



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 348 225**

51 Int. Cl.:

A61K 8/64 (2006.01)

A61Q 7/00 (2006.01)

A61Q 5/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **02728237 .5**

96 Fecha de presentación : **11.05.2002**

97 Número de publicación de la solicitud: **1387660**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **11.02.2004**

54 Título: **Empleo de los derivados de la ciclosporina en la posición 3, para el crecimiento del cabello.**

30 Prioridad: **11.05.2001 KR 10-2001-0025682**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.12.2010

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.12.2010

73 Titular/es: **LG Household & Health Care Ltd.**
20, Youido-dong, Youngdeungpo-ku
Seoul 150-010, KR

72 Inventor/es: **Kim, Jung-Hun;**
Kim, Hyung-Jin;
Kim, Sang-Nyun;
Lee, Chang-Woo;
Lee, Min-Ho;
Lee, Heon-Sik;
Kim, Jong-Il;
Kim, Seung-Jin;
Cho, Ho-Song y
Ahn, Ho-Jeong

74 Agente: **Isern Jara, Jorge**

ES 2 348 225 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).

EMPLEO DE LOS DERIVADOS DE LA CICLOSPORINA EN LA POSICION 3,
PARA EL CRECIMIENTO DEL CABELLO

5

Descripción

Campo técnico

La presente invención se refiere a un agente promotor
10 del crecimiento del cabello, el cual comprende un derivado de
la ciclosporina como ingrediente activo, y con más
particularidad, a un agente promotor del crecimiento del
cabello que comprende derivados de la ciclosporina
modificados en la posición 3, como ingrediente activo.

15

Antecedentes

Como promedio, el cuero cabelludo humano contiene
aproximadamente de 100.000 a 150.000 cabellos. Cada cabello
tiene tres principales etapas de desarrollo: anagen, catagen
y telogen, después de lo cual el cabello se cae. En un ciclo,
20 el crecimiento del cabello es repetitivo, y la duración de un
ciclo es diferente de los otros ciclos, oscilando
aproximadamente de 3 a 6 años. De esta forma, el adulto medio
pierde normalmente aproximadamente de 50 a 100 cabellos cada
día. En general, la alopecia se refiere a un fenómeno en
25 donde la duración de la fase de crecimiento anagen se acorta,
y el porcentaje de cabellos en las fases catagen y telogen
aumenta, por lo cual el número de cabellos perdidos aumenta
excesiva y anormalmente.

Existen muchas teorías para explicar la pérdida del cabello, incluyendo por ejemplo, una pobre circulación de la sangre, un excesivo funcionamiento de las hormonas sexuales masculinas, una excesiva producción y secreción de sebo, un deterioro del cuero cabelludo por los peróxidos, bacterias, etc. factores hereditarios, envejecimiento, estrés, etc.. Sin embargo, los mecanismos explícitos no se han descubierto. Recientemente, la población que padece la pérdida del cabello tiene tendencia a aumentar, puesto que los hábitos dietéticos cambiantes y el estrés impuesto a los individuos debido al ambiente social moderno, etc. ha aumentado. También, la edad de los individuos afectados por la alopecia está disminuyendo y además la población de mujeres que sufren de alopecia está aumentando.

Una de las preparaciones que se emplea más habitualmente para el tratamiento y prevención de la alopecia es una que contiene minoxidilo. Existen dos agentes para el nuevo crecimiento del cabello que han recibido la aprobación de la U.S. Food and Drug Administration ("Administración U.S. de Alimentos y Fármacos"), y el minoxidilo es uno de estos agentes para el nuevo crecimiento del cabello. El minoxidilo fue originalmente desarrollado como un fármaco para la hipertensión con el propósito de reducir la presión de la sangre. Sin embargo, al emplear este fármaco se observó como efecto secundario un efecto tricogénico, y a partir de entonces, este fármaco se convirtió en famoso como agente para el nuevo crecimiento del cabello. Aunque el mecanismo por el cual el minoxidilo actúa como un agente para el nuevo

crecimiento del cabello, no está claramente dilucidado, se cree que el minoxidilo aumenta el flujo de la sangre mediante la expansión de los vasos sanguíneos, mediante lo cual las raíces de los cabellos se alimentan con más nutrientes y eventualmente se promueve el crecimiento del cabello.

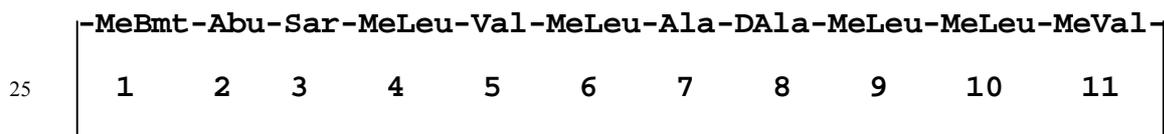
Este modelo de crecimiento del flujo sanguíneo ha sido indirectamente apoyado por un informe reciente, según el cual el minoxidilo potencia la expresión del factor del crecimiento endotelial vascular (VEGF), un factor de crecimiento asociado con la vasodilatación de la papila dérmica, la cual es una célula importante que constituye las raíces del cabello. Se ha informado también, que otro efecto distinto al efecto vasodilatador del minoxidilo en el mecanismo de restauración del cabello, es que el minoxidilo promueve la activación de las células de la papila dérmica en las raíces del cabello incubado *in vitro*, y el crecimiento de los folículos del cabello en un cultivo de tejido de los folículos *in vitro*. Estos hechos indican que el minoxidilo puede actuar directamente sobre las raíces del cabello como un factor de crecimiento.

Además, el finasteride, un principal componente de la Propecia, el cual ha empezado a vender la firma Merck, se emplea también en el tratamiento de la alopecia. Inhibe la conversión de la hormona masculina testosterona en dihidrotestosterona, la cual es una hormona masculina más potente que la testosterona. En diciembre de 1997, se aprobó por la US FDA la administración de un comprimido de 1 mg de finasteride, como agente para el nuevo crecimiento del

cabello para el tratamiento del modelo masculino de pérdida de cabello solamente en los hombres, y actualmente ya está comercialmente disponible. En estudios clínicos se ha demostrado que tiene un efecto tricógeno significativo. Sin embargo, se ha informado que el finasteride puede inhibir la función sexual masculina como efecto colateral. Dado que ni el finasteride ni el minoxidilo muestran un efecto superior en las pruebas clínicas, y existe un consenso sobre los efectos secundarios, muchas investigaciones han conducido a desarrollar unos nuevos mejores agentes para el nuevo crecimiento del cabello.

La familia de fármacos de la ciclosporina tiene una actividad inmunosupresora. Es también efectiva para inhibir el crecimiento de virus, hongos, protozoos, etc. y tienen varios efectos fisiológicos tales como la nefrotoxicidad, hepatotoxicidad, hipertensión, agrandamiento del periodontio, efecto tricogénico, etcétera, como efectos colaterales. La ciclosporina A, una ciclosporina representativa, es un péptido cíclico que tiene la siguiente fórmula química, la cual comprende 11 aminoácidos, incluyendo varios N-metil aminoácidos y la D-alanina en el radical n° 8:

[Fórmula de la estructura 1]



en donde MeBmt es N-metil-(4R)-4-[(E)-2-butenil]-4-metil-L-treonina, Abu es el ácido L- α -aminobutírico, Sar es sarco-

sina, MeLeu es N-metil-L-leucina, Val es L-valina, Ala es L-alanina, DAla es D-alanina, MeVal es N-metil-L-valina.

La forma aminoácido de la ciclosporina A de la fórmula química 1 de más arriba, es la configuración L, a no ser que se especifique otra cosa. La numeración de los radicales de los aminoácidos empieza por MeBmt y continúa en el sentido de las agujas del reloj, es decir el número 1 para MeBmt y el número 11 para el último MeVal (N-metil-L-valina) como se muestra en la estructura de la fórmula 1. La nomenclatura de varios derivados incluyendo las ciclosporinas de la A a la Z, sigue los métodos habitualmente empleados (Helv. Chim. Acta, 1987, 70:13-36). Por ejemplo si el Abu en la posición 2 de la ciclosporina A es substituido por la L-alanina, L-treonina, L-valina ó L-norvalina, los derivados así preparados reciben el nombre de ciclosporina B, ciclosporina C, ciclosporina D, o ciclosporina G, respectivamente. Además, cuando los radicales de los aminoácidos de los derivados de la ciclosporina difieren de los de la ciclosporina A, los derivados reciben el nombre mediante la descripción del substituyente. Por ejemplo, si la sarcosina, que es el radical aminoácido 3 de la ciclosporina A, se substituye con N-metil-D-Abu³, ó N-metil-D-Nva³, los derivados así preparados reciben el nombre de [N-metil-D-Abu³] ciclosporina A ó [N-metil-D-Nva³] ciclosporina A, respectivamente. Mientras tanto se emplea un método habitual para la abreviación de los aminoácidos, a saber, N-metil-L-leucina se abrevia con MeLeu, N-metil-L-iso-leucina con Melle, N-metil-L-Valina con MeVal, N-metil-L-alanina con MeAla, N-metil-L-

norvalina con MeNva, L-leucina con Leu, L-isoleucina con Ile, sarcosina con Sar, L-serina con Ser, L-valina con Val, L-alanina con Ala, D-alanina con D-Ala, L-ácido aminobutírico con Abu, L-treonina con Thr y L-norvalina con Nva. Además, como para un derivados de la ciclosporina del cual se substituye con azufre en lugar de un oxígeno carbonilo en el radical de aminoácido 7, el nombre del derivado puede ser ciclosporina 7-tioamida ó (⁷ψ⁸ CS-NH]ciclosporina, de acuerdo con diferentes referencias (Helv. Chim. Acta. 74:1953-1990, 10 1991; J.Org.Chem, 58: 673-677, 1993; J. Org. Chem. 59: 7249-7258, 1994).

Hasta el momento, el posible desarrollo de la ciclosporina como un agente para el nuevo crecimiento de cabello, ha sido estudiado por muchos grupos de 15 investigación. Particularmente, han sido ampliamente realizadas investigaciones que implican ensayos de nuevo crecimiento del cabello en animales, alopecia areata humana (J. Am. Acad. Dermatol., 1990, 22:242-250), modelo de alopecia humana masculina (J. Am. Acad. Dermatol., 1990, 20 22:251-253 y Skin Pharmacol., 1994, 7: 101-104), y efecto de inhibición de la pérdida de cabello a causa de la quimioterapia en modelos animales (Am. J. Pathol., 1997, 150: 1433-1441). En experimentos comparativos sobre la espalda del ratón, se ha mostrado que la ciclosporina tiene un efecto de 25 nuevo crecimiento del cabello aproximadamente 100 veces superior al minoxidilo. En base a dichos resultados, se ha intentado utilizar la ciclosporina como un tratamiento para

el modelo de la alopecia masculina, y se han registrado muchas solicitudes de patentes.

Por ejemplo la solicitud de patentes japonesa Kokai n^{os} Sho 60-243008, Sho 62-19512, y Sho 62-19513 describen el empleo de derivados de la ciclosporina como un agente para el nuevo crecimiento del cabello. También la solicitud de patente europea n^o 0414632B1 describe un derivado de la ciclosporina modificado en la posición 8 y la publicación PCT n^o 93/17039 describe la isociclosporina. Además, la patente de Estados Unidos n^o 5.807.820 y la patente inglesa n^o 2.218.334 A describe la ciclosporina con una excelente absorción transdérmica de conformidad al empleo de la ciclosporina como restaurador del cabello.

La patente WO 00/51558 describe derivados de la ciclosporina A para el tratamiento de la pérdida de cabello. La patente U.S. 4771122 describe la [D-2-metiltiltio-Sar³]ciclosporina A con actividad terapéutica (ejemplo 23).

Descripción de la invención

Por lo tanto, la presente invención ha sido formulada a la vista de los problemas anteriores, asociados con los efectos laterales de la ciclosporina A, y es un objetivo de la presente invención, el proporcionar un agente promotor del crecimiento del cabello, que comprenda un derivado de la ciclosporina como ingrediente activo, el cual ejerce una excelente capacidad de promoción del crecimiento del cabello.

De acuerdo con un aspecto de la presente invención, el objetivo anterior y otros objetivos pueden realizarse mediante la provisión de un agente promotor del crecimiento

del cabello, el cual comprende un análogo de la ciclosporina en la posición 3, el cual es la [D-2-metiltio-Sar³]-ciclosporina A.

Breve descripción de los dibujos

5 Los anteriores y otros objetivos, características y otras ventajas de la presente invención, se comprenderán con mayor claridad a partir de la siguiente descripción detallada tomada conjuntamente con los dibujos que se acompañan, en los cuales:

10 La figura 1 es un espectro de RMN de H¹, de [D-2-(metiltio)-Sar³]ciclosporina A;

La figura 2 es un espectro de RMN de C¹³, de [D-2-(metiltio)-Sar³]ciclosporina A;

Mejor modalidad para la realización de la invención

15 A continuación se describe la presente invención con más detalle, conjuntamente con varios ejemplos. Estos ejemplos se proporcionan solamente para fines ilustrativos, y la presente invención no se realiza para estar limitada por estos ejemplos.

20 Con el objetivo de desarrollar un nuevo agente con un efecto promotor del crecimiento del cabello, los presentes inventores sintetizaron químicamente una variedad de análogos de la ciclosporina en la posición 3, y examinaron los efectos promotores del crecimiento del cabello de los mismos. Así la
25 invención proporcionó un agente promotor del crecimiento del cabello que comprende un derivado de la ciclosporina como ingrediente activo.

Ejemplo 1: síntesis de un análogo en posición, de la ciclosporina

Un método general para la alquilación de la ciclosporina A fue el siguiente. Se añadió tetrahidrofurano (THF) a diisopropilamina ((i-Pr)₂NH), y se añadió a una solución de n-butil litio (BuLi) en hexano, en atmósfera de nitrógeno a -78 °C, seguido de agitación durante 30 minutos. A la solución de LDA (litio diisopropilamida) así preparada, se añadió la ciclosporina A en THF, se agitó durante 1 hora, y se añadió el electrofilo.

1-5: Síntesis del (D-2-(metiltio)-Sar³] ciclosporina A

De acuerdo con el método general, la alquilación se efectuó empleando THF (100 ml), (i-Pr)₂NH (1,6 ml), BuLi (4,0 ml), ciclosporina A (1,0 g) en 30 ml de THF y disulfuro de metilo (Me₂S₂) (1,5 ml). La solución se agitó durante 14 horas a 0 °C y se le añadieron 20 ml de agua, seguido de una concentración. Al residuo se le añadió éter (Et₂O), se lavó secuencialmente con agua y una solución saturada de cloruro de sodio, y se secó con MgSO₄ anhidro. Después de la concentración, el residuo se sometió a una columna cromatográfica de silicagel (100 g de silicagel, diclorometano: alcohol metílico = 50: 1~96: 4), seguido de una HPLC para obtener los compuestos del título 5 (0,36 g) y 6 (0,05 g). El peso molecular del compuesto se determinó mediante el análisis FAB MS (ZMS AX 505H). Para confirmar la estructura molecular se efectuaron medidas de la resonancia magnética nuclear (RMN) a 600 MHz (Bruker) para la RMN de H¹, y a 150

MHz (Broker) para la RMN de C^{13} , y los espectros están mostrados en las figuras 9 y 10, respectivamente.

1. Preparación de un tónico capilar que contiene [D-2-metiltio-Sar³] ciclosporina A

5 Se mezclaron los ingredientes individuales y se agitaron, y las mezclas se disolvieron completamente para preparar tres tónicos capilares promotores del crecimiento del cabello, con composiciones como se muestran en la tabla 1 a continuación. Se descubrió que la composición 1 de la tabla
10 1 tiene un efecto para promover el crecimiento del cabello a un nivel similar de un tónico capilar convencional que contiene 0,1% de ciclosporina A, según se evaluó en un experimento con animales de acuerdo con el ejemplo de ensayo descrito más adelante.

15

Tabla 1: formulación de un tónico capilar

(unidad:% en peso)

Ingredientes	compuesto I	compuesto 2	compuesto 3
20 Etanol	40,0	40,0	40,0
[D- 2-(metiltio)-Sar ³] ciclosporina A	0,1	1,0	8,0
Acetato de tocoferol	0,1	0,1	0,1
Acido salicílico	0,3	0,3	0,3
L- mentol	0,3	0,3	0,3
25 Tween 20	0,5	0,5	0,5
Perfume	típico	típico	típico
Colorante	típico	típico	típico
Agua	resto	resto	resto

2. Preparación de una crema capilar que contiene la [D-2-metiltio-Sar³] ciclosporina A

Se mezclaron los ingredientes individuales de la fase aceite y de la fase agua, en un recipiente por separado, y cada mezcla se disolvió completamente calentando hasta 80 °C. Se mezclaron las dos fases de los ingredientes, se emulsionó, y se enfrió a temperatura ambiente. Se mezclaron aditivos como por ejemplo un perfume y un colorante, para preparar tres cremas capilares, con las composiciones que se muestran en la tabla 2 a continuación. El agua se añadió para ajustar al 100 % el peso total incluyendo los ingredientes de la fase aceite y de la fase agua.

Se descubrió que la composición 1 de la tabla 2 tiene un efecto promotor del crecimiento del cabello a un nivel similar al de una crema capilar convencional conteniendo 0,1% de ciclosporina A, como se evaluó en un experimento con animales de acuerdo con el ejemplo de ensayo descrito más adelante.

Tabla 2: formulación de la una crema capilar

(unidad:% en peso)

Ingredientes	compuesto I	compuesto 2	compuesto 3
Parafina	5,0	5,0	5,0
Alcohol cetoestearílico	5,5	5,5	5,5
Vaselina	5,5	5,5	5,5
Monoestearato de glicerina	3,0	3,0	3,0
Polioxietilenoctildodeciléter	3,0	3,0	3,0

	11		
Propilparabeno	0,3	0,3	0,3
[D- 2-metiltio-Sar ³] ciclosporina A	0,1	1,0	8,0
Glicerina	7,0	7,0	7,0
Dipropilenglicol	20,0	20,0	20,0
5 Polietilenglicol	5,0	5,0	5,0
Agua	resto sin incluir perfume y colorante		
Perfume	típico	típico	típico
Colorante	típico	típico	típico

10 3: Preparación de un champú que contiene la
[D-2-metiltio-Sar³]ciclosporina A

Se mezclaron todos los ingredientes individuales, excepto el perfume, el colorante y el agua, y la mezcla se disolvió completamente calentando y agitando. Después de
 15 enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se mezcló con el perfume y el colorante. El agua se añadió finalmente para ajustar el peso total al 100 %, para preparar tres champús con las composiciones que se muestran en la tabla 3 a continuación:

20 Tabla 3: formulación de un champú

(unidad:% en peso)

Ingredientes	compuesto I	compuesto 2	compuesto 3
Sal sódica del ácido laurilsulfúrico POE 25 (30% en peso de la solución acuosa)	40,0	40,0	40,0
Dietanolamida del ácido graso del aceite de palma	3,0	3,0	3,0
Propilenglicol	2,0	2,0	2,0

		12		
	Acido metil paraoxibenzoico	0,2	0,2	0,2
	Etanol	2,0	2,0	2,0
	[D- 2-metiltio-Sar ³] ciclosporina A	1,0	3,0	10,0
	Acido salicílico	0,3	0,3	0,3
5	L-mentol	0,3	0,3	0,3
	Perfume	típico	típico	típico
	Colorante	típico	típico	típico
	Agua	resto	resto	resto

10 4: Preparación de un acondicionador para el cabello, que contiene la [D- 2-metiltio-Sar³] ciclosporina A

Se mezclaron los ingredientes individuales de la fase aceite y de la fase agua en un recipiente por separado, y cada mezcla se disolvió completamente calentando a 80 °C. Se
 15 mezclaron las dos fases de los ingredientes, se emulsionaron, y se enfriaron a temperatura ambiente. Se mezclaron los aditivos como por ejemplo el perfume y el colorante para preparar tres acondicionadores para el cabello, con las composiciones que se muestran en la tabla 4 más adelante. El
 20 agua se añadió para ajustar al 100% el peso total incluyendo los ingredientes de la fase aceite y la fase agua.

Tabla 4: formulación de un acondicionador del cabello

		(unidad:% en peso)		
25	Ingredientes	compuesto I	compuesto 2	compuesto 3
	Cetanol	3,0	3,0	3,0
	Monoestearato de glicerol autoemulsionable	2,0	2,0	3,0

13

	Escualeno	10,0	10,0	10,0
	[D- 2-metiltio-Sar ³] ciclosporina A	1,0	5,0	10,0
	Propilenglicol	2,0	2,0	2,0
	Cloruro de estearildimetil bencilamonio			
5	(solución acuosa al 25% en peso	8,0	8,0	8,0
	Acido metil paraoxibenzoico	0,2	0,2	0,2
	Acido salicílico	0,3	0,3	0,3
	L- mentol	0,3	0,3	0,3
	Agua	resto	resto	resto
10	Perfume	típico	típico	típico
	Colorante	típico	típico	típico

Ejemplo de ensayo: ensayo para el efecto de promoción del crecimiento de cabello de los derivados de la ciclosporina de la invención

Se emplearon ratones hembra C57BL/6 de 6 a 7 semanas de edad. Después de eliminar los pelos del centro de la espalda con una afeitadora eléctrica, los ratones fueron pesados, randomizados y asignados a los grupos de ensayo con una distribución uniforme por pesos. Los ratones se dejaron un día para que se adaptaran. A partir del día siguiente se aplicó sobre la espalda de lo ratones, la ciclosporina A y los derivados de la ciclosporina A, [D-2-metiltio-Sar³]ciclosporina A, preparada mediante HPLC en el ejemplo 1 en cantidades de 100 µl (conc. 0,1% peso/volumen) durante 30 días. Los resultados se determinaron por examen visual, en términos de grados de nuevo crecimiento del cabello. Con respecto a las áreas respectivas de cabello eliminado, se

examinaron las proporciones del nuevo crecimiento de cabello, y se compararon.

Como puede verse en la tabla 5, los derivados de la ciclosporina de la invención, tienen un efecto promotor significativo del crecimiento del cabello, comparado con el control, en el cual se aplicó a lo ratones solamente un vehículo. Además los derivados mostraron un nivel similar del efecto promotor del crecimiento del cabello, con respecto a la ciclosporina A. Mientras tanto, durante el transcurso de 30 días, al comparar el aspecto de las espaldas, el ratón del control y todos los grupos del ensayo, no mostraron ninguna irritación específica en la piel.

Tabla 5: evaluación de los derivados de la ciclosporina en base al nuevo crecimiento del cabello en ratones

15

Compuesto aplicado	vehículo	ciclosporina A	1*
Area de nuevo crecimiento de cabello en %	35	91	93
<u>*[D-2-metiltio-Sar³]ciclosporina A</u>			

20

Sobre la base de los resultados anteriores, los derivados de ciclosporina de la invención pueden ser formulados en cualquier forma incluyendo formulaciones líquidas, sprays, geles, pastas, emulsiones, cremas, acondicionadores, champús, y similares. Puede disponerse de una gran variedad de formas, pero considerando su alta demanda comercial, los tónicos capilares, cremas, acondicionadores, y champús destacan entre los mismos. Como revela el ejemplo del ensayo de más arriba, el derivado de ciclosporina [D-2-

metiltio-Sar³]ciclosporina A, presenta un excelente efecto de promoción del crecimiento del cabello, comparado con el control.

Aplicabilidad industrial

5 Como resulta aparente a partir de la descripción, la presente invención proporciona un agente para promover el crecimiento del cabello que comprende el derivado de la ciclosporina A substituido en la posición 3 de la ciclosporina A como ingrediente activo, el cual presenta un
10 excelente efecto de promoción del crecimiento del cabello.

REIVINDICACIONES

1. [D-2-metiltio-Sar³]ciclosporina A, para emplear como
5 agente promotor del crecimiento del cabello.

