



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 301 152**

51 Int. Cl.:  
**A61K 35/20** (2006.01)  
**A61K 38/40** (2006.01)  
**A61P 17/10** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **06716688 .4**  
86 Fecha de presentación : **14.03.2006**  
87 Número de publicación de la solicitud: **1833495**  
87 Fecha de publicación de la solicitud: **19.09.2007**

54 Título: **Uso dermatológico de proteínas lácteas.**

30 Prioridad: **15.03.2005 EP 05102043**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**16.06.2008**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**16.06.2008**

73 Titular/es: **Campina Nederland Holding B.V.**  
**Hogeweg 9**  
**5301 LB Zaltbommel, NL**

72 Inventor/es: **De Waard, Rick y**  
**Walter, Angela, Loriann**

74 Agente: **Tomás Gil, Tesifonte Enrique**

ES 2 301 152 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

Uso dermatológico de proteínas lácteas.

5 La invención se refiere al uso de proteínas de leche fraccionadas para el tratamiento del acné.

**Antecedentes***Acné*

10 El *Acne vulgaris* es una enfermedad dermatológica fácilmente reconocible. Es una de las enfermedades más comunes de la piel, con un alcance de prevalencia de casi el 100% entre adolescentes. Las pequeñas lesiones de acné no inflamatorias pueden no ser más que una molestia menor pero, en personas con acné inflamatorio nodular más fuerte, el dolor, la vergüenza social, y las cicatrices físicas así como psicológicas les puede cambiar la vida.

15 La lesión más temprana microscópica observada en el acné vulgar es el microcomedón. Esta lesión se caracteriza por la obstrucción folicular del conducto de una unidad pilosebácea (que consiste en un folículo piloso y una glándula sebácea). El sebo es producido en la unidad pilosebácea y algo de él puede quedar atrapado bajo el tapón de queratina junto con más material queratinoso, provocando el aumento del folículo. En la fase del microcomedón, son notables  
20 la hiperproliferación folicular epitelial (hiperqueratosis), la obstrucción folicular así como la hiperactividad de las glándulas sebáceas.

El microcomedón es el precursor de otras lesiones del acné: según aumenta la lesión, se vuelve clínicamente evidente y pasa a ser un comedón no inflamado cerrado o comedón abierto (espinilla o punto negro, respectivamente).  
25 Con el tiempo el (micro)comedón puede llenarse de bacterias *Propriobacterium acnes*, que segregan subproductos biológicos quimotácticos y proinflamatorios de la pared celular. Como consecuencia, células inflamatorias rodean el folículo, se dispersan a través de la pared folicular y generan enzimas que disgregan la pared folicular. A su vez esto producirá lesiones mayores y frecuentemente inflamatorias, tal como pápulas, pústulas y lesiones nodulares quísticas. Otros factores, tal como predisposición genética, estrés y dieta, puede también afectar al desarrollo y gravedad del  
30 acné.

*Terapias actuales*

35 Las terapias tópicas y sistémicas forman dos de las principales estrategias terapéuticas actuales para el tratamiento del acné. Dependiendo de la gravedad de las lesiones, se aplica una única terapia o una terapia combinada. En general, las terapias tópica y sistémicas tienen como objetivo la inhibición de la hiperqueratosis y la obstrucción folicular, disminución de la producción de sebo, reducción de la carga bacteriana y de las respuestas inflamatorias.

40 Las estrategias principales de las terapias tópicas (en formulaciones de gel, crema y solución) comprenden retinoides tópicos y antibióticos tópicos. Las terapias sistémicas u orales son principalmente usadas para individuos con formas de moderada a severas de acné inflamatorio. Tanto para hombres como para mujeres, estas terapias incluyen antibióticos orales y retinoides orales. El tratamiento hormonal, incluyendo anticonceptivos orales, es ocasionalmente usado para la mayoría de tipos de acné tanto en mujeres adultas como adolescentes.

45 No obstante, aparecen muchos efectos secundarios adversos cuando se usan las terapias mencionadas arriba, que van desde sequedad, enrojecimiento e irritación de la piel cuando se usa retinoides, hasta una mayor resistencia a los antibióticos cuando se usa antibióticos, y aumento de peso y trombosis cuando se usa anticonceptivos orales. Lo último evidentemente no es pertinente a los individuos masculinos.

*Técnica anterior*

50 US 2004/0214750 expone una crema antiacné tópica que contiene lactoferrina bovina y componentes derivados de plantas, que muestra una mejora en el acné después de su administración durante 10 semanas. Asimismo se refería que la administración combinada de esta crema tópica con un producto oral conteniendo lactoferrina en aceite de girasol suponía una mejora significativa de la condición de la piel. No se describe el origen y la naturaleza de la lactoferrina ni la dosificación. Este documento insiste en la importancia del tratamiento local y no se hace ninguna sugerencia para la administración oral sólo.

60 WO 98/44940 describe métodos para inhibir la actividad de la interleuquina  $1\beta$  administrando lactoferrina. Se menciona una amplia variedad de condiciones inducidas por alérgenos, tal como artritis, asma, sinusitis, rinitis y bronquitis e incluyendo trastornos de la piel, tales como dermatitis, psoriasis, inflamación inducida por UV, dermatitis del pañal y arrugas. Los niveles de dosificación oral preferidos de un "ingrediente activo" son de 50 mg a 500 mg por kg de masa corporal al día, que corresponde aproximadamente a de 3 a 40 g por persona adulta al día. Para enfermedades relacionadas con la piel sólo se contemplan formulaciones tópicas. Los experimentos indican que la  
65 lactoferrina tiene un efecto inhibidor en la síntesis del factor de necrosis tumoral  $\alpha$ , que se refirió que contribuye a la actividad contra las enfermedades inducidas por alérgenos, pero no hay ninguna evidencia experimental de que la lactoferrina sea activo contra las enfermedades de la piel tales como el acné.

## ES 2 301 152 T3

JP-A 7-300425 describe bebidas y otras composiciones que contienen lactoferrina para la prevención de la adhesión de bacterias patógenas (p. ej. *E. coli*) y hongos cariógenos. También describe una loción para la prevención de la inflamación de la piel y granos.

- 5 Es un objeto de la presente invención proveer medios y métodos para el tratamiento del acné usando agentes naturales o análogo a los naturales y que tengan una eficacia mejorada.

### Descripción de la invención

- 10 Se descubrió según la invención que el acné puede ser eficazmente tratado administrando una composición oral conteniendo una fracción de proteína de lactosuero comprendiendo lactoferrina. El tratamiento local adicional no es necesario y de hecho es indeseado. Por lo tanto, la invención se refiere a un método para el tratamiento del acné, comprendiendo la administración oral a una persona que padece de acné de una cantidad eficaz de una fracción de proteína de lactosuero comprendiendo lactoferrina.

- 15 La lactoferrina para ser usada en el método de la invención es lactoferrina preferiblemente nativa bovina. La lactoferrina bovina es una glicoproteína de unión de hierro de kDa 80, que está presente en las secreciones exocrinas que son comúnmente expuestas a la flora normal: leche, lágrimas, exudado nasal, moco bronquial, fluidos gastrointestinales, moco cervicovaginal, semen y saliva. La fuente usual de lactoferrina bovina es calostro, leche o lactosuero. 20 Un material particularmente ventajoso es una fracción de proteína de lactosuero enriquecida con lactoferrina, conteniendo entre 50 y 98% en peso de lactoferrina, más preferiblemente entre 60 y 95% de lactoferrina, el resto siendo otras proteínas de lactosuero o péptidos. También se pueden usar niveles superiores al 95% o incluso al 98% pero no se encontró que proporcionaran ventajas adicionales, y en cambio aumentan el coste. En formas de realización particulares, el contenido de lactoferrina de la fracción está entre el 75 y 90% en peso, o, alternativamente, entre el 25 90 y 98% en peso. En este aspecto, las proteínas y péptidos como GMP (glicomacropéptido) y Proteosa Peptonas, que provienen de la caseína de la leche, son también llamadas proteínas de lactosuero. Se prefiere que las otras proteínas de lactosuero sean básicas, es decir, aquellas que se extraen de una resina de intercambio iónico ácido, y tengan puntos isoeléctricos por encima de pH 6, especialmente por encima de 7. Asimismo se prefiere que las otras proteínas de lactosuero tengan un peso molecular entre 10 kD y 60 kD.

- 30 Preferiblemente las proteínas de lactosuero o péptidos de lactosuero comprenden una secuencia N-terminal seleccionada del grupo siguiente:

- 35 - Ile-Gln-Arg-Pro-Pro-Lys-Ile-Gln-Val-Tyr  
- Xaa-Pro-Val-Thr-[Asp o Arg]-Glu-Asn-Thr-Pro-Ile (Xaa es cualquier aminoácido, particularmente Gly, Ala, Arg, Met, Val, Phe, o Thr)  
40 - Xab-Lys-Glu-Thr-Asn-Tyr-Pro-Asn-Lys-Gly (Xab es Ser, Gly, o Asp).

- Se observa que en las secuencias arriba uno o dos de los residuos aminoácidos individuales pueden ser cambiados por otro residuo aminoácido, y además que el N-terminal puede ser provisto de uno o dos residuos aminoácidos.

- 45 Preferiblemente, la fracción de proteína de lactosuero contiene menos del 5% en peso de inmunoglobulinas, especialmente menos del 2% en peso. Además, se prefiere que la fracción sea baja en lactoperoxidasa, es decir menos del 10% en peso, especialmente menos del 4% en peso. Preferiblemente, la proporción de peso entre lactoperoxidasa y lactoferrina está por debajo de 0,4, más particularmente entre 0,01 y 0,2.

- 50 La lactoferrina de la fracción de proteína de lactosuero preferiblemente tiene un contenido de hierro de entre 50 y 400 ppm de hierro ( $\text{Fe}^{3+}$ ), más preferiblemente entre 75 y 300 ppm, y más preferiblemente entre 100 y 200 ppm, basado en lactoferrina pura. El contenido de hierro de la fracción de proteína de lactosuero como tal está preferiblemente entre 40 y 350 ppm, más preferiblemente entre 60 y 250 ppm, y más preferiblemente entre 80 y 180 ppm, del peso de la proteína de lactosuero. La lactoferrina es preferiblemente nativa, es decir, esencialmente no desnaturalizada.

- 55 La fracción con lactoferrina puede ser obtenida por fraccionamiento de proteínas de lactosuero usando cromatografía de afinidad, cromatografía de intercambio iónico, ultrafiltración, y similares y combinaciones de las mismas. El proceso generalmente comienza con un producto lácteo, que es normalmente desnatado primero, p. ej. por microfiltración o centrifugado. El proceso puede además comprender la carga en una resina de intercambio iónico ácida, el lavado, la elución de una fracción básica, el concentrado, la desalación de la fracción básica y el secado (p. ej. secado por pulverización).

- 60 La fuente del producto lácteo puede ser humana, de vaca, cabra, oveja, llama, buey del Tibet, búfalo, caballo, etc. el producto lácteo puede ser leche, leche concentrada, leche sin lactosa, leche pasteurizada, leche termizada; lactosuero, lactosuero desnatado, lactosuero de queso, lactosuero de caseína, lactosuero de ácido láctico, lactosuero concentrado, lactosuero sin lactosa, lactosuero ultrafiltrado o nanofiltrado, WPC (proteína de lactosuero concentrada), y otras fracciones de leche que contengan la mayoría o todas las proteínas lácteas a parte de la caseína intacta.

## ES 2 301 152 T3

La resina de intercambio iónico puede ser de tipo muy ácido (tipo de ácido sulfónico), o de tipo poco ácido (tipo ácido carboxílico). Se prefiere el último. Preferidos son los polímeros macroporosos sintéticos, p. ej. basados en polimetacrilato. Tipos ejemplares incluyen Sepabeads FP-SP de Mitsubishi (Italia) y Amberlite IRC 50 de Röhm & Haas (EEUU).

Aunque la lactoferrina nativa bovina es un componente preferido de la fracción de proteína de lactosuero para ser usado como agente activo, parte (p. ej. hasta el 50% en peso o más) o toda ella puede ser sustituida por otras lactoferrinas, tales como lactoferrina de otros mamíferos (seres humanos y otros primates, caballos, cabras, camellos y otros), lactoferrina recombinante (humana, bovino y otro) producido en animales o plantas, lactoferrina truncada, péptidos derivados de lactoferrina (lactoferricina, lactoferrampina y otros) lactoferrina tratada con ácido como se describe en la solicitud pendiente PCT/EP2004/001849 (WO 2005 079582), y lactoferrina inmovilizada como la descrita en WO 0072874. La lactoferrina puede especialmente ser un constituyente de fluidos con lactoferrina (lactosuero, leche, calostro,) o una composición comprendiendo lactoferrina y factores de crecimiento derivados de la leche como se describe en EP 869 134 A1.

La lactoferrina y otras proteínas de lactosuero pueden ser usadas como tal o combinadas con otros agentes activos o componentes de soporte. Ejemplos no limitativos de componentes adicionales que pueden ser usados son proteínas bioactivas derivadas de mamíferos (tal como lactoperoxidasa), glicoproteínas, enzimas, carbohidratos, polisacáridos (p. ej. pectina, carboximetilcelulosa, carragenina, heparinas) ácidos grasos, péptidos, aminoácidos, factores de crecimiento, lisozimas, histatinas, cistatinas, caseína, fosfopéptidos de caseína (CPP), péptidos o mezclas peptídicas enriquecidas con uno o más aminoácidos específicos, p. ej. (condicionalmente) esenciales, como glutamina, cisteína, glicina, arginina, triptófano etc.; péptidos antihipertensivos, retinoides, vitaminas y hormonas; compuestos no animales, es decir vegetales, recombinantes, químicos u otros orígenes, antibióticos, fibras, probióticos, prebióticos, retinoides, vitaminas, hormonas, bacteriocinas, ácido láctico, y hierbas.

La fracción de proteína con lactoferrina en cierto modo puede ser formulada de una forma convencional para las composiciones orales farmacéuticas o nutritivas. Cuando la composición para ser administrada es una composición nutritiva, puede ser como un complemento alimentario, barra, bebida, yogur, caramelo, chicle, etc. Los productos alimentarios de este tipo contienen al menos uno de carbohidratos y proteínas no provenientes de lactosuero, tal como caseína, opcionalmente junto con otros componentes alimentarios, tales como grasas, fibras, vitaminas, minerales, y aditivos opcionales tales como aromatizantes, edulcorantes, estabilizadores y similares. Preferiblemente la proporción de peso entre fracción de proteína de lactosuero con lactoferrina y el carbohidrato y/o proteína no proveniente de lactosuero está entre 1:4 y 1:100, más preferiblemente entre 1:9 y 1:49.

Cuando la composición es una composición farmacéutica, puede p. ej. ser una pastilla, gránulo, polvo, jarabe, cápsula, solución, gel, gragea, etc., conteniendo excipientes convencionales, tales como agua, almidón, derivados de almidón (p. ej. glicolato de almidón sódico) o fracciones de almidón, celulosa microcristalina o derivados de celulosa, pectina, otros polisacáridos, lactosa, otros azúcares, etc. Las pastillas, especialmente pastillas masticables, constituyen una forma de realización preferida de la composición farmacéutica de la invención, puesto que se cree que la absorción a través de la mucosa oral evitando el tracto gastro-intestinal supone una ventaja adicional. Una pastilla masticable es preferiblemente blanda y preferiblemente tiene un peso total de al menos 750 mg por unidad. Se prefiere que en las pastillas el contenido de azúcares (reductores) sea relativamente bajo (p. ej. menos del 25% en peso, especialmente menos del 1% en peso de la sustancia seca de pastilla), y que los excipientes sean seleccionados de p. ej. azúcares no reductores, polisacáridos y polialcoholes hasta al menos el 50% en peso, o incluso al menos el 70% en peso de la composición. Las formas de dosificación sólidas pueden también ser revestidas con un revestimiento entérico. Aunque otras vías de administración sistémica pueden ser adecuadas, tal como vía rectal, nasal o parenteral, la vía de administración preferida es la oral.

El nivel de dosificación dependerá de varios factores individuales, tales como edad, condición física y nutritiva, gravedad del acné, que pueden ser evaluados por el técnico o médico y 1,2 g. Para un tratamiento eficaz, se prefieren dosificaciones de fracción de proteína de lactosuero comprendiendo 40 mg o preferiblemente al menos 60 mg o incluso al menos 80 mg, p. ej. entre 40 y 800 mg o hasta 600 mg de lactoferrina por paciente al día. En cuanto a la masa corporal, los niveles de dosificación son generalmente entre 0,1 y 50 mg de lactoferrina por kg al día, preferiblemente entre 0,25 y 25 mg, más preferiblemente entre 0,5 y 15 mg/kg al día, o incluso entre 1 y 10 mg/kg al día.

Las dosificaciones diarias pueden ser administradas en una única unidad de dosificación o, preferiblemente, en dosificaciones múltiples diarias, p. ej. 2-4 veces al día. Así, en caso de que se use una única unidad de dosificación (p. ej. una pastilla) diaria, la unidad de dosificación contendrá 40 mg de lactoferrina por unidad. En caso de dos unidades de dosificación al día, la unidad de dosificación contendrá al menos 10, pero preferiblemente al menos 20 mg e incluso más preferiblemente al menos 30 mg por unidad. Usando dosificaciones diarias más frecuentes, la cantidad de lactoferrina por unidad será asimismo tal que la cantidad total diaria sea de al menos 40 mg, preferiblemente de al menos 80 mg.

El tratamiento puede ser continuado durante un periodo que varíe de varios días hasta varios meses, p. ej. entre 1 semana y 6 meses, o incluso más tiempo si fuera necesario. Los niveles de dosificación pueden ser mantenidos constantes durante el periodo de tratamiento. Alternativa y ventajosamente, el tratamiento puede empezar con dosificaciones relativamente altas, p. ej. entre los niveles indicados arriba y dos veces estos niveles para un primer periodo de p. ej. entre 1 y 6 semanas, seguido de dosificaciones relativamente bajas de p. ej. la mitad de los niveles indicados arriba,

## ES 2 301 152 T3

para un segundo periodo de p. ej. entre 4 semanas y 1 año o incluso más tiempo. El tratamiento puede ser administrado a cualquier sujeto que padezca o sea susceptible de padecer de acné. En casos de acné severo que, sin tratamiento, tiende a aumentar incluso más con el tiempo, el tratamiento puede también ser administrado como un medio para inhibir la ulterior expansión del acné. El tratamiento antiacné puede también ser adecuadamente administrado durante el periodo menstrual.

La invención también se refiere a una composición con lactoferrina, conteniendo además entre el 2 y el 25% en peso - en base a la proteína - de proteínas básicas con un peso molar entre 10 y 60 kD, como se ha descrito anteriormente. La invención además se refiere a una unidad de dosificación oral que contiene 40 mg de lactoferrina o cantidades más altas mencionadas arriba dependiendo del modo de administración (dosificación única o múltiple diaria). La unidad de dosificación puede ser una composición farmacéutica (p. ej. una pastilla) o una composición nutritiva como se ha detallado arriba.

### Ejemplos

#### Ejemplo I

##### *Preparación de fracción de proteína de lactosuero conteniendo lactoferrina*

Se calentó lactosuero de queso Cheddar a 60°C durante 20 segundos, y se concentró 3-5 veces usando ósmosis inversa. La fase de concentración fue hecha a una temperatura máxima de 30°C a pH 6,2. El lactosuero concentrado fue pasado sobre una columna cargada con una resina de intercambio iónico ácida del tipo Amberlite IRC-50. Se cargó la columna con 6-8 volúmenes de lecho por hora, y menos de 20 volúmenes de lecho por ciclo. Bajo estas condiciones, se unen hasta aproximadamente 2 gramos de lactoferrina por litro de resina de intercambio iónico. Posteriormente, la resina fue lavada con al menos 4 volúmenes de lecho de agua, lavado seguido de una solución salina inferior a 0,5 M de NaCl. La fracción deseada fue eluida usando 1 M de NaCl o más. No fue necesario incluir un tampón en el tampón de elución. La fracción eluida fue desalada y concentrada usando ultrafiltración/diafiltración como se conoce en la técnica. Luego, el concentrado fue microfiltrado y secado por pulverización. Se analizó el producto realizando un electroforesis de gel PAGE (20% de acrilamida) y se sometió el gel a transferencia de Western en una membrana PVDF. Posteriormente las bandas más importantes fueron recortadas y sometidas a un método de degradación Edman automatizado secuencial para determinar los primeros 10 aminoácidos del N-terminal del péptido o proteína.

#### Ejemplo II

##### *Pastillas conteniendo la composición obtenida en el ejemplo I*

Los ingredientes siguientes fueron usados para producir pastillas conteniendo 50 mg de lactoferrina

<i>Ingrediente</i>	<i>mg por pastilla</i>
Sorbitol P60W	700
Manitol DS200	200
Primojel (glicolato de almidón sódico; DMV International)	40
Producto del Ejemplo I (79,6 % lactoferrina)	62,8
Acido málico	6
Estearato de Mg (Witco Regular)	5
Sabor de naranja (Natural) Ottens S-627	3,2
Color naranja FD&C amarillo #6, Alum Lake 35-42 %	1,4
<b>Total</b>	<b>1018,4</b>

##### *Preparación de pastillas*

Todo los ingredientes menos el estearato de magnesio fueron mezclados durante 10 minutos. Luego el estearato fue añadido y se continuó la mezcla durante 3 minutos. Se hicieron pastillas masticables de tamaño 5/8 por compresión directa.

## ES 2 301 152 T3

### Ejemplo III

#### *Estudio in vivo del efecto de la fracción de proteína de lactosuero en el control del acné*

5 Cuarenta y cuatro adolescentes participaron en el estudio (23 hombres y 21 mujeres, con una media de edad de 15,3 años (variando de 13 a 19)). Los sujetos tomaron cuatro pastillas masticables conteniendo fracción de proteína de lactosuero bovino conteniendo lactoferrina (preparado según el Ejemplo 1) a 251 mg de fracción de proteína de lactosuero al día (200 mg de lactoferrina al día) durante 12 semanas sucesivas, consumiendo dos pastillas por la mañana y dos por la noche. Los sujetos tenían fotografías de perfil y de frente tomadas y evaluadas por dermatólogos. Se recogieron los datos del sujeto en la semana 1, que ocurrió antes de comenzar el tratamiento, así como en las semanas 2, 4, 8 y 12. El estudio fue realizado durante 12 semanas, las fotografías fueron evaluadas durante la semana 8 y los adolescentes fueron entrevistados en la semana 12. Se contó el número de puntos negros (comedones abiertos) y puntos no negros (incluyendo espinillas (comedones cerrados), pápulas, pústulas y lesiones noduloquísticas) en la frente, mejilla izquierda, mejilla derecha, barbilla y nariz. Se anotó el número de puntos negros y puntos no negros de las regiones faciales para cada sujeto en cada semana. Los resultados son dados en la tabla 1 abajo. Todas estas diferencias secuenciales fueron altamente significantes ( $P < 0,001$  en cualquier caso).

20 En las entrevistas en la semana 12, el 80% de los adolescentes refirieron mejoras, es decir acné reducido, y desearon continuar la terapia. Sobre el 90% de la población de adolescentes de estudio recomendaría la terapia a otros que padezcan de acné. Además, los adolescentes también refirieron efectos adicionales beneficiosos. Se sintieron más saludables y menos enfermos o nada enfermos en absoluto (en comparación con miembros de su familia o amigos que no tomaron lactoferrina).

TABLA 1

<i>Número de puntos negros, puntos no negros (incluyendo espinillas (comedones cerrados), pápulas, pústulas y lesiones noduloquísticas) y total de lesiones (puntos negros + puntos no negros), por semana.</i>					
Resultado	Semana	Media (Desviación típica)	Mínimo	Media	Máximo
Puntos negros	1	56 (72)	0	33	404
	2	25 (43)	0	12	267
	4	18 (32)	0	9	194
	8	4 (7)	0	1	27
Puntos no negros	1	16(18)	0	8	77
	2	8 (8)	0	5	35
	4	5 (5)	0	2	21
	8	1 (3)	0	0	12
Lesiones totales	1	71 (81)	2	44	452
	2	33 (48)	1	18	302
	4	22 (34)	0	11	207
	8	5 (8)	0	1	30

65 Los datos obtenidos del estudio con adolescentes demostraron que la lactoferrina bovina oralmente administrada es capaz de reducir sustantivamente el acné vulgar. Usando modelos de regresión, no se encontró ninguna evidencia de que los cambios con el tiempo estuvieran influidos por el género o la edad. Esto implica que hombres y mujeres seguían modelos longitudinales similares, como lo hicieron sujetos de todo el intervalo de edad de 13 a 19 años. No

## ES 2 301 152 T3

se refirió ningún efecto adverso. La mayoría de la población de estudio refirió efectos beneficiosos de la toma de la fracción de proteína de lactosuero. Notaron acné reducido, se sintieron mejor y más saludables y seguían decididos a continuar la ingesta de pastillas.

5 En conjunto, el resultado del estudio forma una base sólida para situar la ingesta de una composición de lactosuero bioactivo derivado de la leche natural bovina comprendiendo lactoferrina como una estrategia nueva para prevenir y tratar el acné vulgar. A diferencia de las terapias sistémica y tópica actuales (basadas en antibióticos, retinoides y otros compuestos), la complementación con la composición de lactoferrina/lactosuero no está acompañada de efectos secundarios y puede ser usada a largo plazo.

10

### Ejemplo IV

#### *Estudio in vivo de diferentes formas de administración de lactoferrina para el acné*

15

Se prepararon pastillas masticables A y B (conteniendo 6,25 y 25 mg de lactoferrina por pastilla, respectivamente) usando las cantidades dadas en la tabla abajo (cantidades en mg por pastilla). Las pastillas fueron preparadas como se describe en el Ejemplo I.

20

	A (6,25 mg)	B (25 mg)
Sorbitol P60W	756,7	732,4
Manitol SD200	200	200
Glicolato de almidón sódico	40	40
Producto de lactoferrina; 77,2% lactoferrina	8,1	32,4
Acido málico	6,0	6,0
Estearato de magnesio (Witco regular)	5,0	5,0
Sabor de naranja (Natural) (Ottens S-627)	3,2	3,2
Color naranja D&C amarillo #6,	1,4	1,4
Alum Lake 35-42%		
<b>Peso total</b>	<b>1020,4</b>	<b>1020,4</b>

25

30

35

40

45

Una crema tópica C fue obtenida a partir de los ingredientes siguientes (cantidades en g).

Fase 1	C
Emulgente no-iónico Tefosa 63: (Estearato PEG-6, glicolestearato y estearato PEG-32)	200,0
Labrafil M 1944 CS (glicéridos de Oleoil macrogol-6)	30,0
Aceite mineral	30,0
Agua Desionizada (filtrada estéril)	616,9
Ácido fosfórico 80%	1,6
<b>Fase 2</b>	
Lactoferrina (77,2% lactoferrina ); 15% solución en agua	121,5
<b>Peso total</b>	<b>1000,0</b>

50

55

60

65

## ES 2 301 152 T3

La Fase 1 fue mezclada y calentada a 75°C. La mezcla fue luego lentamente enfriada mientras se agitaba. La Fase 2 fue añadida a 50°C. La mezcla resultante fue dividida en tubos de 30 g cada uno, conteniendo 14,2 mg de lactoferrina por g.

5 Se dividió en tres grupos a cuarenta (40) sujetos, edades 12-19, mujeres y hombres, reuniendo el criterio siguiente:

- Acné leve a moderado;
- No tomando actualmente prescripción oral o medicación OTC para el tratamiento del acné;
- 10 - No teniendo una afección con manifestaciones en la piel facial;
- No tratados con antibióticos 1 mes antes del estudio;
- 15 - No embarazadas, dando pecho o intentando quedar embarazada;
- No teniendo una alergia conocida a la leche de vaca o productos lácteos;:

20 Grupo 1 (N=14, 9 hombres; 5 mujeres; media de edad 15,0 años; duración media del acné 3,9 años): Los sujetos recibieron pastillas A con lactoferrina con un consumo recomendado de 2 pastillas por la mañana y 2 por la noche correspondiendo a 25 mg de lactoferrina al día durante 6 semanas.

25 Grupo 2 (N=14, 7 hombres; 7 mujeres; media de edad 15,1 años; duración media del acné 3,8 años ): Los sujetos recibieron pastillas B con lactoferrina con un consumo recomendado de 2 pastillas por la mañana y 2 por la noche correspondiendo a 100 mg de lactoferrina al día durante 6 semanas.

30 Grupo 3 (N=12, 6 hombres; 6 mujeres; media de edad 15,2 años; duración media del acné 3,6 años): Los sujetos recibieron pastillas A con lactoferrina con un consumo recomendado de 2 pastillas por la mañana y 2 por la noche correspondiendo a 25 mg de lactoferrina al día más crema con lactoferrina tópica C para aplicarla tópicamente a 2,45 ml al día.

35 En T=0, se tomaron fotografías de frente y de perfil de los sujetos y fueron puntuadas por dermatólogos independientes, revisando las áreas inflamadas y con lesiones. Los sujetos recibieron las pastillas o pastillas y crema, con instrucciones para el uso, al igual que los cuestionarios para documentar sus experiencias durante el estudio, incluyendo sensaciones de picazón y comezón.

En las semanas 2, 4 y 6 posteriores, los sujetos fueron fotografiados y revisados de nuevo y se recogieron sus cuestionarios completados.

40 Debido a los posibles efectos estacionarios, sólo se pueden evaluar los resultados relativos.

Los resultados son resumidos en las tablas 2 y 3 abajo:

45

TABLA 2

50 *Evaluación total dermatológica de acné (comedones, pápulas, pústulas, nódulos y quistes) después de 2 semanas y evaluación media total (valores medios), y fenómenos no inflamatorios (comedones) después de 6 semanas de tratamiento (valores medios).*

	$\Delta$ 2-0 media total (%)	$\Delta$ 6-0 media no inflam.(%)
55 Grupo 1 (oral 25)	+21	+12
Grupo 2 (oral 100)	-12	-10
60 Grupo 3 (oral 25 + tópica)	+19	+7

65

TABLA 3

<i>Evaluación dermatológica de comedones abiertos, comedones cerrados y puntuaciones subjetivas de picazón después de 6 semanas de tratamiento (valores medios).</i>			
	Cambio en comedones abiertos (%)	Cambio en comedones cerrados (%)	Cambio en picazón (%)
Grupo 1 (oral 25)	+14	-16	+12
Grupo 2 (oral 100)	-36	-37	-10
Grupo 3 (oral 25 + tópica)	+35	-27	+7

Los resultados muestran que el tratamiento oral con 25 mg de lactoferrina al día no proporciona un efecto apreciable total y proporciona un efecto moderadamente favorable en comedones cerrados, sin tener en cuenta los efectos estacionarios. El tratamiento local adicional con 35 mg de lactoferrina al día no mejora el efecto, y puede de hecho ser contraproducente, especialmente en el efecto en comedones abiertos y con picazón. El tratamiento oral con 100 mg de lactoferrina al día, no obstante, tiene un efecto enormemente mejorado, en particular en fenómenos no inflamatorios (comedones abiertos y cerrados).

#### Referencias citadas en la descripción

*Esta lista de referencias citada por el solicitante ha sido recopilada exclusivamente para la información del lector. No forma parte del documento de patente europea. La misma ha sido confeccionada con la mayor diligencia; la OEP sin embargo no asume responsabilidad alguna por eventuales errores u omisiones.*

#### Patentes citadas en la descripción

- US 20040214750 A [0008]
- WO 2005079582 A [0021]
- WO 9844940 A [0009]
- WO 0072874 A [0021]
- JP 7300425 A [0010]
- EP 869134 A1 [0021]
- EP 2004001849 W[0021]

**REIVINDICACIONES**

5 1. Uso de una fracción de proteína de lactosuero comprendiendo lactoferrina para preparar una composición oral para el tratamiento de acné, donde la fracción de proteína de lactosuero es administrada a un nivel de dosificación de entre 40 mg y 2 g de lactoferrina por paciente al día.

2. Uso según la reivindicación 1, donde la fracción de proteína de lactosuero contiene entre el 50 y 98% en peso de lactoferrina.

10 3. Uso según la reivindicación 1 ó 2, donde la fracción de proteína de lactosuero contiene además proteínas o péptidos básicos con un peso molecular entre 10 kD y 60 kD.

15 4. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, donde la fracción de proteína de lactosuero es administrada a un nivel de dosificación de entre 60 y 800 mg de lactoferrina por paciente al día.

5. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, donde la fracción de proteína de lactosuero es administrada como una pastilla.

20 6. Uso según la reivindicación 5, donde la pastilla contiene al menos el 50% en peso de azúcares no reductores, polisacáridos y/o polialcoholes.

7. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, donde la fracción de proteína de lactosuero es administrada como alimento o bebida al menos conteniendo un carbohidrato y/o una proteína no lactosérica.

25 8. Uso según la reivindicación 7, donde la proporción en peso entre la fracción de proteína de lactosuero con lactoferrina y el carbohidrato y/o proteína no lactosérica es entre 1:4 y 1:100.

30 9. Uso según la reivindicación 7, donde la proporción en peso entre la fracción de proteína de lactosuero con lactoferrina y el carbohidrato y/o proteína no lactosérica es entre 1:9 y 1:49.

10. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 7-9, donde la fracción de proteína de lactosuero es administrada como un complemento alimenticio, barra, bebida, yogur, caramelo o chicle.

35

40

45

50

55

60

65