

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 877 541**

51 Int. Cl.:

A61K 31/194 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 9/08 (2006.01)

A61P 31/10 (2006.01)

A61P 17/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.06.2016 PCT/JP2016/068205**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.02.2017 WO17018094**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.06.2016 E 16830199 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.03.2021 EP 3326626**

54 Título: **Agente de tratamiento de la dermatomicosis que comprende citrato tripotásico**

30 Prioridad:

24.07.2015 JP 2015146556

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

17.11.2021

73 Titular/es:

**YOSHIZAKI, SHIRO (100.0%)
15-1, Aza Sotobiraki, Komatsushima-cho,
Komatsushima-shi
Tokushima 773-0001, JP**

72 Inventor/es:

YOSHIZAKI, SHIRO

74 Agente/Representante:

CURELL SUÑOL, S.L.P.

ES 2 877 541 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

Agente de tratamiento de la dermatomicosis que comprende citrato tripotásico

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a un agente terapéutico para la dermatomicosis.

10 **Antecedentes de la técnica**

10 Es conocido que los ácidos orgánicos (ácidos carboxílicos) exhiben actividad antimicrobiana frente a una variedad de microorganismos, y algunos ácidos carboxílicos se han usado ampliamente como conservantes para alimentos, por ejemplo. Es conocido asimismo que varios ácidos carboxílicos presentan una acción curativa sobre la dermatomicosis causada por hongos patógenos, tales como hongos dermatofitos ("tiña"). Sin embargo, es
15 relativamente desconocido que las sales de ácidos carboxílicos presentan una actividad antimicrobiana frente a hongos patógenos.

No ha habido ningún documento de patente dado a conocer públicamente que establezca claramente que el ácido cítrico solo presenta una acción terapéutica sobre la dermatofitosis, con respecto a la asociación del ácido cítrico con la tiña. Únicamente unos pocos documentos de patente describen que una mezcla de otras sustancias activas antimicrobianas con ácido cítrico exhibe una acción curativa sobre la tiña. Por ejemplo, se da a conocer lo siguiente: una mezcla de aceite de caballo que presenta actividad antimicrobiana con ácido cítrico al 15% (bibliografía 1 de patente); una mezcla de una disolución de vinagre de bambú, que es una medicina popular para la tiña, con ácido cítrico al 1% (bibliografía 2 y 3 de patente); una mezcla de un líquido fermentado de extracto de *Alpinia speciosa* con vinagre *moromizu*, que contiene ácido cítrico (bibliografía 4 de patente); una mezcla de extracto de *tororo aoi*, ácido salicílico y ácido cítrico (bibliografía 5 de patente); un producto que previene la transmisión de la tiña obtenido mezclando sal de agua de mar, ácido cítrico, y otros componentes (bibliografía 6 de patente); y una preparación de película que contiene ácido cítrico para tratar la tiña (bibliografía 7 de patente).

30 Los siguientes dos documentos de patente mencionan la asociación de sales de ácido cítrico con la tiña. Se describe que la adición de un adyuvante (citrato de sodio, galato de bismuto, subnitrito de bismuto) al bifonazol, que es un medicamento conocido para la tiña, aumenta la actividad antimicrobiana del bifonazol (bibliografía 8, 9 de patente). Sin embargo, aún se desconoce por qué la actividad antifúngica del bifonazol aumenta con estos adyuvantes, y aún no se ha esclarecido el papel del citrato de sodio como adyuvante. Además, se afirma que un producto de Shiseido Japan Co., Ltd., gel de masaje de agua de colonia, "Qiora Inner Serum R (tipo dispensador)", cura la tiña de un paciente con tiña, y una mezcla que contiene los 11 componentes de este producto se describe como un medicamento terapéutico para la tiña (bibliografía 10 de patente). Aunque el citrato de sodio está contenido como uno de estos componentes, sigue siendo desconocido qué componente de estos 11 componentes exhibe una acción curativa de la tiña, y no se ha dilucidado. Un documento de patente que menciona la asociación de sales de ácido carboxílico con la tiña describe que la aplicación externa de sales de metales alcalinos (sales de sodio o sales de potasio) de ácido benzoico, ácido sórbico, o ácido edético puede curar la tiña intratable, tal como la onicomosis y la tiña hiperqueratósica (bibliografía 11 de patente).

45 El factor principal de por qué los ácidos carboxílicos exhiben actividad antimicrobiana incluye una disminución en el pH atribuida a la acidez de los ácidos carboxílicos. Además, la alteración dentro de un microorganismo causada por la disminución del pH, que se debe a la incorporación de un ácido carboxílico no disociado no ionizado en el cuerpo del microorganismo, y los efectos inherentes a los ácidos carboxílicos asimismo se consideran factores de actividad antimicrobiana (bibliografía 1 no de patente). Los ácidos carboxílicos usados como medicina para la tiña incluyen ácidos acéticos (vinagre, disolución de ácido piroleñoso, disolución de vinagre de bambú) que son medicinas populares, y *Kadako*, que es una medicina china para la tiña (que contiene ácido benzoico y ácido salicílico). El ácido cítrico asimismo se conoce como medicina popular (bibliografía 2 no de patente). Sin embargo, algunos artículos académicos dan a conocer que el ácido cítrico no muestra actividad antimicrobiana frente a los hongos. Matsuda et al., dan a conocer que el ácido cítrico y el citrato trisódico no exhibieron actividad antimicrobiana frente a *Candida (Candida krusei)* y *Aspergillus (Aspergillus oryzae)*, que son hongos patógenos (bibliografía 3 no de patente). Los ácidos carboxílicos aprobados como medicamento antifúngico en Japón (medicamento terapéutico para la tiña) incluyen el ácido undecilénico que presenta 11 átomos de carbono; sin embargo, éste apenas se usa en la práctica clínica (bibliografía 4 no de patente). Aunque un artículo académico afirma que el citrato trisódico exhibió actividad antimicrobiana frente a *Candida (Candida albicans)*, su valor de MIC es varias decenas de miles de veces o más débil que el valor de MIC de un agente antimicrobiano sintético que se usa clínicamente frente a la candidiasis, y no se muestra su eficacia real para la candidiasis (bibliografía 5 no de patente). Como se señaló anteriormente, se considera que la actividad antimicrobiana de los ácidos carboxílicos es atribuible a moléculas de ácido carboxílico no disociadas; de este modo, se considera que las sales de ácido carboxílico no presentan actividad antimicrobiana. Además, se supone que un anión de ácido carboxílico generado por disociación de una sal de ácido carboxílico no atraviesa la pared celular de un microorganismo; de este modo,
60 se cree que las sales de ácido carboxílico no presentan actividad antimicrobiana.
65

Listado de referencias

Bibliografía de patentes

- 5 Bibliografía 1 de patente: JP1992-149129A
 Bibliografía 2 de patente: JP2003-171304A
 Bibliografía 3 de patente: patente nº 3628647
 Bibliografía 4 de patente: JP2005-255638A
 Bibliografía 5 de patente: JP1992-76973A
 10 Bibliografía 6 de patente: JP2003-144535A
 Bibliografía 7 de patente: JP2007-63227A
 Bibliografía 8 de patente: JP1997-194373A
 Bibliografía 9 de patente: patente nº 3120965
 Bibliografía 10 de patente: JP2005-263695A
 15 Bibliografía 11 de patente: patente nº 5548832

Bibliografía no de patente

- 20 Bibliografía 1 no de patente: Shokuhin Kigai Biseibutsu no Target Seigyo, p. 33, Toshio MATSUDA, Saiwaishobo, 2009.
 Bibliografía 2 no de patente: Kuen San de Isha Irazu, p. 114, Shomatsu OSADA, Toru KOJIMA, Nitto Shoin, 2005.
 25 Bibliografía 3 no de patente: Antimicrobial Activities of Organic Acids Determined by Minimum Inhibitory Concentrations at Different pH Ranged from 4.0 to 7.0, Toshio MATSUDA, Toshihiro YANO, Akihiro MARUYAMA, Hidehiko KUMAGAI, Journal of Food Science and Technology, 41, 687 (1994).
 Bibliografía 4 no de patente: E.J. Foley y S.W. Lee, J. Invest. Dermatol., 10, 249 (1948).
 30 Bibliografía 5 no de patente: Yee-Lean Lee, T. Cesario, J. Owens, E. Shanbrom, y L.D. Thrupp, Nutrition, 18, 665-666 (2002).

Sumario de la invención

35 Problema técnico

La tiña en seres humanos u otros animales es una enfermedad zoonótica, y es conocido que es difícil de curar por completo con tratamiento farmacológico. Se desconoce por qué no se pueden eliminar los hongos de tiña que parasitan la parte superficial de la piel. Una consideración importante es que los agentes antifúngicos sintéticos, tales como los agentes antifúngicos a base de azol o los agentes antifúngicos a base de alilamina, usados en el campo de la dermatología, presentan menos probabilidades de penetrar en la piel. Aunque estos agentes antifúngicos muestran una potente actividad antimicrobiana frente a los hongos dermatofitos en un ensayo *in vitro* de sensibilidad a fármacos, la tiña no se puede curar a menos que los fármacos lleguen al sitio en el que está presente un hongo dermatofítico. Esto requiere el desarrollo de nuevos tipos de fármacos con una excelente permeabilidad en la piel como un nuevo medicamento para la tiña, y se espera que un fármaco que tenga tal permeabilidad cutánea tenga la potencia para curar la tiña. La onicomicosis se trata con un agente antifúngico de aplicación interna. Sin embargo, este remedio interno puede ir acompañado de efectos secundarios que incluyen daño hepático, y existe una demanda para el desarrollo de fármacos aplicados externamente que puedan curar la onicomicosis con menos efectos secundarios. Específicamente, un objetivo de la presente invención es proporcionar agentes terapéuticos para la dermatomicosis que penetren a través de la piel o las uñas de manera excelente, y que puedan tratar eficazmente la dermatofitosis, etc.

55 Solución al problema

Para lograr el objetivo, la investigación sobre agentes antifúngicos debe realizarse desde perspectivas completamente diferentes a los métodos tradicionalmente usados, por lo cual se han estudiado análogos de agentes antifúngicos sintéticos. Los agentes antifúngicos sintéticos tradicionales son típicamente insolubles o poco solubles en agua, y este parece ser el factor principal para perder permeabilidad en la piel. Para aumentar la permeabilidad, se desea seleccionar compuestos con alta solubilidad en agua. Haciendo una investigación sobre la base de este concepto, el presente inventor encontró que una sal de metal alcalino de ácido benzoico, ácido sórbico, o ácido edético exhibe un excelente efecto curativo de la tiña (bibliografía 11 de patente). El inventor realizó más investigaciones y descubrió que el citrato tripotásico presenta un excelente efecto curativo de la tiña sin irritación de la piel. El inventor llevó a cabo una investigación adicional basada en estos hallazgos, y completó la presente invención que incluye la siguiente materia objeto.

Un agente terapéutico externo para la utilización en el tratamiento de la dermatomicosis que comprende citrato tripotásico.

El agente terapéutico externo está preferentemente en forma de fluido.

El área afectada por la dermatomicosis se sumerge preferentemente en el fluido.

Efectos ventajosos de la invención

El ácido cítrico irrita mucho la piel debido a su acidez, y de este modo es difícil de usar para tratar la tiña humana. La sal tripotásica del ácido cítrico, sin embargo, es más suave para la piel debido a la ausencia de acidez, y puede usarse con seguridad como agente terapéutico para la tiña. Debido a que el ácido cítrico es una de las sustancias componentes del ciclo del ácido cítrico, que es la ruta de reacción bioquímica más importante asociada con el metabolismo aeróbico, y es abundante en el cuerpo humano, el ácido cítrico es altamente seguro. El citrato tripotásico contribuye a mejorar la vida de la humanidad como un medicamento terapéutico ideal para la tiña, exhibiendo una potente acción curativa contra la dermatomicosis con menos efectos secundarios.

Descripción de formas de realización

Se ha descubierto que el citrato tripotásico es capaz de curar fácilmente la tiña humana cuando se aplica externamente. En concreto, una sal tripotásica del ácido cítrico se disocia en tres aniones en presencia de agua, y los tres aniones penetran fácilmente en la piel de la zona afectada por la dermatomicosis. Debido a que los tres aniones del ácido cítrico exhiben un excelente efecto curativo de la tiña, está claro que los tres aniones del ácido cítrico presentan acción sobre hongos patógenos, tales como los hongos dermatofitos, a través de un mecanismo desconocido, que es completamente diferente del mecanismo de acción antimicrobiana tradicionalmente asumida, en el que se cree que la acidez atribuible al ácido carboxílico exhibe actividad antimicrobiana. Esta actividad antimicrobiana desconocida de tres aniones del ácido cítrico parece lograrse debido a que el efecto quelato de los tres aniones del ácido cítrico priva a los hongos patógenos de iones metálicos que desempeñan un papel crucial (por ejemplo, iones de calcio, iones de magnesio, iones de cinc, e iones de hierro), lo que hace que los hongos no puedan sobrevivir. Por lo general, se considera que los iones no penetran a través de la piel. Sin embargo, la barrera de la capa córnea del área afectada por la dermatomicosis es destruida por hongos; de este modo, los aniones de ácido cítrico parecen migrar a la capa córnea de la piel.

Las disoluciones acuosas de citrato tripotásico penetran bien a través de la piel o las uñas, y curan fácil y completamente la tiña, que hasta ahora se ha considerado difícil de tratar. En el caso de la tiña cutánea, la aplicación de un fármaco que contenga citrato tripotásico sobre la zona afectada por la tiña, por ejemplo 1 a 3 veces al día, mantiene la concentración del fármaco necesaria para exterminar el hongo patógeno dentro de la piel para eliminar el hongo, curando así completamente la tiña en un tratamiento de 1 semana a varios meses.

Las disoluciones acuosas de citrato tripotásico asimismo penetran bien a través del tejido de la uña, y pueden curar la onicomycosis cuando se aplican externamente. En el caso de onicomycosis, la aplicación de un fármaco que contenga citrato tripotásico en el área afectada de una uña 1 a 3 veces al día mantiene la concentración del fármaco necesaria para exterminar el hongo patógeno dentro del área afectada para eliminar el hongo, curando completamente de ese modo la onicomycosis en un tratamiento de varios meses a un año y medio. El tejido de la uña crece lentamente, y tarda alrededor de 3 meses hasta que una nueva uña del dedo reemplaza a la uña antigua, y medio año a un año o más hasta que una nueva uña del pie reemplaza a la uña antigua. De este modo, la onicomycosis requiere un tratamiento a largo plazo. Para curar la onicomycosis, es deseable exterminar el hongo patógeno en el área más interna del área afectada de la uña. Para ello, resulta eficaz sumergir toda la uña durante mucho tiempo en un agente fluido que contenga citrato tripotásico, que puede esterilizar y eliminar eficazmente el hongo patógeno presente en el interior de la uña. Realizar este tratamiento de inmersión de uñas una vez al día durante 1 a 5 horas o durante las horas de sueño, alrededor de 1 a 10 veces seguidas, elimina el hongo patógeno en la uña. Después del tratamiento, una nueva uña crece con el tiempo, recuperando una uña sana. Con frecuencia, en el caso de la onicomycosis, la infección por hongos asimismo se desarrolla en la piel alrededor de la uña; de este modo, es preferible continuar, durante varios meses, el tratamiento de sumergir toda la uña en un agente fluido.

Hasta el momento, la onicomycosis únicamente se ha curado con un remedio interno que usa un medicamento antifúngico aplicado internamente. Sin embargo, se ha descubierto que el uso de un agente fluido que contiene citrato tripotásico es capaz de curar la onicomycosis en un remedio externo. El citrato tripotásico presenta un pH casi neutro, con menos irritación en la piel causada por la acidez del ácido cítrico; de este modo, el citrato tripotásico asimismo presenta excelentes propiedades en la baja probabilidad de desarrollar inflamación de la piel. Como se señaló anteriormente, el citrato tripotásico contribuirá a mejorar la vida de la humanidad como agente terapéutico ideal para la dermatomicosis ("tiña").

La concentración de fármaco de citrato tripotásico para la utilización en un agente terapéutico externo se puede seleccionar del intervalo dentro del cual se pueden exterminar hongos patógenos, tales como hongos dermatofitos.

Asimismo resulta preferido mantener la concentración durante mucho tiempo después de que tres aniones de ácido cítrico hayan penetrado en la piel. Además, resulta preferido en el caso de la onicomicosis que tres aniones de ácido cítrico lleguen al área más interna de una uña habitada por hongos. Desde este punto de vista, la concentración de citrato tripotásico es preferentemente de aproximadamente 0.1 a 20% en peso, y más preferentemente 0.5 a 10% en peso. Una concentración de fármaco excesivamente baja requiere una administración más frecuente del fármaco debido a su efecto insuficiente sobre los hongos dermatofitos. Una concentración de fármaco excesivamente alta irrita la piel en mayor grado, posiblemente provocando inflamación en partes sensibles de la piel.

El citrato tripotásico es suficientemente soluble en agua para uso en fármacos. De este modo, las formas de dosificación, tales como fluidos, cremas, pulverizadores, y ungüentos, pueden seleccionarse adecuadamente para las sales de trimetales alcalinos de ácido cítrico según sea necesario. El disolvente para disolver una sal de metal alcalino de ácido cítrico para uso incluye cualquier disolvente que pueda disolver una sal de ácido cítrico, tal como agua, etanol, isopropanol, glicerina, etilenglicol, propilenglicol, y macrogol. El citrato tripotásico puede usarse en combinación con un medicamento antimicótico sintético conocido; asimismo se puede mezclar una sal de metal alcalino de ácido cítrico con un medicamento popular para la tiña, tales como disoluciones de ácido piroleñoso, disoluciones de vinagre de bambú, ácido acético, y extractos de plantas, en cualquier proporción. Sin embargo, resulta preferido no utilizar estos fármacos conocidos en combinación, debido a que son muy irritantes para la piel.

La actividad antimicrobiana de los agentes terapéuticos para el tratamiento de la dermatomicosis se evaluó y confirmó mediante la realización de un ensayo de sensibilidad a los fármacos con los principales hongos patógenos según las pautas del CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute, U.S.). Los hongos patógenos seleccionados fueron del género *Trichophyton* (*T. rubrum*, *T. mentagrophytes*), género *Microsporum* (*M. gypseum*), género *Epidermophyton* (*E. floccosum*), género *Candida* (*C. albicans*), género *Aspergillus* (*A. fumigatus*), y género *Cryptococcus* (*C. neoformans*). Los Ejemplos muestran los resultados del ensayo. La actividad antimicrobiana de los compuestos de la presente invención (MIC, mg/ml) frente a *T. mentagrophytes*, que es un hongo dermatofito típico, es el siguiente: citrato tripotásico 3.1; y citrato trisódico 6.3. Un ensayo de sensibilidad a fármacos con un hongo perteneciente al género *Malassezia* (*M. furfur*) asimismo se realizó según el método de Sugita et al., que utiliza un método de dilución en agar (T. Sugita et al., J. Clinical Microbiology, 43, 2824-2829 (2005)). La actividad antimicrobiana frente a *M. furfur* (MIC, mg/ml) fue como sigue: citrato tripotásico 10.0.

En estos ensayos de sensibilidad a fármacos, el medio contenía iones de Mg e iones de Ca necesarios para que las conidias fúngicas (esporas) germinen y crezcan. Debido a que los grupos carboxilo de ácidos orgánicos se unen a estos iones, los ácidos orgánicos presentan una actividad inhibidora competitiva sobre el crecimiento de hongos. El citrato tripotásico parece unirse firmemente a estos iones, y exhibe actividad antimicrobiana, inhibiendo el crecimiento de hongos al eliminar estos iones del sistema de ensayo. Este hallazgo de que las sales de ácido cítrico, capaces de unirse firmemente a iones de magnesio e iones de calcio, exhiben actividad antimicrobiana frente a hongos desafía la sabiduría convencional de que los ácidos orgánicos no disociados exhiben actividad antimicrobiana.

Debido a que el citrato tripotásico exhibe actividad antimicrobiana al unirse principalmente a iones de Mg e iones de Ca, el citrato tripotásico exhibe una actividad antimicrobiana eficaz dentro de la capa córnea de la piel, en la que estos iones son suministrados con menos probabilidad desde la sangre. Tanto las sales de monometal alcalino de dihidrogenocitrato como las sales de dimetal alcalino de monohidrogenocitrato asimismo presentan actividad antimicrobiana frente a hongos patógenos; sin embargo, estas sales irritan la piel debido a los grupos carboxilo libres que contienen, y presentan un efecto curativo de la tiña relativamente menor. Las sales de metales alcalinos del ácido isocítrico, que es una sustancia componente del ciclo del ácido cítrico, asimismo exhiben actividad antimicrobiana frente a hongos patógenos.

En el método de medida de la actividad antimicrobiana según las pautas de CLSI descritas anteriormente, se añade una cantidad excesivamente grande de iones de magnesio e iones de calcio al medio RPMI-1640 para uso. De este modo, el citrato tripotásico añadido al sistema de ensayo se une completamente a la cantidad excesivamente grande de iones metálicos, lo que da como resultado un valor de MIC aparentemente grande. Por esta razón, se realizó el método analítico de ICP para medir el contenido de iones de magnesio e iones de calcio en una disolución de ensayo usada como un ensayo en blanco en este sistema de ensayo (una disolución obtenida mediante la adición de una disolución que contiene esporas de *T. mentagrophytes* a una disolución de medio RPMI-1640, y realizando un tratamiento de cultivo), y para medir el contenido de iones de magnesio e iones de calcio en la disolución de medio RPMI-1640 original, calculando así la cantidad de iones de metales alcalinos absorbidos por las esporas de *T. mentagrophytes*. La cantidad de la sal cítrica que puede unirse a todos los iones de metales alcalinos absorbidos por las esporas es el valor sustancial de MIC. El valor de MIC corregido del citrato tripotásico frente a *T. mentagrophytes* (mg/ml) fue 0.054.

La acción curativa del citrato tripotásico sobre la dermatomicosis se determinó basándose en si existía un efecto terapéutico sobre la tiña humana. Los casos de tiña usados en el ensayo incluyen una variedad de casos, tales como tiña vesicular en la piel, tiña interdigital, tiña hiperqueratósica, tiña corporal, y onicomicosis. Como se muestra en los ejemplos 3 a 12, los fármacos que contienen citrato tripotásico exhibieron un efecto excelente, curando

fácilmente la tiña en la piel, y asimismo curaron la onicomicosis en remedios externos. En estos casos, no se confirmó irritación cutánea debida a los fármacos. En muchos casos descritos en los Ejemplos, el hongo *Trichophyton* se aisló e identificó como un hongo patógeno; además, el ejemplo 10 describe un caso en el que se aisló e identificó *Candida*, y el ejemplo 11 describe un caso en el que se aisló e identificó *Aspergillus*. Hasta el momento, se desconoce por completo que una sustancia que contenga citrato tripotásico pueda curar la dermatomicosis, tal como la dermatofitosis; la presente invención lo ha revelado por primera vez.

Durante el curso de la investigación sobre la acción curativa del citrato tripotásico en la tiña humana, se descubrió que el citrato tripotásico era capaz de provocar la germinación de las esporas fúngicas presentes debajo de la piel. La aplicación de una disolución de citrato tripotásico al 5% sobre las pequeñas pápulas rojas del cuerpo suavizó las pápulas, y se observó una recaída de los síntomas después de cada día, con desarrollo de pigmentación, seguido de una curación completa; este fenómeno se observó con bastante frecuencia. La recaída de los síntomas fue causada por la germinación de esporas, y el citrato tripotásico parece haber inducido la germinación de las esporas. El factor más importante de la baja probabilidad de curar la dermatomicosis es la presencia de esporas; incluso después de un tratamiento con un fármaco, si restan esporas, las esporas germinan, lo que permite que la dermatomicosis regrese. Debido a que el citrato tripotásico permite que las esporas germinen y después las extermina de manera eficiente, se considera que el citrato tripotásico sirve como un agente terapéutico ideal para tratar la dermatomicosis. Hasta el momento, no se conocen fármacos que permitan la germinación de las esporas debajo de la piel.

Ejemplos

A continuación se describe la presente invención con mayor detalle. Sin embargo, la presente invención no se limita a estos ejemplos.

Ejemplo 1

Se evaluó la actividad antifúngica del citrato tripotásico y del citrato trisódico frente a una variedad de hongos patógenos mediante la realización de un ensayo de sensibilidad a los fármacos. El ensayo se realizó usando un método de microdilución según las pautas del CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute, U.S.). La actividad antimicrobiana del citrato tripotásico frente a diversos hongos patógenos se muestra a continuación con el nombre de cada hongo, el número de hongo, y la MIC (mg/ml).

T. rubrum, IFM59814, 12.5
T. mentagrophytes, IFM59813, 3.1
M. gypseum, IFM58916, 12.5
E. floccosum, IFM53345, 1.6;
C. albicans, IFM5740, 25
A. fumigatus, IFM4942, 6.3
C. neoformans, IFM5807, 0.39

La actividad antimicrobiana del citrato trisódico frente a *T. mentagrophytes* IFM59813 fue 6.3 (MIC, mg/ml). La actividad antimicrobiana de la anfotericina B, que era un fármaco de control, frente a *T. mentagrophytes* IFM59813 fue 2.0 (MIC, mg/ml). El valor de MIC (mg/ml) de citrato tripotásico, obtenido midiendo y corrigiendo la cantidad de iones de metales alcalinos absorbidos por las esporas de *T. mentagrophytes* IFM59813, fue 0.054.

Ejemplo 2

La actividad antimicrobiana del citrato tripotásico frente a hongos pertenecientes al género *Malassezia* se evaluó mediante la realización de un ensayo de sensibilidad a los fármacos con especies de *Malassezia* relacionadas con seres humanos, según el método descrito en Sugita et al. (2005). El fármaco de ensayo y el medio mLNA se añadieron a cada pocillo de una placa de microtitulación de 24 pocillos para dar 2 ml en total. Se añadieron al medio 50 µl de una suspensión de microbios con una concentración de alrededor de 1×10^4 células/ml, y se cultivaron aeróbicamente a 32°C durante 7 días. Se determinó que la concentración a la que se inhibió completamente el crecimiento, en comparación con el control (sin fármaco de ensayo añadido), era una concentración inhibitoria mínima (MIC). La actividad antimicrobiana del citrato tripotásico frente a *M. furfur* fue 10.0 (valor de MIC, mg/ml).

Ejemplo 3

Se añadió etanol al 20% a 5.3 g de citrato tripotásico monohidratado para proporcionar 1000 g, preparando así una disolución de ensayo al 0.5%. La disolución de ensayo al 0.5% se aplicó a la tiña hiperqueratósica, que se desarrolló extensamente en el arco de la planta del pie, mediante la pulverización de la disolución tres veces al día. Después de aproximadamente 3 meses de tratamiento, la tiña hiperqueratósica recurrente e intratable desapareció, y la piel limpia volvió a crecer. De la zona afectada por esta tiña, se aisló y se confirmó *Trichophyton mentagrophytes*, que es un tipo de hongos *Trichophyton*.

Ejemplo 4

5 Se añadieron 20 ml de glicerina (disolución acuosa al 84-87%) a 63.6 g de citrato tripotásico monohidratado, y se le añadió adicionalmente etanol al 15% para proporcionar 2 l, preparando así una disolución de ensayo al 3%. Esta disolución de ensayo al 3% se aplicó dos veces al día, rociando la disolución, a la tiña vesicular que se desarrolló extensamente en el arco del pie izquierdo. Después de aproximadamente 1 mes, el síntoma cutáneo prácticamente desapareció. Después de continuar con el tratamiento durante aproximadamente 1 mes, esta tiña se curó.

Ejemplo 5

10 Una disolución de ensayo al 3% de citrato tripotásico preparada de la misma manera que en el ejemplo 4 se pulverizó dos veces al día sobre tiña corporal que se desarrolló extensamente sobre la parte izquierda de las nalgas. Después de aproximadamente 2 meses, la tiña corporal desapareció, y la piel sana volvió a crecer. Aunque la pigmentación de color marrón claro se desarrolló en la piel curada, se desvaneció con el tiempo y devino menos prominente.

Ejemplo 6

20 Una disolución de ensayo al 3% preparada de la misma manera que en el ejemplo 4 se pulverizó una vez al día sobre una tiña hiperqueratósica delgada que se desarrolló extensamente alrededor de la punta de las uñas en la planta de ambos pies. La fina piel hiperqueratósica se despegó gradualmente, y después de aproximadamente 1 mes, volvió a crecer una piel sana de color rosa. De esta zona afectada de la piel, se aisló y se confirmó *Trichophyton rubrum*.

25

Ejemplo 7

30 Una disolución de ensayo al 3% preparada de la misma manera que en el ejemplo 4 se pulverizó una vez al día sobre la tiña interdigital que se desarrolló extensamente entre los dedos de los pies. Después de aproximadamente 2 meses, el síntoma de la piel desapareció, y la piel sana volvió a crecer.

Ejemplo 8

35 En el caso en el que se desarrolló tiña en las cuatro uñas excepto en la cuarta uña del pie izquierdo, se sumergió todo el pie durante 1 hora diaria en una disolución de ensayo al 3% preparada de la misma manera que en el ejemplo 4. Durante el transcurso del tratamiento, nuevas uñas crecieron desde la base de las uñas. Después de medio año, la tiña en todas las uñas se curó por completo, y crecieron uñas sanas.

Ejemplo 9

40 Se añadieron 20 ml de glicerina (disolución acuosa al 84-87%) a 106 g de citrato tripotásico monohidratado, y se le añadió adicionalmente etanol al 15% para proporcionar 2 l, preparando así una disolución de ensayo al 5%. Aproximadamente 2 ml de esta disolución de ensayo se colocaron en un dedil comercialmente disponible (tamaño M). El dedo medio de la mano derecha, que desarrolló tiña en el borde derecho de la uña y la piel circundante desde la punta hasta la base de la uña, se sumergió en la disolución durante 5 horas una vez cada 2 días. Después de 3 meses de este tratamiento, volvieron a crecer una uña y una piel sanas. A partir de la muestra de uña de este caso, se aisló el hongo *Trichophyton*, y se confirmó que era *Trichophyton rubrum* mediante análisis de genes.

45

Ejemplo 10

50 Una disolución al 5% de citrato tripotásico, preparada de la misma manera que en el ejemplo 9, se pulverizó suficientemente una vez al día sobre la onicomycosis en la punta de la uña del cuarto dedo de la mano derecha. Después de un mes y medio, el área afectada de la uña se desplazó hacia la punta de la uña, y se recortó con un cortaúñas; en consecuencia, se curó la onicomycosis. A partir de la muestra de uña de esta zona afectada, se aisló y se confirmó que el hongo de *Candida* era *Clavispora lusitaniae* (el teleomorfo de *Candida lusitaniae*) mediante análisis de genes.

55

Ejemplo 11

60 Una disolución al 5% de citrato tripotásico, preparada de la misma manera que en el ejemplo 9, se pulverizó una vez al día sobre pequeñas pápulas rojas que se desarrollaron en la parte izquierda del pecho. Las pequeñas pápulas rojas en el área afectada se contrajeron inmediatamente, y después de una semana, se produjo la pigmentación y la cicatrización. De las pequeñas pápulas rojas, se recogió un fluido corporal, y se cultivó el patógeno, seguido de un análisis genético, confirmando así *Aspergillus tubingensis* como el patógeno.

65

Ejemplo 12

5 Se preparó una disolución acuosa al 10% de citrato tripotásico. Esta disolución de ensayo al 10% se pulverizó una vez al día en la uña del pulgar derecho, cuya totalidad había desarrollado onicomycosis. Durante el transcurso del tratamiento, una uña sana creció desde la base de la uña, y después de medio año, volvió una uña sana.

Ejemplo 1 (ejemplo de referencia)

10 Se preparó una disolución de ensayo al 3% de citrato trisódico de la misma manera que en el ejemplo 4. Esta disolución de ensayo al 5% se pulverizó una vez al día sobre pequeñas pápulas rojas que se desarrollaron en el muslo izquierdo. Las pequeñas pápulas rojas en el área afectada se contrajeron inmediatamente, y después de 2 semanas, se produjo la cicatrización y la pigmentación.

Aplicabilidad industrial

15 Se proporciona un agente terapéutico para la dermatomycosis ("tiña"), que se cree que padecen muchas personas en Japón. Aunque la tiña ha sido una enfermedad difícil de curar, el uso del agente terapéutico para tratar la dermatomycosis de la presente invención puede curar fácilmente la tiña. Además, el uso del agente terapéutico ha abierto la puerta a remedios externos para curar la onicomycosis, que únicamente se ha considerado tratable con remedios aplicados internamente. De este modo, la presente invención puede aliviar a la humanidad de la calamidad de la tiña, y es así altamente aplicable industrialmente.

20

REIVINDICACIONES

1. Agente terapéutico externo para la utilización en el tratamiento de la dermatomicosis que comprende citrato tripotásico.

5

2. Agente terapéutico externo para la utilización según la reivindicación 1, que está en forma de fluido.

3. Agente terapéutico externo para la utilización según la reivindicación 2, en el que un área afectada por dermatomicosis se sumerge en el fluido.

10