



(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 269 335**

(51) Int. Cl.:

A61K 8/14 (2006.01)

A61K 8/99 (2006.01)

A61Q 17/04 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Número de solicitud europea: **01710026 .4**

(86) Fecha de presentación : **11.05.2001**

(87) Número de publicación de la solicitud: **1153600**

(87) Fecha de publicación de la solicitud: **14.11.2001**

(54)

Título: **Preparado fotoprotector y tratante que contiene enzimas reparadores del ADN.**

(30)

Prioridad: **12.05.2000 DE 100 23 261**
12.05.2000 DE 100 23 257
12.05.2000 DE 100 23 150
12.05.2000 DE 100 23 989
12.05.2000 DE 100 23 262
12.05.2000 DE 100 23 253

(45)

Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.04.2007

(45)

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.04.2007

(73)

Titular/es: **STADA ARZNEIMITTEL AG.**
Stadastrasse 2-18
61118 Bad Vilbel, DE

(72)

Inventor/es: **Hansen, Peter;**
Heppner, Andrea y
Schuman, Christof

(74)

Agente: **Isern Jara, Jorge**

ES 2 269 335 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

Preparado fotoprotector y tratante que contiene enzimas reparadores del ADN.

5 La presente invención se refiere a preparados fotoprotectores y otros productos para el cuidado de la piel expuesta al sol, los cuales contienen enzimas reparadores del ADN.

El efecto nocivo de la fracción ultravioleta de la radiación solar sobre la piel se conoce desde hace tiempo. Para proteger la piel tanto de la radiación UV-A como de la radiación UV-B se han desarrollado numerosas sustancias
10 filtrantes de tipo físico y químico, capaces de atenuar la acción de los rayos solares incidentes.

Las sustancias filtrantes de tipo físico actúan sobre la piel como pequeños espejos que reflejan y dispersan la radiación UV.

15 Mediante los filtros fotoprotectores de tipo químico, la radiación UV que incide sobre la piel se transforma en energía calorífica. Los filtros fotoprotectores químicos pueden tener características tanto lipófilas como hidrófilas y, atendiendo a estas propiedades, se distingue entre filtros liposolubles e hidrosolubles. Dado que la piel humana posee tanto zonas lipófilas como hidrófilas, para que la acción de un protector solar cubra la mayor superficie posible es ventajoso que contenga tanto sustancias filtrantes liposolubles como hidrosolubles.

20 Las sustancias filtrantes físicas y químicas solo sirven para reflejar o absorber la radiación solar del modo más completo posible, pero en suficiente medida para cada caso, a fin de evitar que se dañe la piel. Aunque esta finalidad se alcanza en gran medida con los actuales productos comerciales correctamente aplicados, durante su empleo no puede excluirse que la piel reciba radiación UV y cause lesiones cutáneas. Estos daños pueden consistir en una leve irritación cutánea, p.ej. un ligero eritema solar, pero también pueden manifestarse como lesiones celulares. Es sabido que, sobre
25 todo, la radiación UV-B provoca daños en el ADN que pueden producir mutaciones celulares e inmunosupresión en la piel y, por lo tanto, cáncer cutáneo. Los daños al ADN en la piel humana se reparan mediante una compleja acción conjunta de varios enzimas. Como este proceso no requiere ninguna luz, también se denomina "dark-repair" (reparación en la oscuridad). En algunas algas, animales marsupiales y en una especie de armadillo se ha descubierto
30 hace poco un sistema de reparación de daños celulares, que funciona bajo la acción de la luz y con intervención de diversos enzimas.

De las patentes US 5 296 231, 5 190 762 y 5 272 079, así como de la patente EP 0 423 214 (correspondiente a la patente DE 689 17 729) se conocen métodos para aislar enzimas reparadores de ADN. Como las lesiones cutáneas
35 causadas por la luz UV aparecen en la epidermis, cerca de la capa inferior de células basales, es ventajoso incorporar los enzimas reparadores de ADN a un vehículo que pueda transportarlos hacia el verdadero punto acción, atravesando las capas de la piel situadas sobre la capa de células basales (estrato córneo, estrato lúcido, estrato granuloso y estrato espinoso). En el estado técnico arriba mencionado, como vehículo especialmente apropiado se describen preparados liposomales, en los cuales los enzimas reparadores de ADN están incluidos en liposomas. Los liposomas conocidos de
40 uso corriente en el sector cosmético y farmacéutico no son adecuados para la administración de enzimas reparadores de ADN. En cambio se logra una óptima penetración de los liposomas a través de las capas cutáneas y una óptima eficacia de los enzimas cuando los liposomas están constituidos por fosfolípidos puros. Este tipo de liposomas que contienen enzimas reparadores de ADN los comercializa la firma AGI DERMATICS, por ejemplo bajo la marca "Photosomen®". En el caso de dicho producto se trata de liposomas como los descritos anteriormente, que llevan incluido un extracto
45 del organismo marino *Anacystis nidulans*, el cual presenta un alto contenido del enzima reparador de ADN fotoliasa.

La estructura y forma de actuación del enzima fotoliasa son conocidas. Al irradiar la piel humana con rayos UVB, en los núcleos celulares se forman dímeros de ciclobutanpirimidina (CPDs), principales fotoproductos de ADN, acompañados de una serie de efectos inmunosupresivos, p.ej. la supresión de una respuesta inmune celular, como por
50 ejemplo un eccema de contacto alérgico o la inhibición de la molécula inmunológica clave ICAM-1. Mediante los cofactores FADH y MTHF contenidos en el enzima fotoliasa, los dímeros de ciclobutanpirimidina se disocian por acción de la energía lumínica y el ADN recupera su estado inicial.

Como muchos enzimas reparadores de ADN, y especialmente la fotoliasa, producen su efecto bajo la acción de la luz, en principio sería deseable incorporarlos a formulaciones fotoprotectoras o a otros productos para el cuidado de
55 la piel expuesta al sol, con el fin de lograr una pronta reparación del ADN. Como se ha observado que los preparados liposomales de enzimas reparadores de ADN penetran bien en la piel, sería deseable incorporar a dichos preparados los liposomas comercialmente disponibles que llevan enzimas reparadores de ADN. Pero por parte del fabricante de estos preparados liposomales se indica explícitamente que presentan varias incompatibilidades. Así, según el prospecto de
60 un producto, no deben exponerse a las siguientes condiciones y sustancias:

- a disolventes orgánicos o alcohol
- a una base oleosa
- a glicerina 5% o etilenglicol
- a tensoactivos o emulsionantes por encima de su concentración crítica de formación de micelas

- a temperaturas superiores a 25°C
- a valores de pH menores de 6,0 o mayores de 8,0
- 5 - a presión osmótica diferente de la fisiológica y a procesos que formen espuma.

El hecho de que los liposomas conocidos no sean adecuados para la administración eficaz de enzimas reparadores de ADN y las incompatibilidades de los liposomas desarrollados con tal fin parecían descartar la incorporación de los liposomas que llevan enzimas reparadores de ADN a las formulaciones fotoprotectoras o tratantes, pues éstas
10 suelen basarse en emulsiones del tipo aceite-en-agua o agua-en-aceite y además contienen frecuentemente alcohol y/o tensioactivos o emulsionantes. Otra desventaja de los preparados liposomales conocidos es que deben presentar un alto contenido de liposomas con enzima reparador de ADN, como mínimo del 1%.

Según el prospecto del producto, los liposomas que contienen enzimas reparadores de ADN deben incorporarse
15 a los preparados cosméticos en cantidades de al menos 1% en peso. Las composiciones conocidas del estado técnico que contienen enzima reparador de ADN también tienen un contenido de liposomas de al menos 1% en peso. Stege y otros (PNAS, 15 febrero 2005, vol. 97, nº 4, páginas 1790-1795) describen una loción con 1% en peso de liposomas que contienen fotoliasa - para la aplicación tópica sobre piel irritada por UV-B - en la cual los liposomas que contienen la fotoliasa se incorporaron a un hidrogel del 1%, sin adición de un protector solar.

20 El objeto de la presente invención consiste en indicar preparados cosméticos estables al almacenaje con un contenido menor, pero aceptablemente efectivo, de liposomas que lleven enzima reparador de ADN.

Este objetivo se resuelve con el preparado definido en la reivindicación principal.

25 Las reivindicaciones subsiguientes definen unas formas de ejecución ventajosas de la presente invención.

En las investigaciones que sirven de base a la presente solicitud de patente se encontró de manera sorprendente que, contrariamente a las informaciones explícitas del fabricante, los liposomas conocidos y disponibles en el comercio
30 con un contenido de enzimas reparadores de ADN pueden incorporarse a formulaciones basadas, según el caso, en una emulsión alcohólica de aceite-en-agua (O/W) o agua-en-aceite (W/O), o en un hidrogel alcohólico, sin que los liposomas se descompongan.

Asimismo, en ensayos realizados *in-vitro* e *in-vivo* por la solicitante se ha demostrado que las composiciones objeto
35 de registro aún muestran actividad enzimática, cuando su contenido de liposomas con enzima reparador es del 0,1 al 0,75% en peso.

Las composiciones según la presente invención se pueden formular, dado el caso, como emulsión alcohólica O/W o W/O, como gel hidrodisperso o bien, dado el caso, como gel hidrodisperso alcohólico.

40 Las emulsiones O/W o W/O comprenden fundamentalmente una fase oleosa, agua y enzima reparador de ADN, o liposomas que lo contengan, y, según el caso, alcohol. La fase oleosa puede estar formada por grasas, aceites, ceras disueltas o bien otros componentes lipófilos. Como aceites pueden llevar ventajosamente aceite de parafina, triglicéridos de cadena media, por ejemplo el Myritol 318, octildodecanol, miristato de isopropilo, aceite de jojoba,
45 aceite de coco o aceite de ricino. La fase acuosa de las emulsiones de la presente invención suele estar formada por agua, mezclada según el caso con alcohol desnaturalizado.

Los geles hidrodispersos de la presente invención comprenden básicamente una fase oleosa, un espesante adecuado, agua y un contenido efectivo de enzima reparador de ADN, o de liposomas que lo contengan. A su vez, la fase
50 oleosa puede estar formada por grasas, aceites, ceras disueltas u otros componentes lipófilos, pudiendo contener como aceites los ya mencionados arriba en relación con las emulsiones.

Los hidrogeles según la presente invención, además del enzima reparador de ADN o de los liposomas que lo contengan, comprenden básicamente agua, un espesante adecuado y, dado el caso, alcohol. Como espesantes para los
55 geles hidrodispersos e hidrogeles de la presente invención entran en consideración normalmente todos los empleados de modo usual, pero con preferencia derivados de poli(ácido acrílico), como por ejemplo poliacrilatos del grupo de los denominados Carbopoles, copolímeros del ácido acrílico, como por ejemplo Pemulen TR1, o xantano. El contenido de espesante en los geles de la presente invención es de 0,05 hasta 20% en peso, con preferencia de 0,1 hasta 3% en peso y sobre todo de 0,5 hasta 1% en peso.

60 Como liposomas con enzima reparador de ADN los preparados de la presente invención contienen preferentemente los que vende la firma AGI DERMATICS, sobre todo los comercializados con la marca "Photosomen®". La nomenclatura INCI de los "Photosomen®" reza: "extracto de plancton y lecitina". El contenido de liposomas que llevan enzimas puede ser del 0,05 hasta el 0,75% en peso, referido al total de la composición. Según una forma de ejecución
65 preferida, los liposomas que llevan los enzimas están contenidos en una concentración del 0,2 hasta el 0,75% en peso, sobre todo en concentraciones comprendidas entre 0,25 y 0,5% en peso.

Asimismo, las composiciones según la presente invención pueden llevar, al menos, un emulsionante adecuado. Sorprendentemente se encontró que los liposomas con enzima reparador de ADN también pueden formularse de manera que sean estables, cuando el contenido de emulsionante en los preparados de la presente invención es superior a la concentración crítica de formación de micelas. En la presente invención se usan preferentemente como emulsio-
 5 nantes sistemas emulgentes compatibles con la piel, a base de tensioactivos de azúcar, como p.ej. el poligliceril-3-metilglucosa-diestearato, que se comercializa con la marca “Tego Care”.

Con especial preferencia, los preparados de la presente invención también contienen al menos un filtro fotoprotector. Puede tratarse de filtros UV liposolubles o hidrosolubles, de filtros fotoprotectores de tipo físico, o de combina-
 10 ciones de los mismos. Como filtros UV liposolubles adecuados cabe mencionar:

- ésteres del ácido cinámico, por ejemplo p-metoxycinamato de isoamilo (Neo Heliopan 1000) o metoxycinamato de octilo (Neo Heliopan AV);
- 15 - ácidos p-aminobenzoicos, sus ésteres y derivados, por ejemplo p-dimetilaminobenzoato de 2-etilhexilo (Escalol 507);
- benzofenonas, por ejemplo benzofenona-3 (Neo Heliopan BB);
- 20 - derivados de bencilidenalcanfor, por ejemplo 4-metilbencilidenalcanfor (Eusolex 6300);
- dibenzoímetanos, por ejemplo butilmetoxidibenzoímetano (Parsol 1789);
- octiltriazona (Uvinul T 150) y
- 25 - octocrileno (Neo Heliopan 303).

El contenido de dichos filtros UV liposolubles en los preparados de la presente invención puede estar comprendido entre 1 y 10% en peso. Como filtros UV hidrosolubles adecuados cabe mencionar el ácido 2-fenilbencimidazol-5-sulfónico (Neo Heliopan Hydro) y sus sales, y también benzofenonas como por ejemplo la benzofenona-4 (Uvinul MS 40). El contenido de estas sustancias filtrantes en los preparados de la presente invención puede ser del 1 hasta el 10% en peso.

Además de dichas sustancias filtrantes de tipo químico, los preparados de la presente invención también pueden llevar filtros fotoprotectores de tipo físico en cantidades del 1 hasta el 10% en peso, como por ejemplo dióxido de titanio u óxido de cinc. En tal caso es especialmente conveniente que los filtros fotoprotectores de tipo físico se hallen en forma hidrófoba, es decir que su superficie repela el agua, lo cual puede conseguirse recubriendo las partículas de pigmento con una capa superficial hidrófoba de silicona. Dichos tipos de pigmentos pueden adquirirse comercialmente, por ejemplo de la firma Tayca, con la marca MT 100 T.

Los siguientes ejemplos de recetas ilustran la presente invención. En ellos, los ingredientes llevan la denominación correspondiente a la nomenclatura de la INCI.

Ejemplo 1

45 *Detección de la actividad de la fotoliasa in-vitro e in-vivo*

Para los ensayos *in-vitro* se usó un sistema fotoinmunológico “Read-Out” establecido en trabajos preliminares, en el cual la formación de CPDs en el ADN de células de piel humana (fibroblastos) o de células con presencia de antígenos inhibe la expresión de la molécula inmunológica clave ICAM-1. Pero, si las células irradiadas con UV-B se tratan con fotosomas después de la radiación, la inhibición de la expresión de la ICAM-1 se puede evitar mediante la reparación de las CPDs que produce dicho tratamiento. Por lo tanto, la evitación de este efecto inmunosupresor inducido por UV-B es una medida de la actividad de los fotosomas que se hallan en una preparación determinada. Además en los ensayos *in-vitro* primero se determinó mediante unas series de diluciones si las preparaciones tenían un efecto citotóxico y en qué concentración.

La actividad *in-vivo* se detectó de manera análoga. Para ello también se usó como sistema de medición fotoinmunológico la inhibición de la expresión de la ICAM-1 en la piel humana irradiada con UV-B, que resulta de la generación de CPDs en el ADN de los queratinocitos. Las preparaciones de fotosomas ensayadas se aplicaron tópicamente sobre zonas de piel irradiadas y su capacidad de evitar la inhibición de la expresión de la ICAM-1 se adoptó como medida de la actividad de fotoliasa contenida en dichos preparados.

Los ensayos *in-vitro* e *in-vivo* se efectuaron con preparados de la siguiente composición:

65

ES 2 269 335 T3

Ingrediente	Contenido (% en peso)
Pemulen TR1	0,5
NaOH	0,19
EDTA sódico	0,1
Pantenol	1,0
Glicina	1,0
Fenoxietanol	1,0
Tocoferol	0,2
Fotosoma	variable
Agua	hasta 100

El contenido de fotosomas (fotoliasa incluida en liposomas) fue de 0,1, 0,25, 0,5% en peso.

Las soluciones así preparadas - con unos contenidos de fotosomas del 0,1, 0,25 y 0,5% en peso - se sometieron a los ensayos *in-vitro* e *in-vivo* arriba descritos y se determinó su actividad de fotoliasa. Como patrón se usó un preparado con un contenido de fotosomas del 1% en peso. En las tres composiciones ensayadas, tanto *in-vivo* como *in-vitro*, se detectó una actividad de fotoliasa de casi el 100%.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Preparado fotoprotector estable que incluye un contenido de enzima reparador de ADN del 0,05 hasta el 0,75% en peso.
2. Preparado según la reivindicación 1, **caracterizado** porque el enzima reparador es fotoliasa.
3. Preparado según la reivindicación 1, **caracterizado** porque el enzima reparador es endonucleasa.
- 10 4. Preparado según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado** porque está formulado como gel hidrodisperso o como hidrogel.
- 15 5. Preparado según una de las reivindicaciones 1 hasta 3, **caracterizado** porque incluye un soporte basado según el caso en una emulsión alcohólica del tipo aceite-en-agua o agua-en-aceite y además, como mínimo, un emulsionante.
6. Preparado según la reivindicación 5, **caracterizado** porque el contenido de emulsionante es superior a su concentración crítica de formación de micelas.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65