad de composición administrada es una cantidad finita definida que proporciona una cantidad terapéuticamente eficaz (por ejemplo, una dosis única) de agente activo.

15 **Métodos de preparación de las composiciones**

Los expertos en la técnica pueden preparar las composiciones farmacéuticas de la invención por cualquier medio adecuado, basado en el conocimiento general común. Por ejemplo, el agente o agentes farmacéuticamente activos se pueden disolver en el alcohol y se pueden mezclar con el vehículo acuoso (por ejemplo, agua y otros componentes opcionales expuestos anteriormente) y con el codisolvente, si se usa, seguido por la adición de los otros excipientes, tales como el humectante si se usa, y mezclar adicionalmente. Si se utiliza un agente gelificante, se puede introducir con agitación. Un neutralizante, si se usa, se añade normalmente al final o cerca del final del procedimiento, tal como por ejemplo a la composición por lo demás final. Por ejemplo, si la composición comprende Carbopol®, se pueden utilizar NaOH o trietanolamina para neutralizar la composición. Otros componentes opcionales se pueden añadir en otras etapas del método, según procedimientos conocidos. Por ejemplo, un conservante, si se utiliza, se puede añadir en un disolvente apropiado, en cualquier momento adecuado del procedimiento.

30 Por ejemplo, en una realización particular, los componentes se pueden añadir y mezclar en el siguiente orden:

1. Añadir el alcohol y el codisolvente y mezclar hasta que sea uniforme.
2. Añadir lentamente el agente terapéuticamente activo y mezclar hasta que esté completamente disuelto.
3. Añadir el ácido graso y mezclar hasta que sea uniforme.
4. Añadir el éster de ácido graso y mezclar hasta que sea uniforme.
5. Añadir lentamente el agente gelificante, si se usa, y mezclar bien hasta que esté completamente hidratado.
6. Añadir lentamente solución tampón, si se usa, y mezclar hasta que sea uniforme.

45 Los siguientes ejemplos específicos se incluyen como ilustrativos de las composiciones descritas en la presente memoria. Estos ejemplos no pretenden de ninguna manera limitar el alcance de la invención. Otros aspectos de la invención serán evidentes para los expertos en la técnica a la que pertenece la invención.

Ejemplos

50 **Referencia**

Ejemplo 1: Absorción *in vitro* de estradiol en la dermis

55 **A. Productos químicos y formulaciones**

El estradiol [³H] tritiado se utiliza en la preparación de composiciones farmacéuticas como se indica a continuación.

Formulación	1	2	3	4
Estradiol (E2) (g)	0,12	0,12	0,24	0,24
Ácido oleico (OA) (g)	2	2	2	2
Oleato de etilo (EO) (g)	-	2	-	2

Formulación	1	2	3	4
Propilenglicol (PG) (g)	5	5	5	5
Etanol 96 % (g)	64	72	64	72
Tampón de carbonato (CB) 60 mM, pH 10,7 c.s.p. (g)	100	100	100	100

El contenido de alcohol se adapta para solubilizar los ingredientes lipófilos.

B. Métodos

5

1. Principio del método

Se estudia cuantitativamente la absorción percutánea *in vitro* con biopsias de piel humana colocadas en celdas de difusión de Franz (Franz TJ, "Percutaneous absorption on the relevance of *in vitro* data", J Invest Dermatol. 1975 Mar; 64(3): 190-5) que permiten el contacto de un fluido receptor con la dermis en la que se mide la sustancia absorbida.

10

2. Descripción de las celdas

Una biopsia de la piel se mantiene horizontalmente entre las dos partes de la celda de Franz, que delimitan dos compartimentos separados denominados epidérmico y dérmico. El compartimento epidérmico consiste en una tapa de celda de vidrio de área superficial precisa (1,77 cm²), colocada en el lado superior de la piel. El compartimento dérmico, en el lado inferior de las biopsias de la piel, comprende un reservorio de volumen fijo (~ 6,5 ml) equipado con un puerto de recogida lateral. Los dos elementos se mantienen en su lugar con una abrazadera.

15

20

El compartimento dérmico se llena con un fluido receptor que consiste en una solución de cloruro de sodio a 9 g/L y albúmina de suero bovino a 15 g/L. Este líquido se elimina por completo de forma periódica durante todo el ensayo y se reemplaza por líquido receptor fresco utilizando el puerto de recogida lateral.

25

Una camisa doble de circulación de agua, que contiene agua a 37 °C, rodea la parte inferior de la celda con el fin de imitar la temperatura fisiológica de la piel. Para asegurar la homogeneidad de la temperatura y del contenido en el fluido receptor, se coloca una varilla de agitación en el compartimento dérmico y cada celda se coloca en un agitador magnético.

30

La parte superior, o compartimento epidérmico, está abierto en el extremo exterior, exponiendo la superficie de la piel al aire ambiente del laboratorio.

3. Preparación de biopsias de piel

35

Las pieles abdominales humanas utilizadas para los experimentos se toman de donantes después de procedimientos de cirugía plástica. Las pieles se almacenan a -20 °C. El día antes de la aplicación de las formulaciones radiactivas, después de descongelación, se eliminan las grasas subcutáneas (a menos que ya se haya hecho antes de la congelación), y las pieles se dividen en dermatomas a aproximadamente 350 µm. Las pieles se montan sobre las celdas el día antes de la aplicación de la formulación radiactiva.

40

4. Procedimientos de operación

Se aplican diez microlitros (≈ 1 µCi) de las preparaciones sobre la superficie de la epidermis delimitada por la tapa de la celda de vidrio. Durante el experimento, el fluido receptor se elimina completamente a las 2, 4, 6, 8 y 24 horas a través del puerto de recogida lateral. El compartimento dérmico se rellena entonces con solución nueva.

45

Al final de la prueba (24 horas), el fármaco residual que queda en la superficie de la piel se elimina lavando la superficie. La epidermis se separa de la dermis raspando suavemente con un bisturí.

50

5. Tratamiento de las muestras y medida de la radiactividad

La radiactividad contenida en las muestras obtenidas como se ha descrito previamente se mide utilizando un contador beta de centelleo líquido equipado con un software dedicado.

55

6. Expresión de los resultados obtenidos para la dermis:

La cantidad de estradiol que se encuentra en la dermis se expresa en cantidades ng-equivalentes o en

porcentajes de la dosis administrada. Cada resultado representa el valor medio de (n) determinaciones experimentales y se asocia con su desviación estándar.

7. Resultados y discusión:

5

Nº	Formulaciones	(n)	Cantidad de estradiol (ng) recuperado en la dermis a las 24 h	% de estradiol (ng) recuperado en la dermis a las 24 h	Test estadístico de Mann-Whitney*
1	E2 0,12 % + OA 2 % + PG 5 % + Etanol 64 % + CB	15	704 ± 244	7,08 ± 2,48	Valor P Form. 1/Form. 2 = 0,0004
2	E2 0,12 % + OA 2 % + EO 2 % + PG 5 % + Etanol 72 % + CB	16	1219 ± 418	12,63 ± 4,33	
3	E2 0,24 % + OA 2 % + PG 5 % + Etanol 64 % + CB	16	1557 ± 568	7,79 ± 2,83	Valor P Form. 3/Form. 4 = 0,003
4	E2 0,24 % + OA 2 % + EO 2 % + PG 5 % + Etanol 72 % + CB	17	2563 ± 847	13,07 ± 4,27	

* realizado sobre los datos del % de estradiol recuperado en la dermis a las 24 h

Estos resultados muestran que a ambas concentraciones de estradiol ensayadas, la adición de oleato de etilo induce un aumento significativo (de al menos 1,5 veces) en la retención de estradiol en la dermis (p <0,01). (Compárese los resultados con Formulación 2 frente a Formulación 1 y Formulación 4 frente a Formulación 3).

10

Referencia

Ejemplo 2: Absorción *in vitro* de testosterona en la dermis

15

A. Productos químicos y formulaciones

Se utiliza testosterona [3H] tritiada en la preparación de las composiciones farmacéuticas como se indica a continuación.

Formulación		1	2
Testosterona (T)	(g)	0,24	0,24
Ácido oleico (OA)	(g)	2	2
Oleato de etilo (EO)	(g)	-	2
Propilenglicol (PG)	(g)	5	5
Etanol 96 %	(g)	64	72
Tampón de carbonato (CB)	60 mM, pH 10,7 c.s.p. (g)	100	100

20

El contenido de alcohol se adapta para solubilizar los ingredientes lipófilos.

B. Métodos y resultados

25

Los procedimientos operativos descritos en el Ejemplo 1 se siguen con las dos formulaciones de testosterona descritas anteriormente.

30

Después de 24 horas, el fármaco residual que queda en la superficie de la piel se elimina lavando celda por celda la superficie de la piel justo antes de volver a rellenar el compartimento dérmico con líquido receptor nuevo. Las celdas se monitorizan entonces durante otras 24 horas.

35

Después de 48 horas, se recoge el fluido receptor y se separa la epidermis de la dermis raspando suavemente con un bisturí. Se separa la dermis de la parte inferior de la celda. Las capas de epidermis y dermis se digieren durante unas horas a 60 °C para extracción de la radiactividad en 1 ml (epidermis) o en 3 ml (dermis) de Soluene 350™ (PACKARD).

a) Retención en la dermis a las 48 h:

Nº	Formulaciones	(n)	Cantidad de testosterona (ng) recuperada en la dermis a las 48 h	% de testosterona recuperada en la dermis a las 48 h	Test estadístico de Mann-Whitney
1	T 0,24 % + OA 2 % + PG 5 % + Etanol 64 % + CB	8	1308 ± 627	6,54 ± 3,13	Valor P Form. 1/Form. 2 = 0,046
2	T 0,24 % + OA 2 % + EO 2 % + PG 5 % + Etanol 72 % + CB	8	2069 ± 772	10,54 ± 3,93	

* realizado sobre los datos del % de testosterona recuperado en la dermis a las 48 h

5 Estos resultados muestran que la adición de oleato de etilo induce un aumento significativo (de al menos 1,5 veces) en la retención dérmica ($p < 0,05$), incluso cuando se mide 2 días después de la aplicación y 1 día después del lavado de la piel.

b) Liberación en el reservorio entre las 24 h y 48 h:

Nº	Formulaciones	(n)	Cantidad de testosterona (ng) absorbida entre las 24 h y las 48 h	% de testosterona absorbida entre las 24 h y las 48 h	Test estadístico de Mann-Whitney*
1	T 0,24 % + OA 2 % + PG 5 % + Etanol 64 % + CB	8	916 ± 133	4,57 ± 0,67	Valor P Form. 1/Form. 2 = 0,001
2	T 0,24 % + OA 2 % + EO 2 % + PG 5 % + Etanol 72 % + CB	8	1582 ± 292	8,06 ± 1,49	

10 Los resultados también muestran un impacto significativo del oleato de etilo sobre la absorción por penetración 24 horas después del lavado de la piel.

15 Estos resultados muestran claramente que las composiciones y métodos de la invención proporcionan una liberación sostenida de agente activo testosterona desde la piel a lo largo de las 24 horas después del lavado de la piel.

Referencia

20 **Ejemplo 3: Absorción *in vitro* de testosterona en la dermis**

A. Productos químicos y formulaciones

25 Se utiliza testosterona [3H] tritiada en la preparación de las composiciones farmacéuticas como se indica a continuación.

Formulación	1	2
Testosterona (T) (g)	0,24	0,24
Ácido mirístico (MA) (g)	2	2
Miristato de isopropilo (IPM) (g)	-	2
Propilenglicol (PG) (g)	5	5
Isopropanol (g)	56	56
Tampón de carbonato (CB) 60 mM, pH 10,7 c.s.p. (g)	100	100

El contenido de alcohol se adapta para solubilizar los ingredientes lipófilos.

30 **B. Métodos y resultados**

Los procedimientos operativos descritos en el Ejemplo 1 se siguen con las dos formulaciones de testosterona descritas anteriormente.

Nº	Formulaciones	(n)	Cantidad de testosterona (ng) recuperada en la dermis a las 24 h	% de testosterona recuperada en la dermis a las 24 h	Test estadístico de Mann-Whitney*
1	T 0,24 % + MA 2 % + PG 5 % + Isopropanol 56 % + CB	9	334 ± 172	1,59 ± 0,82	Valor P Form. 1/Form. 2 = 0,001
2	T 0,24 % + MA 2 % + IPM 2 % + PG 5 % + Isopropanol 56 % + CB	8	885 ± 287	4,31 ± 1,40	

* realizado sobre los datos del % de testosterona recuperada en la dermis a las 24 h. Estos resultados muestran que a la concentración de testosterona ensayada, la adición de miristato de isopropilo induce un aumento significativo (de al menos 2,5 veces) en la retención dérmica después de 24 horas ($p < 0,01$).

Referencia

Ejemplo 4: Absorción *in vitro* de dihidrotestosterona en la dermis

5

A. Productos químicos y formulaciones

Se utiliza dihidrotestosterona [3H] tritiada en la preparación de las composiciones farmacéuticas como se indica a continuación.

10

Formulación	1	2
Dihidrotestosterona (DHT) (g)	0,7	0,7
Etolanol 95 % (g)	71	71
Miristato de isopropilo (IPM) (g)	0,5	1
Carbopol 980™ (g)	0,5	0,5
Trietanolamina (TEA) (g)	0,5	0,5
Agua c.s.p. (g)	100	100

B. Métodos y resultados

Los procedimientos operativos descritos en el Ejemplo 1 se siguen con las dos formulaciones de DHT descritas anteriormente.

15

Nº	Formulaciones	(n)	Cantidad de DHT recuperada en la dermis a las 24 h	% de DHT recuperada en la dermis a las 24 h	Test estadístico de Mann-Whitney*
1	DHT gel con 0,5 % de IPM	7	676 ± 186	2,50 ± 0,69	Valor P Form. 1/Form. 2 < 0,05
2	DHT gel con 1,0 % de IPM	6	1758 ± 509	6,67 ± 1,93	

* realizado sobre los datos del % de DHT recuperada en la dermis a las 24 h. Estos resultados muestran que un aumento del porcentaje de IPM en el gel induce una retención dérmica significativa ($p < 0,05$) de dihidrotestosterona (de al menos 2 veces) después de 24 horas.

Referencia

Ejemplo 5: Evaluación de la absorción percutánea de progesterona utilizando el modelo de dosis finita en piel humana de Franz

20

A. Introducción

25 El modelo de dosis finita en piel humana de Franz *in vitro* ha demostrado ser una herramienta valiosa para el estudio de la absorción percutánea y la determinación de la farmacocinética de los fármacos aplicados tópicamente. El modelo utiliza cadáver humano *ex vivo* o piel quirúrgica montada en cámaras de difusión especialmente diseñadas que permiten que la piel se mantenga a una temperatura y humedad que coinciden con las condiciones típicas *in vivo* (Franz, TJ, "Percutaneous absorption: on the relevance of *in vitro* data", J Invest

5 Derm 1975, 64:190-195). Se aplica una dosis finita (por ejemplo, 4-7 mg/cm²) de formulación a la superficie externa de la piel y se mide la absorción del fármaco controlando su velocidad de aparición en la solución del reservorio que baña la superficie interna de la piel. Los datos que definen la absorción total, la velocidad de absorción, así como el contenido de la piel se pueden determinar con precisión en este modelo. El método tiene un precedente histórico para predecir con exactitud la cinética de absorción percutánea *in vivo* (Franz TJ, "The finite dose technique as a valid *in vitro* model for the study of percutaneous absorption in man." En: Skin: Drug Application and Evaluation of Environmental Hazards, Current Problems in Dermatology, vol. 7, G. Simon, Z. Paster, M. Klingberg, M. Kaye (Eds), Basel, Switzerland, S. Karger, 1978, pp 58-68).

10 **C. Diseño del estudio**

15 La farmacocinética de absorción percutánea de la progesterona a partir de dos formulaciones de ensayo y una formulación de referencia se estudió utilizando el modelo de dosis finita *in vitro* sobre piel humana utilizando un estudio de centro único, abierto, en donantes, de tres (3) formulaciones de gel tópicos que contienen progesterona. Cada formulación se probó por triplicado en tres donantes diferentes de piel utilizando el modelo de piel de dosis finita de Franz *in vitro*.

D. Estudio de productos y dosificación

20 Producto de referencia: Progestogel comercial (gel hidroalcohólico de progesterona al 1 %) (Besins Healthcare).

Productos de ensayo:

Nueva formulación # 1:

Progesterona	1 %
Etol (USP 190 Proof)	72 %
Propilenglicol	5 %
Ácido oleico	2 %
Oleato de etilo	2 %
Pemulen TR-1	2 %
Tampón de carbonato (pH 10,8)	c.p.s. 100 %

Nueva formulación # 2:

Progesterona	3 %
Etol (USP 190 Proof)	72 %
Propilenglicol	5 %
Ácido oleico	2 %
Oleato de etilo	2 %
Pemulen TR-1	2 %
Tampón de carbonato (pH 10,8)	c.s.p. 100 %

25 (El tampón de carbonato se preparó a partir de 16,91 partes de agua, 0,070 partes de carbonato de sodio y 0,007 partes de bicarbonato de sodio).

30 5 µL de formulación/cm²/sección de piel (dosificado con una pipeta y frotado utilizando una varilla de vidrio). La varilla de vidrio se retiene para su análisis como parte de la contabilidad del balance de masa y para la corrección de la dosis aplicada.

E. Procedimientos de estudio

35 **1. Reactivos y fuente de estándares**

Todos los reactivos utilizados en este estudio son de grado analítico o mejor.

2. Medio del reservorio

40 Para la prueba de integridad de la piel, la base media consiste en solución salina tamponada con fosfato (pH 7,4 ± 0,1). Para toda la realización posterior del estudio, la base media consiste en 0,1 x PBS con 0,1 % de Volpo (un tensioactivo no iónico: Volpo (Oleth-20) es un tensioactivo no iónico que se sabe que aumenta la solubilidad acuosa de compuestos poco solubles en agua. Volpo en la solución del reservorio asegurará las condiciones *sink* de difusión durante la absorción percutánea, y es sabido que no afecta a las propiedades de barrera de la piel de ensayo).

3. Celda de difusión y preparación de la piel

En este estudio, se utiliza piel de tronco humano, *ex vivo*, sin signos obvios de enfermedad de la piel. Había sido dividida en dermatomas, criopreservada, sellada en una bolsa de plástico impermeable al agua, y conservada a -70 °C hasta el día del experimento. Antes de su uso, se descongela en agua a ~ 37 °C, después se enjuaga con agua del grifo para eliminar de la superficie la sangre o cualquier otro material adherido.

La piel de un único donante se corta en múltiples secciones más pequeñas lo suficientemente grandes como para encajar en las celdas de difusión de Franz de 1,0 cm² nominal. La cámara dérmica se llena por completo con una solución de reservorio de solución salina isotónica tamponada con fosfato (PBS), pH 7,4 ± 0,1, y la cámara epidérmica se deja abierta al entorno ambiental del laboratorio. Las celdas se colocan entonces en un aparato de difusión en el que la solución del reservorio dérmico se agita magnéticamente a ~ 600 rpm y se mantiene su temperatura para alcanzar una temperatura superficial de la piel de 32,0 ± 1,0 °C.

Para asegurar la integridad de cada sección de piel, se determina su permeabilidad al agua tritiada antes de la aplicación de los productos de ensayo (Franz TJ, Lehman PA: The use of water permeability as a means of validation for skin integrity in *in vitro* percutaneous absorption studies. *Abst. J Invest Dermatol* 1990, 94: 525). Después de un breve período de equilibrio (0,5-1 hora), se coloca ³H₂O (NEN, Boston, MA, sp. Act. ~ 0,5 µCi/mL) en capas sobre la parte superior de la piel mediante un gotero, de modo que se cubra toda la superficie expuesta (aproximadamente 200 - 500 µL). Después de 5 minutos, se separa la capa acuosa de ³H₂O. A los 30 minutos, se recoge la solución del reservorio y se analiza para determinar el contenido radiactivo mediante recuento por centelleo líquido. Se consideran aceptables las muestras de piel en las cuales la absorción de ³H₂O es menor que 1,56 µL-eq/cm².

4. Administración de dosis y recogida de muestras

Antes de la administración de las formulaciones de ensayo tópicas a las secciones de la piel, se recoge una muestra pre-dosis y la solución del reservorio se reemplaza con una solución nueva de 0,1x PBS con 0,1 % de Volpo.

Posteriormente, se aplica cada producto de ensayo a las secciones triplicadas de la piel del mismo donante. La dosificación se realiza utilizando un conjunto de pipetas de desplazamiento positivo para administrar 5 µL de formulación/cm² con la dosis aplicada frotada sobre la piel con una varilla de vidrio. La varilla de vidrio se retiene para su análisis como parte de la contabilidad del balance de masa.

A tiempos preseleccionados después de la dosificación (4, 8, 12, 24, 32 y 48 horas), se elimina la solución del reservorio por completo, se reemplaza con solución del reservorio nueva y se guarda una alícuota de volumen predeterminado para su análisis posterior.

Después de recoger la última muestra, se lava la superficie dos veces con metanol:agua 50:50 (un volumen de 0,5 mL cada vez) para recoger la formulación no absorbida de la superficie de la piel. Después del lavado, la piel intacta se retira de la cámara y se extrae con metanol:agua 50:50.

5. Laboratorio analítico

La cuantificación de progesterona se realiza mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Brevemente, la HPLC se realiza en un sistema de HPLC Hewlett-Packard serie 1100 con un detector UV de matriz de diodos y, si es necesario, una espectroscopía de masas (MS) utilizando el método actual del laboratorio. Las áreas de los picos se cuantifican como concentración utilizando una curva estándar externa preparada diariamente a partir del estándar puro. Las muestras no analizadas el día de la recogida se conservan a una temperatura igual o inferior a -20 °C.

F. Análisis e informes

1. Parámetros del estudio

Se calculan los siguientes parámetros:

- a) Absorción total (suma de todas las soluciones de reservorio muestreadas desde una cámara)
- b) Velocidad y extensión de la penetración a lo largo del período de estudio.
- c) Lavado de la superficie y contenido de piel.

2. Evaluación de datos

a) Si alguna muestra está por debajo de LLD (límite inferior de detección), entonces esa muestra puede ser tratada como un valor sin datos. A discreción del investigador, todos los valores <LLQ (límite inferior de cuantificación) se pueden declarar como valores cero o se puede medir el valor real con el fin de calcular los parámetros clave.

b) Se confirma un valor atípico (outlier) sospechoso utilizando la prueba de Dean y Dixon. A discreción del investigador, los valores declarados valores atípicos (outliers) se pueden eliminar de la suma general de los datos (pero se anotarán como tales en el texto o en las tablas de datos).

c) Dentro de una cámara, si un valor a un punto de tiempo dado ha sido declarado como un valor sin datos, o falta por otros motivos, el valor del punto de tiempo puede ser reemplazado con un valor interpolado para calcular los parámetros relevantes. El valor interpolado se calculará sobre una línea que conecta los valores adyacentes como sigue:

- Datos 3 puntos: (T1,A), (T2,B) y (T3,C) y falta el (B),
- Donde T = Tiempo y A-C = valores de datos medidos
- $B \text{ estimado} = A - \left[\frac{(A-C)}{|T1-T3|} \times (|T1-T2|) \right]$

3. Evaluación estadística

Los replicados dentro de los donantes se promedian y la desviación estándar se calcula para cada parámetro clave. Dentro de los donantes se comparan entonces los promedios y se calcula la media de la población de donantes con el error estándar. Las diferencias entre los artículos de ensayo se evalúan utilizando la prueba t de Student.

G. Resultados

Los resultados están en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

Fuente	Nueva Formulación # 1 Progesterona al 1 %	Nueva Formulación # 2 Progesterona al 3 %	Progesterol Lote # 427
Reservorio	11,00 ± 1,74	6,76 ± 0,68	2,67 ± 0,93
Piel	3,91 ± 1,06	31,76 ± 12,30	1,07 ± 0,23
Superficie	18,76 ± 0,86	80,01 ± 11,98	40,00 ± 1,32
Recuperación total (%)	93,97 ± 0,75	99,33 ± 0,77	101,40 ± 0,914

La formulación de progesterona al 1 % alcanza una administración de principio activo 4 veces mayor en el compartimento del reservorio que la formulación de Progesterol comercial con la misma concentración de principio activo (progesterona al 1 %).

La formulación de progesterona al 3 % administra menos principio activo al reservorio que la formulación al 1 % durante un período de 48 horas, pero carga una cantidad mucho mayor de fármaco en la piel (31,7 vs 3,9 μg), prediciendo de este modo una liberación de principio activo desde la piel al reservorio durante un período de tiempo más largo.

La figura 1 ilustra los perfiles de penetración para las tres formulaciones ensayadas.

Ejemplo 6: Evaluación de la absorción percutánea de estradiol utilizando el modelo de dosis finita en piel humana de Franz

Se sigue el mismo protocolo que el descrito en el Ejemplo 5, con las diferencias indicadas a continuación.

Se ensayaron cuatro formulaciones diferentes de gel que contenían 0,36 % de estradiol, cada una con 2 % de ácido oleico, 2 % de oleato de etilo y 5 % de propilenglicol. Las variables de formulación (p. ej., tampón y agente gelificante) se dan en la tabla 6-1. La penetración acumulativa del fármaco después de 48 horas varió de 1,03 a

1,77 µg, teniendo lugar la máxima administración entre las 8 y las 20 horas (véase la tabla 6-3). Los resultados se comparan en la tabla 6-3 que sigue con los resultados de dos lotes de estradiol gel al 0,06 % (un lote preparado para estos experimentos y una muestra del producto comercial; véase la tabla 6-2 para la composición de la formulación de estradiol gel al 0,06 %), donde la penetración acumulativa del fármaco después de 48 horas fue de aproximadamente 0,07 µg, con una administración máxima después de ocho horas. Por lo tanto, el aumento de seis veces en la concentración de estradiol (de 0,06 % a 0,36 %) dio como resultado un aumento entre 15 y 25 veces en la administración acumulativa del fármaco. De esto se puede sacar la conclusión de que la mayor penetración no se puede basar únicamente en un aumento de la concentración, sino que también debe haber sido influenciada por el diseño de la formulación.

Tabla 6-1. Formulaciones de estradiol al 0,36 %

Formulación	Composición
A	Estradiol gel al 0,36 % que contiene 2 % de ácido oleico, 2 % de oleato de etilo, 5 % de propilenglicol Tampón de carbonato – 1,7 % de Klucel HF (Lote nº 818-0909A01)
B	Estradiol gel al 0,36 % que contiene 2 % de ácido oleico, 2 % de oleato de etilo, 5 % de propilenglicol No contiene tampón – 3,0 % de Carbopol 981 (Lote nº 818-0924A02)
C	Estradiol gel al 0,36 % que contiene 2% de ácido oleico, 2 % de oleato de etilo, 5 % de propilenglicol Tampón de carbonato – 2,0 % de Pemulen TR-1 (Lote nº 818-911A06)
D	Estradiol gel al 0,36 % que contiene 2 % de ácido oleico, 2 % de oleato de etilo, 5 % de propilenglicol Tampón de carbonato – 3,0 % de Klucel HF (Lote nº 818-0911A02)

Tabla 6-2: Composición de referencia de Estrogel®

Formulación	Estrogel
Estradiol	0,06 %
Etanol	40 %
Carbopol 980™	1 %
Trietanolamina (TEA)	1 %
Agua c.s.p.	100 %

Tabla 6-3: Absorción total a través de donantes de piel

Absorción percutánea de estradiol a través de piel de cadáver humana intacta durante 48 horas a partir de una única aplicación. Media ± SE como porcentaje de la dosis aplicada y masa total (µg/cm ²).						
Parámetro	Formulación A	Formulación B	Formulación C	Formulación D	Estrogel® (lote # 769-0929A02)	Estrogel® (producto comercial)
Penetración acumulativa de 24 h (µg/cm ²)	0,835 ± 0,007	0,725 ± 0,404	0,993 ± 0,608	0,521 ± 0,181	0,031 ± 0,026	0,024 ± 0,021
Penetración acumulativa de 48 h (µg/cm ²)	1,556 ± 0,239	1,570 ± 0,674	1,765 ± 0,862	1,031 ± 0,421	0,071 ± 0,011	0,065 ± 0,008
Penetración acumulativa de 48 h (%)	8,643 ± 1,328	8,721 ± 3,746	9,805 ± 4,787	5,728 ± 2,340	2,358 ± 0,369	2,166 ± 0,255

Estos resultados muestran que la formulación C proporcionó la administración máxima, aproximadamente 25 veces mayor que la formulación de Estrogel®. La formulación C se estudió posteriormente a concentraciones más bajas de estradiol para determinar una dosis-respuesta. Los resultados (figura 2) muestran que la cantidad de fármaco administrada aumentó al aumentar la concentración de estradiol aplicada. Los resultados obtenidos a la concentración más alta (0,36 %) concuerdan con los datos obtenidos en este ejemplo (Tabla 6-3, Formulación

C). Además, los valores obtenidos para Estrogel® (estradiol al 0,06 %) están estrechamente de acuerdo entre los dos estudios, lo que respalda aún más su fiabilidad.

5 Los resultados representados en la figura 2 también muestran que incluso en concentraciones de estradiol más o
 10 menos equivalentes (0,07 % frente a 0,06 %), la nueva formulación (C) administró aproximadamente 10 veces
 más fármaco que la formulación de Estrogel®. Por lo tanto, las composiciones descritas en la presente memoria
 hacen posible administrar una dosis equivalente al producto de gel transdérmico comercial existente con un
 volumen aplicado 10 veces menor, tal como con la formulación C que contiene estradiol al 0,07 %. Esto
 15 representa una ventaja significativa, incluyendo ventajas de seguridad, ventajas regulatorias y ahorro de costos
 debido a la necesidad de mucho menos producto para proporcionar una dosis equivalente. Por ejemplo, las
 agencias reguladoras a menudo fomentan el desarrollo de productos que contienen una cantidad mínima de
 agente activo, requerida para la eficacia terapéutica.

15 **Ejemplo 7: Evaluación de las influencias de la formulación sobre la absorción percutánea de estradiol
 utilizando el modelo de dosis finita de piel humana de Franz.**

20 Con el fin de estudiar la influencia de los potenciadores de la penetración y del codisolvente sobre la absorción
 percutánea del principio activo en las nuevas formulaciones de gel de la invención, se realizó un experimento de
 2 fases, diseñado estadísticamente.

En la primera fase, se estudió la influencia de la variación de las concentraciones de ácido oleico y codisolvente
 (propilenglicol), junto con la concentración de estradiol, sobre la cantidad total de agente activo administrado.

25 En la segunda fase, se estudió la influencia de la variación de las concentraciones de oleato de etilo y de
 estradiol sobre la cantidad de principio activo administrado y sobre el perfil temporal de la administración.

El software estadístico "Design-Expert" (disponible de StatEase en www.statease.com) se utilizó para generar los
 puntos de datos experimentales utilizados en el estudio.

30 Se sigue el mismo protocolo que el descrito en el ejemplo 5, con las diferencias indicadas a continuación.

A. Primera fase del estudio

35 Para la primera fase, se utiliza un diseño D-óptimo combinado con ácido oleico y propilenglicol como
 componentes de la mezcla y con estradiol como factor numérico (proceso). Las concentraciones de ácido oleico
 y propilenglicol varían de tal manera que el total de sus dos concentraciones permanece constante e igual al 7 %,
 minimizando de este modo las posibles diferencias de solubilidad entre formulaciones.

40 La tabla que sigue resume las formulaciones que se preparan y ensayan por triplicado sobre muestras de dos
 donantes diferentes. Cada formulación contenía además: etanol al 72 %, oleato de etilo al 2 % y Pemulen TR-1
 al 2 %.

Las formulaciones 203, 206, 207, 213 y 220 son formulaciones de referencia.

Formulación #	Corrida	Estradiol %	Ácido oleico %	Propilenglicol %	Tampón de carbonato %
206	6	0,05	0,00	7,00	16,95
213	13		0,00	7,00	16,95
214	14		3,47	3,53	16,95
208	8		7,00	0,00	16,95
216	16		7,00	0,00	16,95
211	11	0,16	1,40	5,60	16,84
215	15		4,90	2,10	16,84
205	5	0,26	7,00	0,00	16,74
210	10		7,00	0,00	16,74
207	7	0,28	0,00	7,00	16,72
201	1		3,35	3,65	16,72
212	12		3,50	3,50	16,73
219	19	0,38	5,60	1,40	16,62
204	4	0,41	1,46	5,54	16,59

ES 2 945 590 T3

Formulación #	Corrida	Estradiol %	Ácido oleico %	Propilenglicol %	Tampón de carbonato %
218	18		3,50	3,50	16,59
203	3	0,50	0,00	7,00	16,50
220	20		0,00	7,00	16,50
217	17		3,21	3,79	16,50
202	2		7,00	0,00	16,50
209	9		7,00	0,00	16,50

Además, se realizan las siguientes etapas:

Evaluación de potencia

5

La potencia de Estradiol de las formulaciones finales se puede determinar por triplicado mediante HPLC/UV. La potencia se puede calcular como (p/v) para calcular la cantidad másica de estradiol en la dosis aplicada, de modo que se pueda calcular el porcentaje absorbido de la dosis aplicada. También se puede calcular la potencia, corrigiendo la densidad, como (p/p), para comparar con la potencia objetivo de las formulaciones preparadas indicadas en la tabla anterior. La potencia de estradiol debe estar dentro de $\pm 5,0\%$ para que sea aceptable para este estudio. En el análisis de los datos, se utilizan las concentraciones reales de estradiol de cada formulación.

10

Preparación de la formulación

15

1. Añadir etanol y propilenglicol y mezclar hasta que sea uniforme.

2. Añadir lentamente estradiol y mezclar hasta que esté completamente disuelto.

20

3. Añadir ácido oleico y mezclar hasta que sea uniforme.

4. Añadir oleato de etilo y mezclar hasta que sea uniforme.

5. Añadir lentamente Pemulen TR-1 y mezclar bien hasta que esté completamente hidratado.

25

6. Añadir lentamente la solución de tampón de carbonato a la matriz de gel anterior y mezclar hasta que sea uniforme.

B. Segunda fase del estudio

30 Para la segunda fase, se utiliza un diseño de superficie de respuesta con una estructura compuesta central.

Las formulaciones a estudiar se muestran en la siguiente tabla, con la adición de: etanol al 72 %, Pemulen TR-1 al 2 %, ácido oleico al 2 % y propilenglicol al 5 %.

35

Las formulaciones 301, 303, 304, 307-309 y 311 son formulaciones de referencia.

Formulación #	Corrida	A: Estradiol %	B: Oleato de etilo %	Tampón de carbonato %
305	5	0,05	1,00	17,95
311	11	0,12	0,29	18,59
302	2		1,71	17,18
303	3	0,28	0,00	18,73
304	4		1,00	17,73
307	7			17,73
308	8			17,73
310	10		2,00	16,73
301	1		0,43	0,29
306	6	1,71		16,86
309	9	0,50	1,00	17,50

El resto del procedimiento experimental es como el de la primera fase del estudio.

C. Resultados de la primera fase del estudio

5 Como se describe en la Sección A anterior bajo el párrafo "Evaluación de potencia", cada formulación se comprueba en cuanto a su concentración real de estradiol. Los valores medidos se muestran en la tabla que sigue, y se usan en el análisis de datos.

Formulación #	Concentración objetivo (%)	Concentración medida (%)
201	0,28	0,29
202	0,50	0,48
203	0,50	0,48
204	0,41	0,43
205	0,26	0,24
206	0,05	0,05
207	0,28	0,27
208	0,05	0,05
209	0,50	0,49
210	0,26	0,24
211	0,16	0,16
212	0,28	0,28
213	0,05	0,05
214	0,05	0,06
215	0,16	0,16
216	0,05	0,04
217	0,50	0,50
218	0,41	0,42
219	0,38	0,37
220	0,50	0,42

10 Los datos de penetración total (cantidad de principio activo que ha penetrado en el compartimento del reservorio después de 48 horas) fueron de suficiente calidad para permitir el análisis de manera estadísticamente significativa con modelos cuadráticos para la mezcla y las partes del proceso del diseño.

15 La figura 3 ilustra la superficie de respuesta obtenida. A medida que el propilenglicol (parte frontal del gráfico) es reemplazado gradualmente por ácido oleico (parte posterior del gráfico), la variación de la absorción como una función de la concentración de estradiol va desde una curva en forma de campana a una curva plana y constante.

20 Una curva en forma de campana es el resultado de una fuerte dependencia de la absorción de la concentración del agente terapéuticamente activo en la formulación, como es el caso, por ejemplo, para formulaciones que tienen altas concentraciones de propilenglicol y bajas concentraciones de ácido oleico.

25 Esta dependencia de la concentración del agente terapéuticamente activo no es deseable, ya que las composiciones capaces de conseguir una administración eficaz en intervalos mayores de concentraciones de agente activo son generalmente preferibles desde una perspectiva regulatoria y comercial.

30 En el otro extremo del eje de ácido oleico/propilenglicol, es decir, en la región de alto contenido de ácido oleico/bajo contenido de propilenglicol, la dependencia de la absorción de la concentración de estradiol no se observa, y la absorción total alcanza niveles absolutos más altos, muy probablemente debido a la eficacia del ácido graso como potenciador de la penetración. Sin embargo, la reproducibilidad de los puntos de datos experimentales no es buena, como se puede ver en la figura 3 para los replicados realizados a 0,26 y 0,5 % de estradiol. Esta falta de reproducibilidad se confirma al observar el gráfico del error estándar para el mismo conjunto de datos (no se muestra; el error aumenta al aumentar las concentraciones de ácido oleico) y también en los datos individuales para cada punto experimental, que consistió en 3 replicados en dos donantes diferentes. Tal dispersión en la absorción de una muestra de un donante a otra, e incluso entre replicados de la misma muestra de un donante indica inestabilidad en el sistema. De hecho, algunos experimentos administran grandes cantidades de principio activo, mientras que otros experimentos, a pesar de que todos los parámetros

experimentales se mantienen constantes, administran significativamente menos principio activo. Tal comportamiento no es deseable en una composición farmacéutica, porque cuando se traslada a la clínica, estas formulaciones podrían dar grandes variaciones de paciente a paciente o incluso variaciones dentro del paciente de aplicación a aplicación. Por estas razones, puede ser ventajoso seleccionar intervalos de concentraciones de ácidos grasos y codisolventes que no abarquen las concentraciones más altas y más bajas de propilenglicol/ácido oleico estudiadas aquí.

Ilustrando adicionalmente este punto, la figura 4 representa una vista de arriba abajo de los datos ilustrados tridimensionalmente en la figura 3. La región media, centrada alrededor de 2 % de ácido oleico y 5 % de propilenglicol, parece ser la más deseable para una composición que presenta absorción con dependencia mínima de la concentración de agente activo (el problema observado con mayores concentraciones de propilenglicol) mientras que logra una fuerte reproducibilidad entre los puntos de datos (a diferencia de los datos obtenidos con mayores concentraciones de ácido oleico), incluso aunque no proporciona la más alta administración de principio activo.

En realizaciones específicas, por lo tanto, el ácido graso potenciador de permeación está presente en una cantidad de 0,01 % a 5 %, incluyendo de 0,05 % a 3,5 %, tal como 1 % a 3 %, en peso basado en el peso total de la composición.

Adicionalmente, en realizaciones específicas, el codisolvente (tal como propilenglicol) está presente en una cantidad de 0,01 % a 7 %, incluyendo de 3 % a 7 %, tal como de 4 % a 6 %, en peso basado en el peso total de la composición.

D. Resultados de la segunda fase del estudio

Las figuras 5 y 6 ilustran la influencia de la concentración de oleato de etilo y de estradiol sobre la absorción total durante 48 horas. La variación de la concentración de estradiol afecta la absorción en forma de campana, como ya se ilustró en la primera fase del estudio con las correspondientes concentraciones de ácido oleico y propilenglicol. La adición de oleato de etilo tiene el efecto de aumentar la cantidad total de absorción y también de desplazar la concentración óptima de estradiol (es decir, la concentración de estradiol correspondiente a la absorción máxima) a valores más altos. Este fenómeno es más claramente visible en la figura 6.

El principal efecto del éster (oleato de etilo), sin embargo, como ya se ha descrito en los ejemplos 1 a 4, es modificar el perfil de administración a lo largo del tiempo, proporcionando un efecto de liberación sostenida. Para ilustrar este fenómeno, los gráficos que representan cursos de tiempo de los flujos de absorción para las 11 composiciones ensayadas se han agrupado en 3 categorías, ilustradas en las figuras 7 a 9.

La figura 7 muestra los perfiles de flujo para un primer grupo que desencadena después de aproximadamente 20 horas un aumento en el flujo, lo que conduce a un perfil en que la dosis aumenta con el tiempo. Esto no es deseable para un producto en el que se busca una administración fuerte a las pocas horas de la aplicación, seguido por una meseta de liberación constante del fármaco. Los tres puntos de datos ilustrados en la figura 7 pertenecen todos al ángulo "oleato de etilo bajo" - "estradiol alto" en el gráfico de la figura 6.

La figura 8 presenta los perfiles de flujo de un segundo grupo, donde el flujo disminuye rápidamente después de que aparece el pico a las 6 horas después de la administración. Este perfil es típico de una serie de composiciones de la técnica anterior, que logran una administración rápida y eficiente dentro de las primeras horas después de la administración, pero que carecen de una liberación constante a largo plazo, es decir, 24 o incluso 48 horas. Los tres puntos de datos ilustrados en la figura 8 están a lo largo de la línea $Y = X$ en el gráfico de la figura 6.

Finalmente, la figura 9 presenta perfiles de puntos de datos experimentales con un rápido aumento temprano en el flujo, seguido por un nivel de flujo constante durante 2 días, es decir, un efecto depósito de almacenamiento de liberación sostenida. Este tipo de flujo es deseable en muchas terapias, donde se desean tanto el alcance rápido de concentraciones sanguíneas terapéuticas como concentraciones sostenidas de fármaco en sangre. Las composiciones que consiguen este tipo de perfil son composiciones según la presente invención en la mitad del gráfico con "oleato de etilo alto" - "estradiol bajo" de la figura 6 (en otras palabras, por encima de la línea $Y = X$).

Este análisis cualitativo de los perfiles de flujo a lo largo del tiempo demuestra que se logra una liberación sostenida de agente activo de manera satisfactoria cuando el éster de ácido graso está presente en una cantidad mayor que el agente activo, tal como que el éster de ácido graso esté presente en una cantidad al menos cuatro veces mayor que la del agente activo, en base peso:peso.

En particular, parece que cuanto más éster está presente en la composición, mejor es el efecto depósito de almacenamiento. Este factor sugiere que se debe tratar de incluir tanto éster de ácido graso en la composición como sea posible. Sin embargo, se impone un límite superior por la solubilidad del éster de ácido graso en la composición. Como ejemplo, la figura 10 ilustra la cantidad de oleato de etilo que se puede disolver, a

temperatura ambiente, como una función de la concentración de etanol (96 % v/v) en una formulación elaborada con:

- 5 0,24 % de estradiol;
- 5 % de propilenglicol; y
- 2 % de ácido oleico
- 10 agua c.s.

De la figura 10 y la tabla que sigue, es evidente que en una formulación que comprende 72 % de etanol, se puede disolver un máximo de 2,2 % de oleato de etilo.

Concentración de EtOH (96% v/v) en la mezcla	Cantidad de oleato de etilo solubilizada en g/100 g
64 %	0,65 g/100 g
66 %	0,91 g/100 g
68 %	1,28 g/100 g
70 %	1,60 g/100 g
72 %	2,19 g/100 g
73 %	2,40 g/100 g

Ejemplo 8: Estudios de sensibilización de la piel

Estudios previos han informado de problemas de irritación de la piel con composiciones transdérmicas que comprenden altas cantidades de codisolventes, tales como propilenglicol, en las cantidades utilizadas en algunas realizaciones descritas en la presente memoria, tal como aproximadamente 5 % (p/p). Para determinar si las composiciones descritas en la presente memoria son irritantes, y por lo tanto posiblemente no adecuadas para un uso clínico generalizado, se llevan a cabo estudios de sensibilización de la piel en cobayas y conejos, utilizando las siguientes formulaciones:

K36 Activo:

Nombre químico	% p/p
Agua purificada USP	16,91
Alcohol USP 190 Proof	71,95
Propilenglicol USP/EP	5,00
Ácido oleico superrefinado NF	2,00
Oleato de etilo NF	2,00
Estradiol USP	0,36
Hidroxipropilcelulosa NF (Klucel HF)	1,70
Bicarbonato de Sodio USP	0,007
Carbonato de Sodio NF	0,07

P36 Activo:

Nombre químico	% p/p
Agua purificada USP	16,91
Alcohol USP 190 Proof	71,65
Propilenglicol USP/EP	5,00

Nombre químico	% p/p
Ácido oleico superrefinado NF	2,00
Oleato de etilo NF	2,00
Estradiol USP	0,36
Pemulen TR-1	2,00
Bicarbonato de Sodio USP	0,007
Carbonato de Sodio NF	0,07

K36 Placebo:

Nombre químico	% p/p
Agua purificada USP	16,91
Alcohol USP 190 Proof	72,30
Propilenglicol USP/EP	5,00
Ácido oleico superrefinado NF	2,00
Oleato de etilo NF	2,00
Hidroxipropilcelulosa NF (Klucel HF)	1,70
Bicarbonato de Sodio USP	0,007
Carbonato de Sodio NF	0,07

5 P36 Placebo:

Nombre químico	% p/p
Agua purificada USP	16,91
Alcohol USP 190 Proof	72,00
Propilenglicol USP/EP	5,00
Ácido oleico superrefinado NF	2,00
Oleato de etilo NF	2,00
Pemulen TR-1	2,00
Bicarbonato de Sodio USP	0,007
Carbonato de Sodio NF	0,07

Estos estudios se realizan para evaluar el potencial de las composiciones de ensayo, K36 Activo y P36 Activo, para causar o provocar reacciones de sensibilización de la piel (dermatitis de contacto alérgica) a través de aplicaciones de parches tópicos en modelos animales.

Cobayas: las composiciones se aplican por parche tópico cerrado y aplicación con Hilltop Chamber a cobayas Crl:HA (Albino Hartley). Durante la fase de inducción, se administraron a tres grupos de tratamiento de cinco animales/sexo/grupo K36 Placebo, P36 Placebo, o el control positivo, aldehído hexilcinámico (HCA al 100 %), mientras que a los dos grupos de tratamiento restantes de diez animales/sexo/grupo se les administraron las composiciones de ensayo, K36 Activo o P36 Activo. Durante la fase de desafío, a cada grupo placebo se le administra la composición de ensayo respectiva, y el control positivo recibe HCA al 50 % en aceite mineral (HCA 50 %). Durante ambas fases, a todos los grupos se les administran los placebos, el control positivo o las composiciones de ensayo por aplicación dérmica a 0,4 mL/dosis. Durante la fase de inducción, los placebos, el control positivo y las composiciones de ensayo se administran una vez a la semana durante 3 semanas los días 1, 8 y 15, seguido por un período de lavado de 2 semanas, mientras que durante la fase de desafío, los artículos de control positivo y de ensayo se administran una vez el día 29.

5 Durante todo el estudio, las observaciones de morbilidad, mortalidad, lesiones y la disponibilidad de alimentos y agua se llevan a cabo dos veces al día para todos los animales. Además, los pesos corporales para todos los animales se miden y registran antes de la aleatorización (día -7), antes de la administración de cada composición de ensayo (con excepción del día 15, los pesos corporales se registraron aproximadamente 6 horas después de la dosificación después del desembalaje), y el día antes de la terminación (día 31). Durante la fase de desafío solamente, la puntuación de irritación dérmica para la sensibilización de la piel se realiza aproximadamente 24 a 48 horas después de la separación del parche (post dosis). Al finalizar el estudio, los animales son sacrificados por inhalación de dióxido de carbono.

10 Las puntuaciones de irritación dérmica registradas a las 24 y 48 horas después de la dosis durante la fase de desafío indicaron que no se produjo sensibilización después de la administración de las dosis de inducción y del posterior período de lavado de dos semanas. Las puntuaciones de irritación en los grupos K36 Activo y P36 Activo fueron generalmente equivalentes o menores que las puntuaciones registradas para los grupos K36 Placebo y P36 Placebo. Además, se observó una reducción de la ganancia de peso corporal en los grupos K36
15 Activo y P36 Activo en comparación con los grupos de placebo respectivos. Estas menores ganancias de peso corporal se consideraron relacionadas con el artículo de ensayo pero no adversas.

20 Conejos: este estudio se lleva a cabo para evaluar los efectos dérmicos potenciales irritantes y/o corrosivos de las composiciones de ensayo. A un grupo de tratamiento de tres conejos albinos hembras New Zealand White Hra:(NZW)SPF se le administra formulaciones activas K36 y P36, y sus respectivos placebos, a uno de los cuatro sitios dorsales a un nivel de dosis de 0,5 mL/sitio. Los placebos y los artículos de ensayo se administran a los respectivos sitios de prueba en cada animal mediante aplicación dérmica, una vez al día, durante 3 días consecutivos.

25 Las observaciones de morbilidad, mortalidad, lesiones y la disponibilidad de alimentos y agua se realizan dos veces al día para todos los animales. Los pesos corporales se toman y se registran antes de la dosis. Las puntuaciones de irritación dérmica se realizan dentro de 30-60 minutos, y 4 y 24 horas después de la dosis en los días 1 y 2. El día 3, los sitios de prueba se puntúan en 30-60 minutos, y a las 4, 24, 48 y 72 horas después de la dosis. Se realizan puntuaciones adicionales de irritación los días 8 y 15 para evaluar completamente la
30 reversibilidad o irreversibilidad de los efectos observados. Al finalizar el estudio, todos los animales son sacrificados, y las carcasas se descartan sin más evaluación.

35 Se observó eritema y edema de mínimos a leves para ambas formulaciones de Placebo y Activo K36 y P36. Las P36 Placebo y P36 Activo parecieron causar un poco más de irritación que las K36 Placebo y K36 Activo, aunque estas diferencias fueron mínimas. Se observó una ligera disminución en el peso corporal para los tres animales y se consideró relacionada con el artículo de ensayo, pero no adversa.

40 Estos estudios demuestran que las composiciones descritas en la presente memoria, que comprenden aproximadamente 5 % de propilenglicol, no son irritantes y no dan lugar a efectos significativos de sensibilización de la piel. Por lo tanto, estos factores no limitarían su uso clínico.

Ejemplo 9: Estudio de toxicidad dérmica de 21 días en conejos

45 Este estudio se realiza para evaluar la posible toxicidad de las dos formulaciones de las composiciones de ensayo descritas anteriormente, K36 Activo y P36 Activo, y sus respectivos placebos cuando se administran una vez al día mediante aplicación dérmica durante 21 días consecutivos a dos grupos de tratamiento de diez conejos albinos machos y diez conejos albinos hembras New Zealand White Hra:(NZW)SPF.

50 Tanto K36 Activo como P36 Activo están formulados a una concentración de activo de 0,36 % de estradiol. Los artículos de ensayo se administran a un volumen de dosis de aproximadamente 0,85 a 1,11 mL. Dos grupos adicionales de diez animales/sexo servirán como control y recibirán los placebos, K36 Placebo y P36 Placebo.

55 Las observaciones de morbilidad, mortalidad, lesiones y la disponibilidad de alimentos y agua se realizan dos veces al día para todos los animales. Las observaciones clínicas se realizan semanalmente. Los sitios de prueba se evalúan para eritema y edema diariamente durante la primera semana de dosificación, y semanalmente a partir de entonces. Los pesos corporales se miden y se registran semanalmente.

60 El consumo de alimentos se mide y se registra diariamente. Se recogen muestras de sangre y de orina para evaluaciones de patología clínica de todos los animales antes de la prueba y antes de la necropsia terminal. Al finalizar el estudio, se realizan exámenes de necropsia y se registran los pesos de los órganos. Los tejidos seleccionados se examinan microscópicamente para los animales que recibieron P36 Activo y Placebo. Los tejidos de los otros dos grupos en estudio se guardan para posible referencia futura.

65 No hubo cambios relacionados con la composición de ensayo en el peso corporal y no hubo hallazgos clínicos claros relacionados con la composición de ensayo. Los posibles hallazgos clínicos relacionados con la composición de ensayo incluyeron inapetencia, comportamiento agresivo y vocalización. Estos hallazgos se

limitaron a un animal por sexo por grupo tratado con K36 Activo o P36 Activo, y no se observaron en ninguno de los grupos de placebo.

5 Se observó eritema muy leve (apenas perceptible) esporádicamente a lo largo del estudio con una frecuencia similar o menor en el K36 Activo y P36 Activo que en los respectivos grupos placebo. Se consideró que estos hallazgos estaban relacionados principalmente con el vehículo y no con la composición de ensayo.

10 Se observaron disminuciones en el consumo de alimentos relacionadas con la composición de ensayo, pero no adversas, en ambos grupos K36 Activo y P36 Activo cuando se compararon con los respectivos grupos placebo. El consumo de alimento de los machos se vio más severamente afectado (18,4 % - 19,2 %) y con frecuencia estadísticamente significativo, mientras que el consumo de alimento de las hembras fue moderadamente afectado (6,5 % - 11,1 %) y solo ocasionalmente estadísticamente significativo.

15 Los cambios relacionados con la composición de ensayo en los parámetros hematológicos incluyeron disminuciones moderadas en los eritrocitos, la hemoglobina, el hematocrito, los reticulocitos y las plaquetas en ambos grupos de dosis K36 Activo y P36 Activo. Los leucocitos y los linfocitos totales también disminuyeron en estos grupos.

20 Los cambios relacionados con la composición de ensayo en los parámetros de la química clínica incluyeron aumento de aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT), γ -glutamilttransferasa (GGT), sorbitol deshidrogenasa (SDH), nitrógeno ureico y creatinina, y disminución de triglicéridos en ambos grupos K36 Activo y P36 Activo. Los aumentos en las enzimas hepáticas tendieron a ser ligeramente mayores en los machos que recibieron P36 que en los que recibieron K36. Los aumentos en nitrógeno ureico y creatinina fueron mínimos y pueden haber sido secundarios.

25 No hubo cambios relacionados con la composición de ensayo en los parámetros de coagulación o en el análisis de orina.

30 No hubo hallazgos macroscópicos relacionados con la composición de ensayo en los machos en este estudio. Las observaciones macroscópicas relacionadas con la composición de ensayo en las hembras del grupo P36 Activo incluyeron quistes de oviducto en tres animales y una adhesión de la cavidad abdominal en la que el útero y el cuello uterino se adherían a la pared abdominal en un animal. Una posible observación macroscópica relacionada con la composición de ensayo de coloración roja del cuerno y el cuerpo uterino se hizo en un conejo hembra en el grupo K36 Activo. Aunque no se realizó análisis microscópico, es probable que esta observación se correlacionara con lesiones similares a las observadas en los conejos hembras en el grupo de P36 Activo.

35 Las alteraciones estadísticamente significativas relacionadas con la composición de ensayo de los pesos de los órganos se produjeron en los pesos del hígado, el bazo y el timo tanto en machos como en hembras en ambos grupos P36 Activo y K36 Activo, y en el útero con los pesos del cuello uterino de las hembras de ambos grupos P36 Activo y K36 Activo.

40 Las alteraciones microscópicas relacionadas con la composición de ensayo ocurrieron dentro del hígado, el bazo y el timo de machos y hembras, la próstata y las vesículas seminales en los machos, y los oviductos, el útero con el cuello uterino y la vagina de las hembras.

45 Dentro del hígado, hubo una depleción difusa de las reservas de glucógeno intrahepatocelular. Además, hubo una hiperplasia de mínima a leve del conducto biliar. La hiperplasia biliar fue posiblemente un efecto directo del artículo de ensayo, ya que se ha demostrado que los estrógenos estimulan la proliferación de colangiocitos (LeSage, G., S. Glaser and G. Alpini. "Regulation of Cholangiocyte Proliferation". Liver 21 (2001): 73-80).

50 Dentro del bazo, había una hiperplasia de mínima a moderada de los macrófagos reticuloendoteliales que fue ocasionalmente acompañada por aumento de la eritrofagocitosis, un aumento de los macrófagos pigmentados (con carga de hemosiderina) y raramente por dilatación de los sinusoides esplénicos de la pulpa roja. Además, hubo una depleción de mínima a moderada de la población esplénica linfoide en los animales tratados. Estas alteraciones pueden ser ambos efectos directos de la composición de ensayo, ya que se han demostrado que los estrógenos en las ratas estimulan las células reticuloendoteliales del bazo, dando como resultado un aumento de la fagocitosis (Steven, W. M. and T. Snook. "The Stimulatory Effects of Diethylstilbesterol and Diethylstilbesterol Diphosphate on the Reticuloendothelial Cells of the Rat Spleen." American Journal of Anatomy 144.3 (1975): 339-359), y también, se ha demostrado que altos niveles de estrógenos causan disminuciones en ambas poblaciones de células, T y B, dentro del bazo de las ratas (Burns-Naas, L.A., B.J. Meade and A.E. Munson. "Toxic Response of the Immune System." Cassarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons. Ed. Curtis D. Klaassen. New York: McGraw-Hill, 2001. 419-470.).

65 Los cambios tímicos consistieron en una depleción linfoide generalizada de leve a grave. Se ha demostrado que los estrógenos causan la depleción tímica (Burns-Naas, *supra*).

Las alteraciones microscópicas dentro de la glándula prostática y las vesículas seminales de los animales tratados incluyeron hipertrofia del músculo liso asociado con ambas de estas glándulas, y ocasionalmente los animales tuvieron aumento de la fibroplasia con el estroma subepitelial que resultaba en un engrosamiento de los tabiques intraglandulares en la glándula prostática. Además de estos cambios estromales, hubo una dismadurez o regresión del epitelio glandular, lo que significa que el epitelio tenía disminución de la madurez (aumento de la inmadurez) en comparación con otras características de la glándula como el aumento del diámetro luminal.

Dentro de las hembras tratadas, hubo una mucificación de leve a grave del epitelio vaginal y una hipertrofia de leve a moderada del músculo liso vaginal. Un hallazgo similar estuvo presente en el epitelio de la región cervical del útero. Una reacción decidual (Zook, B.C., O.A. Janne, A.A. Abraham, and H.A. Nash. "The Development and Regression of Deciduomas and Other Lesions Caused by Estrogens and Progestins in Rabbits." *Toxicologic Pathology* 29,4 (2001): 411-416; Jaane, O.A., B.C. Zook, A.K. Didolkar, K. Sundaram, and H.A. Nash. "The Roles of Estrogen and Progestin in Producing Deciduoma and Other Lesions in the Rabbit." *Toxicologic Pathology* 29,4 (2001): 417-421), una respuesta común a los compuestos estrogénicos se observó al menos en un grado mínimo en todas las muestras de útero y en dos bazos de las hembras del grupo P36 Activo. La reacción decidual ocurre tanto dentro del estroma subendometrial como en los vasos sanguíneos dentro del útero. En los conejos con vasos afectados gravemente, se produjo una necrosis isquémica asociada del tejido uterino adyacente debido a la interrupción del suministro de sangre. Esta necrosis fue ocasionalmente transmural, y en un conejo, produjo fibrosis en la superficie abdominal del útero y adhesión a la superficie parietal de la cavidad abdominal.

También en las hembras, tres de los animales del grupo P36 Activo tenían quistes en los oviductos. Los quistes no son infrecuentes en diferentes órganos reproductivos de las hembras, por lo que es posible que estos quistes puedan representar anomalías del desarrollo; sin embargo, la presencia de estos quistes en tres hembras del grupo P36 Activo y no en los animales control sugiere que esta alteración puede estar relacionada con la administración del artículo de ensayo.

No hubo diferencias significativas entre los grupos de tratamiento K36 Activo y P36 Activo.

En general, estos hallazgos se asocian comúnmente con la administración de la composición de ensayo que contiene estrógenos, y por lo tanto no socavan la utilidad clínica potencial de las formulaciones específicas descritas en la presente memoria.

Ejemplo 10: Estudio de escalada de dosis en 12 sujetos humanos varones sanos

Se diseñó un estudio de escalada de dosis de dosis múltiples, abierto, en el que se programó que 12 sujetos varones sanos recibieran 1 de 2 tratamientos una vez al día durante 3 días con un período de lavado de 11 días entre dosis.

El objetivo de este estudio de fase 1 fue evaluar el perfil de seguridad y farmacocinética (PK) de la administración de dosis múltiples de 0,25 g y 1,00 g de un gel transdérmico de estradiol al 0,07 % en voluntarios varones sanos. El gel transdérmico utilizado tenía la siguiente formulación:

0,07 %	Estradiol
2,0 %	Oleato de etilo
2,0 %	Ácido oleico
5,0 %	Propilenglicol
16,91 %	Agua purificada
71,94 %	Etanol
2,0 %	Pemulen TR-1 carbómero
0,07 %	Carbonato de sodio anhidro
0,007 %	Bicarbonato de sodio anhidro

Doce (12) sujetos sanos se inscribieron y participaron en dos períodos de tratamiento abierto. Los sujetos que completaron con éxito el proceso de selección ingresaron en el centro de investigación el día 1, aproximadamente de 1 a 2 horas antes de la primera extracción de sangre de cada período de tratamiento. Para el período de tratamiento A, se administraron 0,25 g del gel al 0,07 % una vez al día durante tres días. Durante el período de tratamiento B, se administró 1,0 g del gel al 0,07 % una vez al día durante tres días. Los días de dosificación fueron separados por un período de lavado de al menos 11 días.

Diagnóstico y principales criterios de inclusión: voluntarios sanos varones adultos, de 18 a 45 años, con índice de masa corporal (BMI) entre 18 y 30 kg/m², inclusive, y peso mínimo de 50 kg (110 libras).

Resultados:

5

Tabla 1 de sinopsis: Parámetros de estradiol

Dosis	0,25 g				1,00 g			
	N	Media	SD	CV%	n	Media	SD	CV%
Tmax0-24 (h)	12	12,83	10,14	79,04	11	6,91	5,97	86,33
Tmax24-48 (h)	12	32,67	9,59	29,34	11	28,18	2,89	10,24
Tmax48-72 (h)	12	51,17	3,64	7,11	11	54,91	6,16	11,21
Tmax0-120 (h)	12	33,58	18,68	55,63	11	29,82	20,66	69,28
Tmax-total (h)	12	54,83	56,78	103,56	11	29,82	20,66	69,28
Cmax0-24 (pg/mL)	12	26,4	7,35	27,83	11	56,5	20,8	36,74
Cmax24-48 (pg/mL)	12	29,7	11,3	38,04	11	52,1	27,3	52,43
Cmax48-72 (pg/mL)	12	28,5	15,1	52,95	11	49,2	22,5	45,73
Cmax0-120 (pg/mL)	12	33,1	16,5	50,02	11	64,6	27,1	42,04
Cmax-total (pg/mL)	12	33,1	16,5	49,85	11	64,6	27,1	42,04
AUC0-24 (h*pg/mL)	12	476,7	115,2	24,16	11	752,2	238,9	31,76
AUC24-48 (h*pg/mL)	12	502,7	135,9	27,04	11	661,0	249,0	37,67
AUC48-72 (h*pg/mL)	12	476,8	156,8	32,88	11	658,1	252,5	38,36
AUC0-120 (h*pg/mL)	12	2333	642,1	27,52	11	2933	889,1	30,31
AUC0-t (h*pg/mL)	12	3778	1260	33,35	11	4436	1204	27,14
T-último (h)	12	200,27	37,50	18,73	11	216,00	0,00	0,00
C-última (pg/mL)	12	17,3	3,87	22,37	11	17,2	5,09	29,53

Conclusión:

10

Las concentraciones medias de la línea base de estradiol variaron de 14,3 pg/mL a 21,7 pg/mL. Después de la administración de 0,25 g de gel, las concentraciones de estradiol aumentaron ligeramente por encima del valor de la línea base (concentración plasmática media más alta = 25,6 pg/mL). Después de la administración de 1,00 g de gel, las concentraciones de estradiol aumentaron aproximadamente de 2 a 3 veces (concentración plasmática media más alta = 54,3 pg/mL). En general, las concentraciones de estradiol volvieron a los niveles de la línea base en aproximadamente 12 horas después de la dosis para los 0,25 g de gel; para el 1,00 g de gel, las concentraciones de estradiol volvieron a los niveles de la línea base en aproximadamente 96 horas.

15

En general, el Tmax de estradiol después de 1,00 g fue más corto que el de después de 0,25 g. Se observó el Tmax de estradiol entre aproximadamente 3 h (0,25 g, tercer intervalo de dosificación) y 13 h (0,25 g, primer intervalo de dosificación) después de la administración del gel.

20

Dentro de cada grupo de dosis, las estimaciones medias de AUC para cada intervalo de dosificación de 24 h (AUC0-24) fueron comparables, lo que indica que no hubo ninguna acumulación significativa de estradiol. Hubo un aumento menos que proporcional en la exposición al estradiol con un aumento en la dosis de gel.

25

El aumento en el pico y en la exposición general sistémica al estradiol después de un aumento de 4,00 veces en la dosis de gel fue de 1,95 veces en base a Cmax0-120 y 1,26 veces en base a AUC0-120.

30

Las proporciones (0,25 g: 1,00 g) (intervalos de confianza del 90 %) para estradiol Cmax0-120 y AUC0-120 fueron 47,89 % (40,17 %, 57,10 %) y 80,01 % (70,45 %, 90,88 %), respectivamente.

Ejemplo11: Estudio de escalada de dosis en 12 sujetos humanos varones sanos

El objetivo principal de este estudio de fase 1 fue comparar los perfiles farmacocinéticos (PK) de dos formulaciones diferentes de gel de estradiol transdérmico en voluntarios varones sanos. El objetivo secundario de este estudio fue evaluar la incidencia y la gravedad de los sucesos adversos.

5 Este fue un estudio de dos tratamientos de dosis múltiples, abierto, que se realizó en dos partes para evaluar la farmacocinética del estradiol después de la administración transdérmica de dos formulaciones diferentes a voluntarios varones sanos.

10 12 sujetos varones adultos sanos participaron en 2 períodos de tratamiento aleatorizados. Durante cada período de tratamiento, se administraron 1,25 g de EstroGel® al 0,06 % (gel de estradiol) o 1,0 g de un gel de estradiol al 0,07 % (no es gel según la invención, formulación en la tabla que sigue) una vez al día en la parte superior del brazo del sujeto durante cinco días. Los sujetos fueron aleatorizados para recibir el Código de tratamiento A o B durante el primer período de tratamiento y el código de tratamiento opuesto durante el segundo período de tratamiento. Los períodos de tratamiento 1 y 2 se separaron por un período de lavado de 3 días.

15 Los sujetos permanecieron confinados en el centro de investigación para extracción de sangre durante al menos 24 horas después de la última aplicación del gel de estudio en cada período de tratamiento, y regresaron al centro de investigación para extracciones de sangre y otros procedimientos de estudio los días 7 y 8.

0,07 %	Estradiol
0,3 %	Oleato de etilo
0,3 %	Ácido oleico
0,75 %	Propilenglicol
16,91 %	Agua purificada
79,59 %	Etanol
2,0 %	Pemulen TR-1 carbómero
0,07 %	Carbonato de sodio anhidro
0,007 %	Bicarbonato de sodio anhidro

20 **Código de tratamiento A: Intervención de tratamiento**
 Fármaco: EstroGel® (0,06 %)
 25 Dosis = 1,25 g x 0,6 mg/g = 0,75 mg de estradiol
 Tópico, una vez al día durante cinco días
 30 24 horas entre aplicaciones de dosis
 Sitio de aplicación: parte superior del brazo
 Nivel plasmático objetivo: aproximadamente 80 pg/mL

35 **Código de tratamiento B: Intervención de tratamiento**
 Fármaco: estradiol al 0,07 % gel de ensayo
 40 Dosis = 1,0 g x 0,7 mg/g = 0,7 mg de estradiol
 Tópico, una vez al día durante cinco días
 45 24 horas entre aplicaciones de dosis
 Sitio de aplicación: parte superior del brazo
 Nivel plasmático objetivo: aproximadamente 80 pg/mL

50 Durante cada período de tratamiento, se tomaron muestras de sangre para la medida de estradiol antes de cada dosis y después de cada dosis en tiempos seleccionados hasta 72 horas después de la dosis. Se obtuvieron hasta 102 muestras de sangre (~510 mL de sangre entera) de cada sujeto para las evaluaciones farmacocinéticas, excluyendo el cribado y las evaluaciones de seguridad posteriores al tratamiento. Durante los períodos 1 y 2, se recogieron todas las muestras de sangre del brazo contralateral al que se administra el gel de

estudio, para evitar la contaminación de la muestra.

Antes de la progresión al siguiente período de tratamiento, los datos de seguridad (sucesos adversos, pruebas de laboratorio clínico) serán revisados antes de que comience la dosificación.

5 Para todos los períodos de tratamiento, se requirió que los sujetos se ducharan/bañaran aproximadamente 1 hora antes de cada aplicación del gel de estudio. Los privilegios de ducha/baño se suspendieron hasta 1 hora antes de la siguiente aplicación del gel de estudio. Cada dosis se aplicó tópicamente al sitio de aplicación designado. Después de la dosificación, no se permitieron alimentos hasta dos horas después de la dosis. El agua se prohibió durante una hora después de la dosis y luego se dejó *ad libitum* durante el resto del período de confinamiento. A los sujetos se les sirvieron comidas aproximadamente al mismo tiempo en relación con la dosis para cada período de tratamiento; las mismas opciones de menú estuvieron disponibles durante todos los períodos de tratamiento. Los privilegios de baño/lavabo se suspendieron durante una hora después de la dosificación.

15 **Resultados:**

En la siguiente tabla se proporciona un resumen de los parámetros farmacocinéticos para el estradiol después de la aplicación tópica del gel de prueba a 0,7 mg QD x 5 días y EstroGel 0,75 mg QD x 5 días a voluntarios varones sanos.

	Gel de ensayo	EstroGel
Estradiol*	(0,7 mg QD 5 días)	(0,75 mg QD 5 días)
Cmax (pg/mL)†	65,0 ± 19,4 (10)	55,6 ± 18,2 (10)
Tmax (h) †	74,0 (10)	85,5 (10)
	[8,0 - 98,0]	[2,0 - 112]
AUC (O-t) (hxpg/mL)‡	4,131 ± 1,194 (10)	4,043 ± 654 (10)
* Media aritmética ± desviación estándar (N) excepto en Tmax para el que se registra la mediana (N) [intervalo].		
†Cmax y Tmax absolutos en todas las dosis.		
‡AUC desde la primera hasta la última dosis.		

25 Tanto el ejemplo 10 como el 11, en donde los geles descritos en la presente memoria se ensayaron en ensayos clínicos en humanos, demostraron que las formulaciones son seguras y eficaces para administrar el fármaco de interés sistemáticamente a los pacientes.

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica de liberación sostenida para administración tópica a una superficie de la piel que comprende:
- un agente farmacéuticamente activo que comprende uno o más esteroides;
 - 0,01 % a 5 % en peso con respecto al peso total de la composición farmacéutica de un éster de ácido graso;
 - agua;
 - un monoalcohol C2-C6
 - un ácido graso; y
 - 0,05 % a 5 % en peso de un agente gelificante;
- en donde la relación peso:peso del éster de ácido graso en la composición frente al agente activo total en dicha composición es al menos 4:1 de éster de ácido graso:agente activo, preferiblemente varía de 4:1 a 20:1.
2. La composición de la reivindicación 1, que comprende además un codisolvente, preferiblemente propilenglicol.
3. La composición según la reivindicación 1 o 2, en donde el codisolvente está presente en una cantidad que varía de 0,01 % a 7 % en peso con respecto al peso total de la composición farmacéutica, preferiblemente de 3 % a 7 % en peso.
4. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el éster de ácido graso se selecciona del grupo que consiste en oleato de etilo, oleato de isopropilo, miristato de isopropilo, isoestearato de isopropilo, palmitato de isopropilo, octanoato de etilo, dodecanoato de etilo, linoleato de etilo, palmitoleato de etilo, isoestearato de etilo y linolenato de etilo.
5. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el éster de ácido graso es miristato de isopropilo.
6. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el éster de ácido graso es oleato de etilo.
7. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el éster de ácido graso es el éster que resultaría de la reacción del ácido graso formulado en la composición con un alcohol.
8. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el éster de ácido graso no es el éster que resultaría de la reacción del ácido graso formulado en la composición con el alcohol formulado en la composición.
9. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde el éster de ácido graso está presente en una cantidad que varía de 0,01 % a 5 % en peso con respecto al peso total de la composición farmacéutica, preferiblemente de 0,05 % a 2,4 % en peso y más preferiblemente de 0,1 % a 2,2 % en peso.
10. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde el ácido graso es un ácido graso C8-C22, seleccionado preferiblemente del grupo que consiste en ácido cáprico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido isoesteárico, ácido palmitoleico, ácido linoleico y ácido linolénico, y más preferiblemente el ácido graso es ácido oleico.
11. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde el ácido graso está presente en una cantidad que varías de 0,01 % a 5 % en peso con respecto al peso total de la composición farmacéutica, preferiblemente de 0,05 % a 3,5 % en peso, y más preferiblemente de 1,0 % a 3,0 % en peso.
12. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y 6 a 11, que comprende 0,3 % de oleato de etilo como éster de ácido graso, 0,3 % de ácido oleico como ácido graso y 0,75 % de propilenglicol como codisolvente, todo en peso con respecto al peso total de la composición farmacéutica.

13. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde el agente farmacéuticamente activo se selecciona de uno o más de estradiol y progesterona, y el éster de ácido graso es oleato de etilo.
- 5 14. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde el agente farmacéuticamente activo se selecciona de uno o más de testosterona y dihidrotestosterona (DHT), y el éster de ácido graso se selecciona de oleato de etilo y miristato de isopropilo.
- 10 15. La composición según la reivindicación 14, en donde el agente farmacéuticamente activo es dihidrotestosterona (DHT).
16. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en donde el agente activo está presente en una cantidad de al menos 0,01% en peso con respecto al peso total de la composición farmacéutica.
- 15 17. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, en donde el monoalcohol C2-C6 se selecciona del grupo que consiste en etanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol, isobutanol, terc-butanol, y mezclas de los mismos, preferiblemente el monoalcohol C2-C6 es etanol.
- 20 18. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, en donde el monoalcohol C2-C6 está presente en una cantidad que varía de 10 % a 90 % en peso con respecto al peso total de la composición farmacéutica, preferiblemente de 20 % a 80 % en peso, y más preferiblemente de 45 % a 75 % en peso.
- 25 19. Una composición según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, para uso en un método terapéutico de tratamiento de un sujeto, comprendiendo dicho método proporcionar la liberación sostenida de un agente farmacéuticamente activo a través de la piel de un sujeto administrando tópicamente la composición a la piel del sujeto.

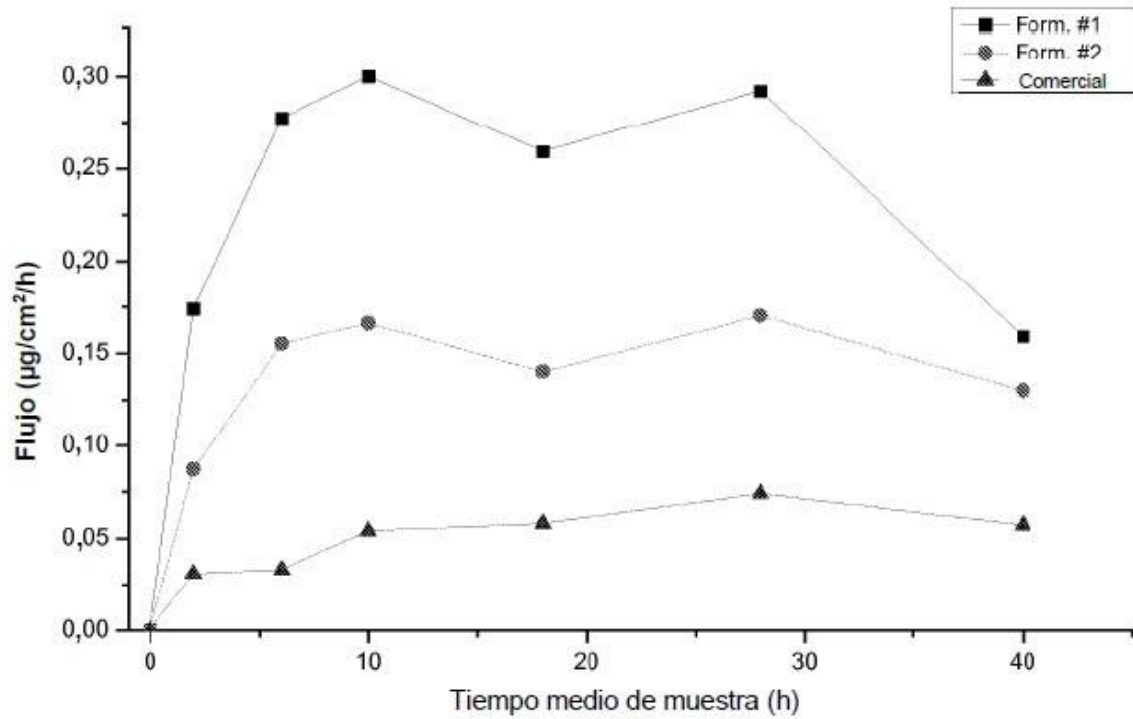


Figura 1. La cantidad de progesterona administrada a través de la piel en 48 horas para las diferentes formulaciones ensayadas en el Ejemplo 5.

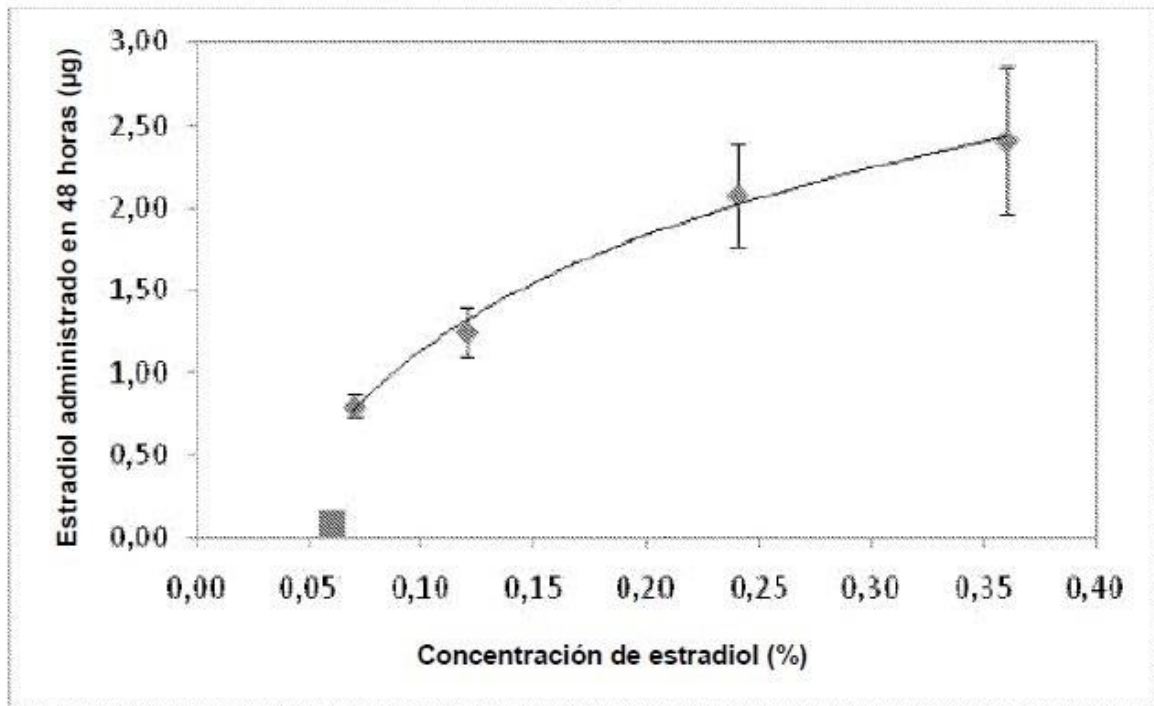


Figura 2. La cantidad de estradiol administrada a través de la piel en 48 h con respecto a la carga de fármaco en la formulación de la invención (diamantes) en comparación con Estrogel® (0,06 %) presentado como un cuadrado.

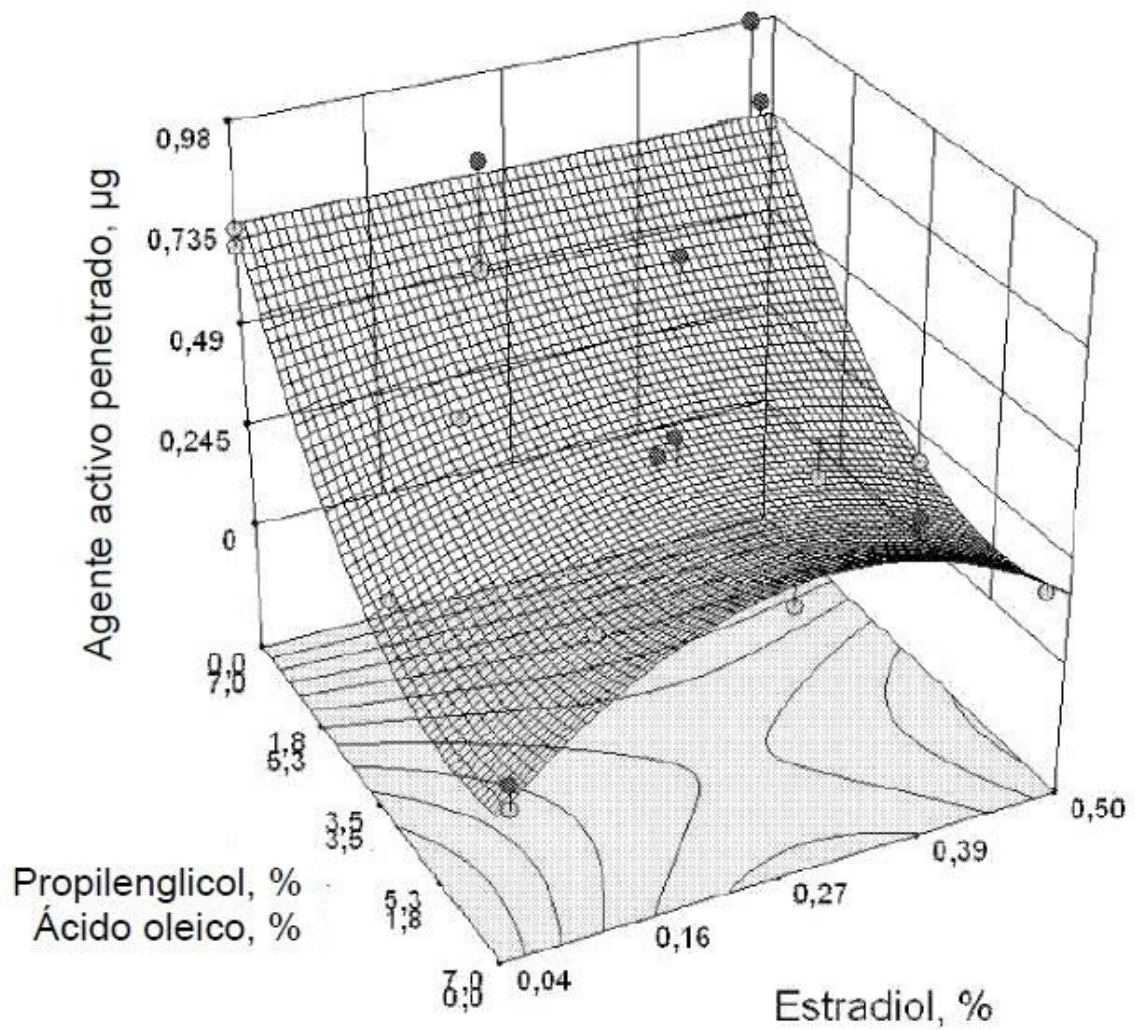


Figura 3. Efecto de la concentración de ácido oleico, propilenglicol y estradiol sobre la penetración total de estradiol durante 48 horas.

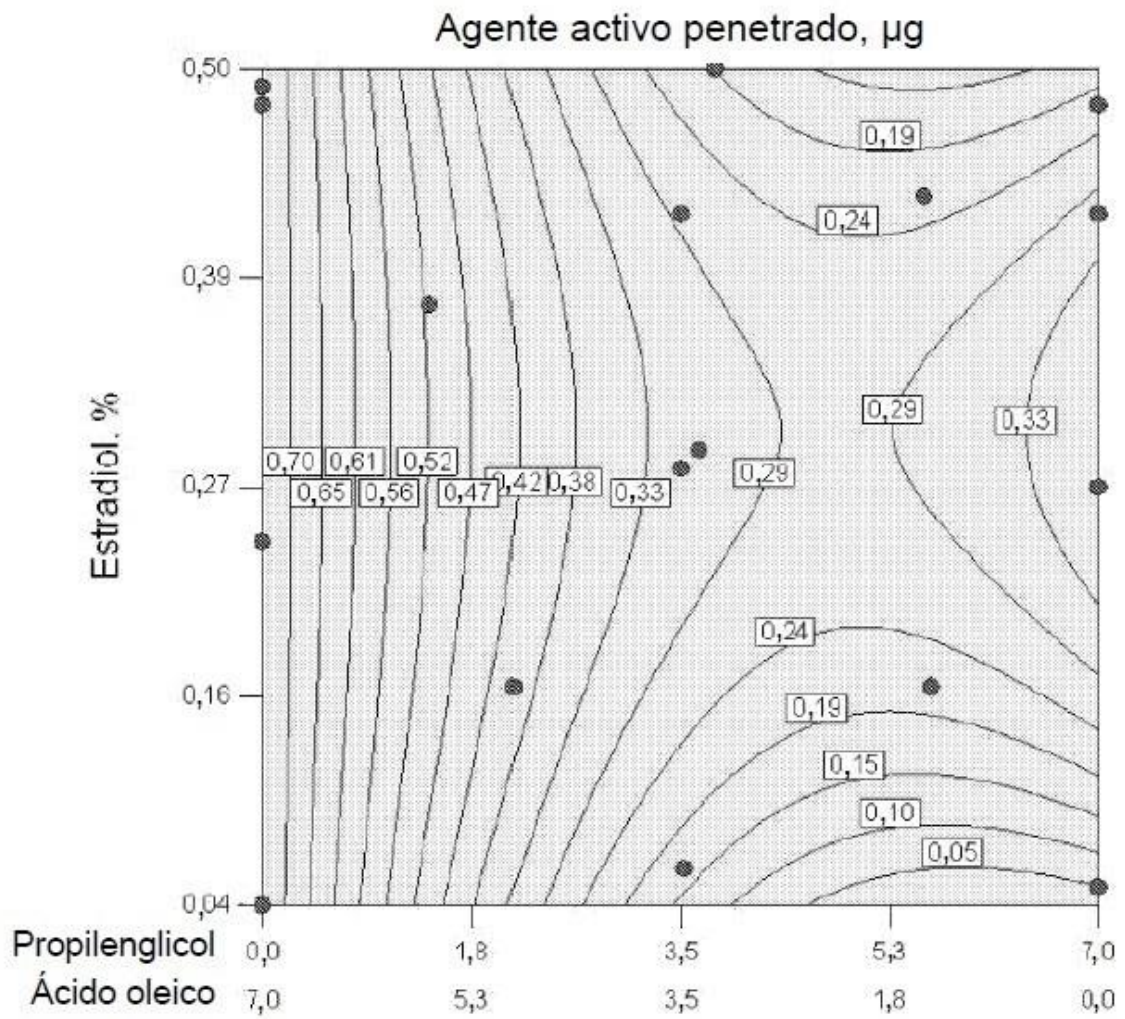


Figura 4. Efecto de la concentración de ácido oleico, propilenglicol y estradiol sobre la penetración total de estradiol durante 48 horas.

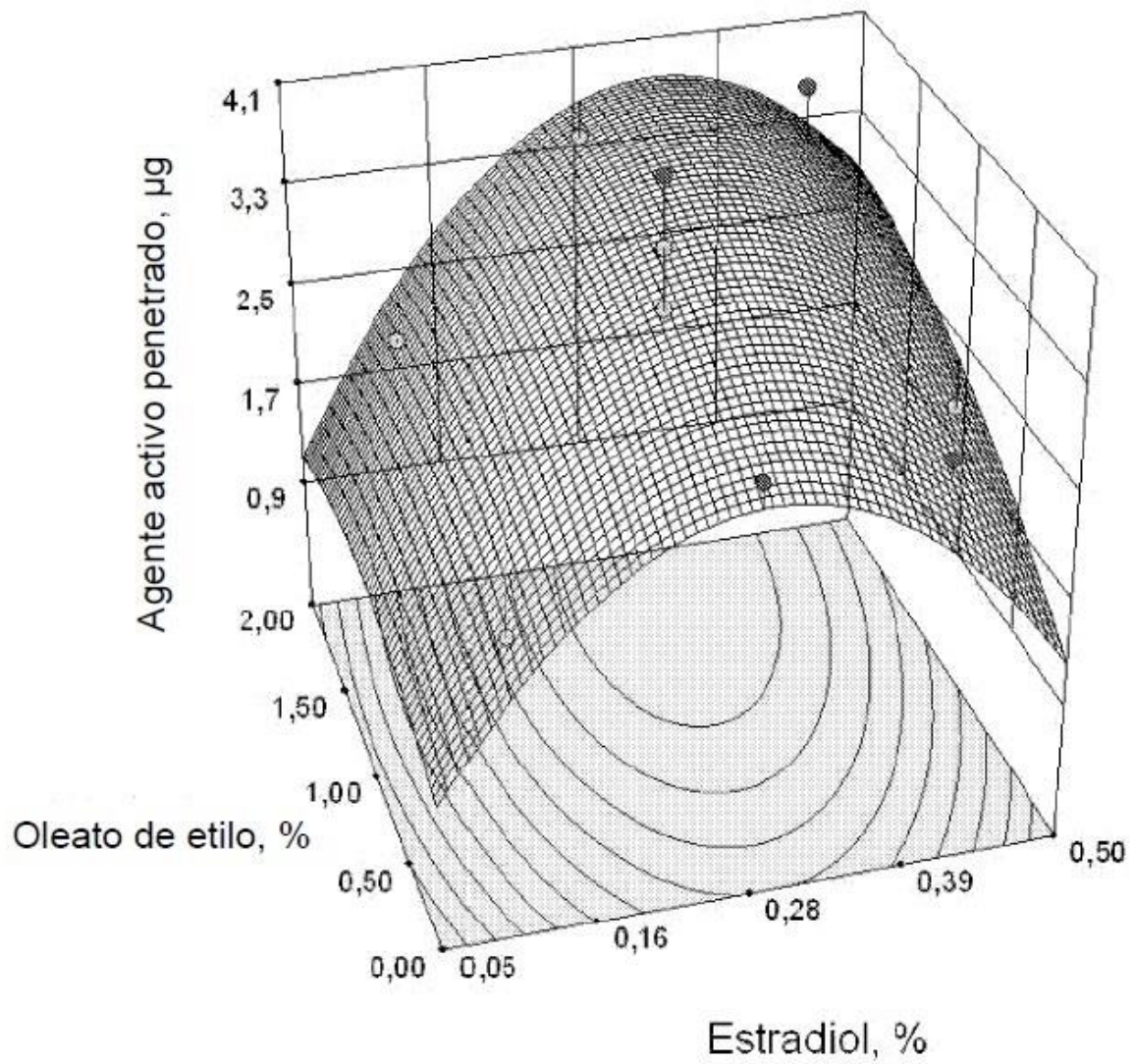


Figura 5. Efecto de la concentración de oleato de etilo y estradiol sobre la penetración total de estradiol durante 48 horas.

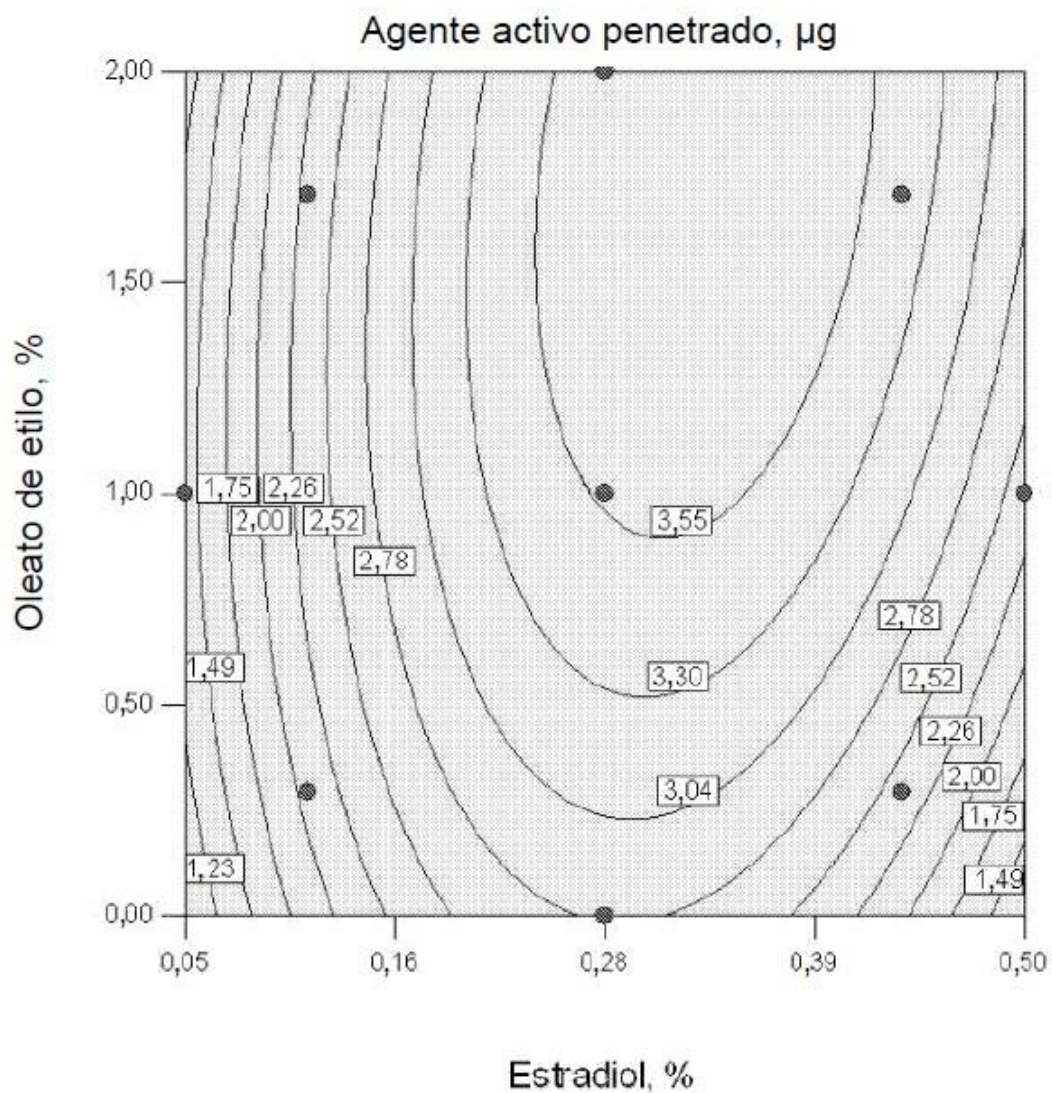


Figura 6. Efecto de la concentración de oleato de etilo y estradiol sobre la penetración total de estradiol durante 48 horas.

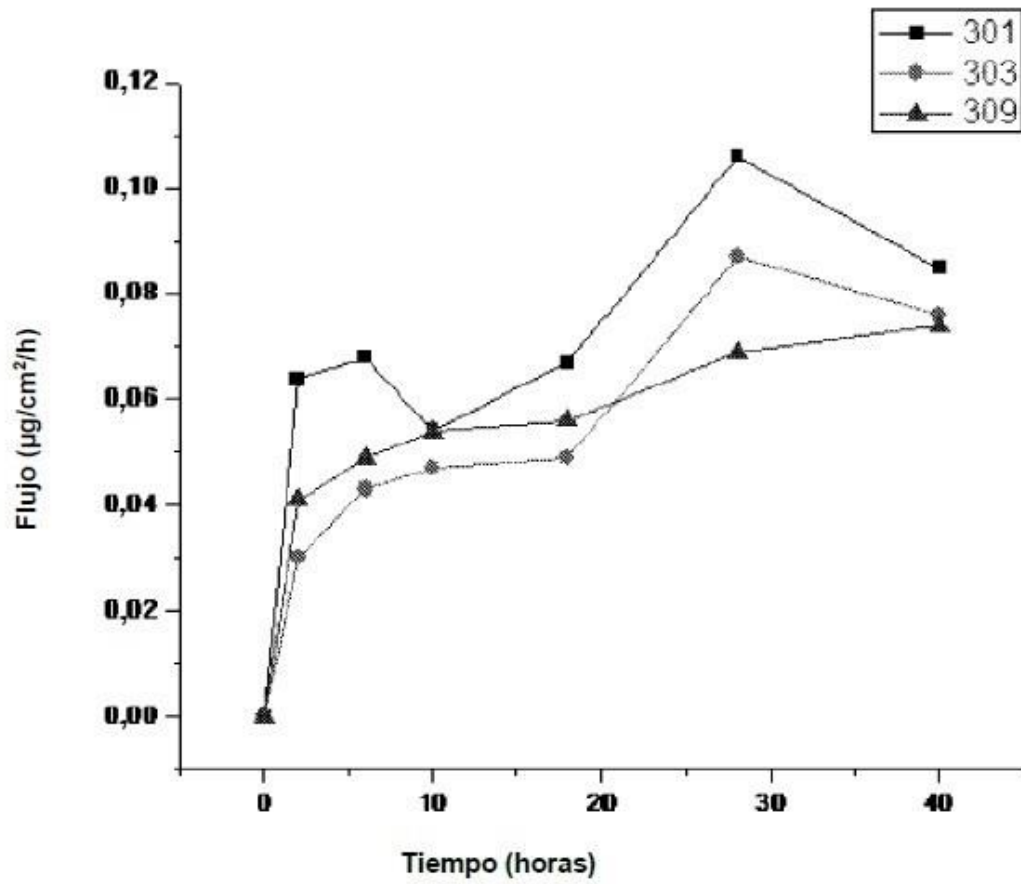


Figura 7. Perfil de Tiempo/Flujo para 3 puntos de datos experimentales.

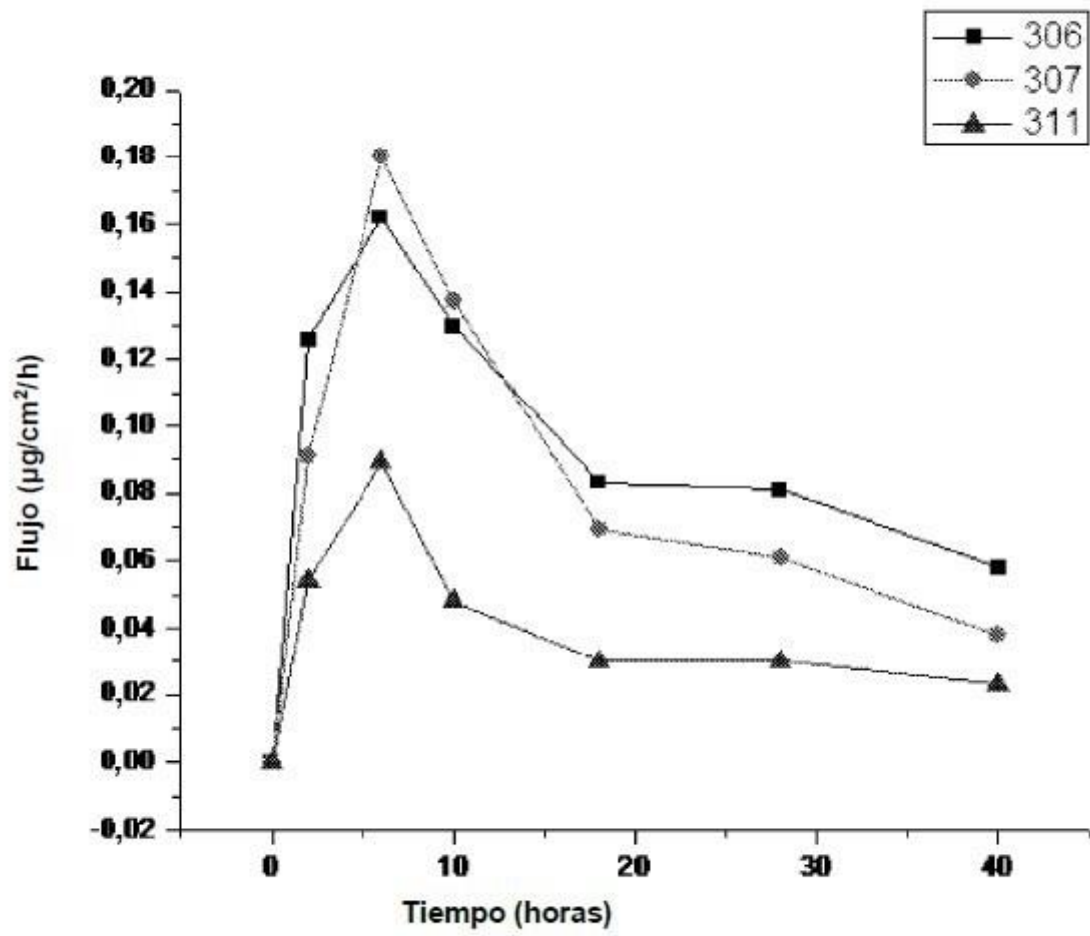


Figura 8. Perfil de Tiempo/Flujo para 3 puntos de datos experimentales.

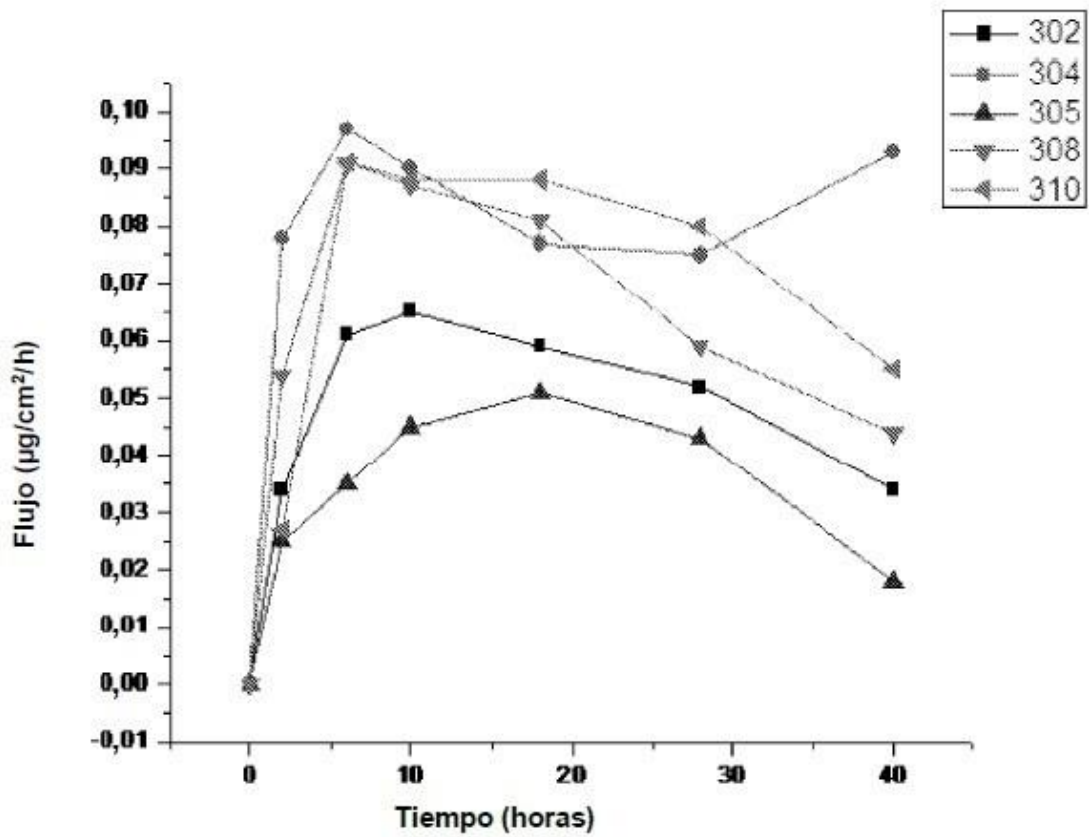


Figura 9. Perfil de Tiempo/Flujo para 5 puntos de datos experimentales.

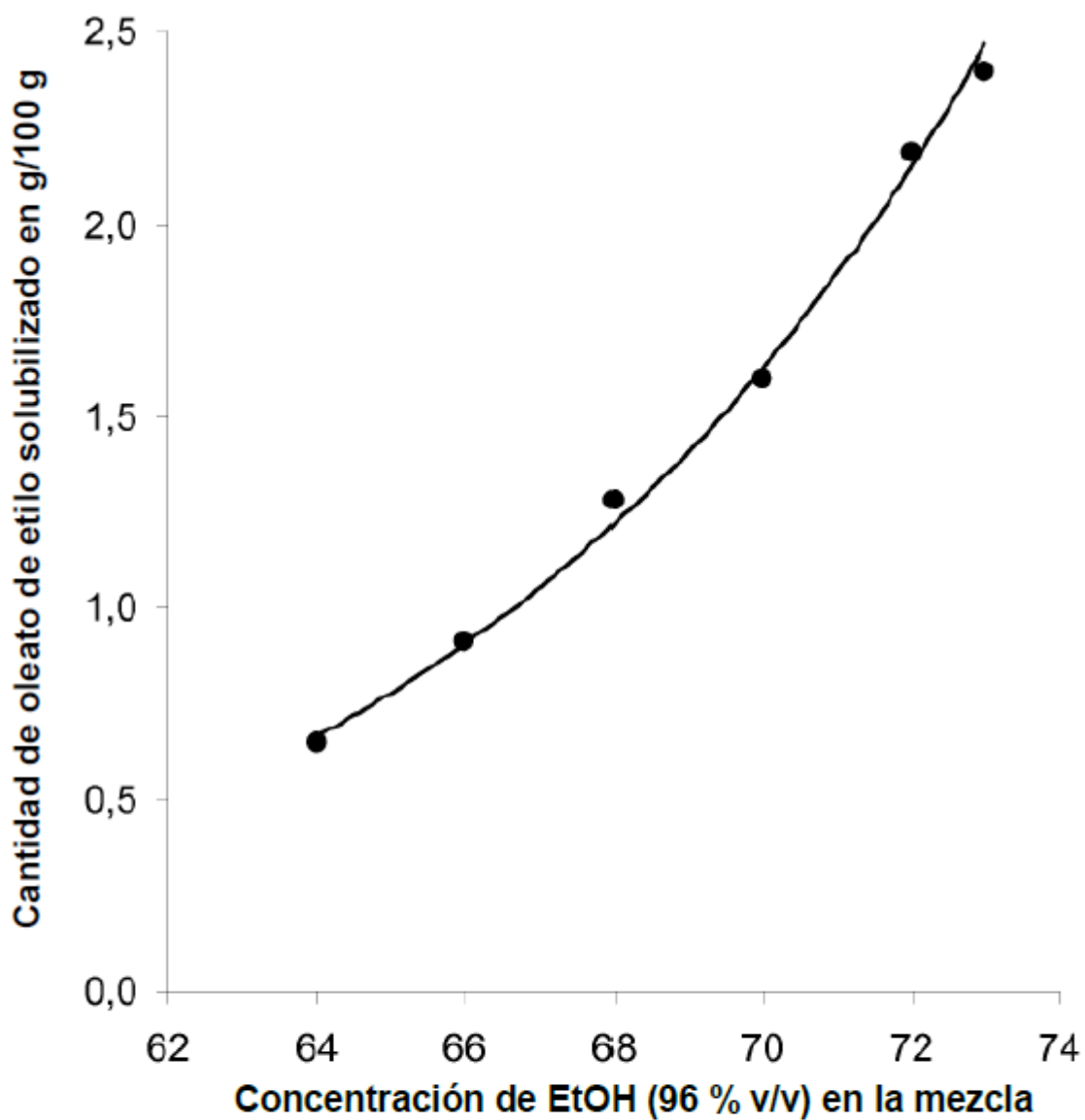


Figura 10. Solubilidad de oleato de etilo como una función de la concentración de etanol en una mezcla que contiene 0,24 % de estradiol, 5 % de propilenglicol y 2 % de ácido oleico.