



(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 320 685**

(51) Int. Cl.:
A61K 35/74 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Número de solicitud europea: **05778952 .1**
(96) Fecha de presentación : **28.07.2005**
(97) Número de publicación de la solicitud: **1778258**
(97) Fecha de publicación de la solicitud: **02.05.2007**

(54) Título: **Uso de bacterias probióticas para la preparación de composiciones tópicas para la protección de la piel.**

(30) Prioridad: **29.07.2004 IT MI04A1550**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
27.05.2009

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
27.05.2009

(73) Titular/es: **Proge Farm S.R.L.**
Largo Donegani, 4/A
28100 Novara, IT

(72) Inventor/es: **Dondi, Giancarla y**
Malfa, Patrizia

(74) Agente: **Torner Lasalle, Elisabet**

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 de bacterias probióticas para la preparación de composiciones tópicas para la protección de la piel.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere al uso de ciertas bacterias probióticas en la protección de la piel. Más particularmente, el objeto de la invención es el uso de ciertas bacterias probióticas en la preparación de composiciones tópicas para el tratamiento de las enfermedades de la piel producidas por patógenos, especialmente enfermedades de tipo dermatitis o infecciones recidivantes.

El tratamiento de las enfermedades cutáneas producidas por la proliferación de patógenos se lleva a cabo de manera convencional con medicamentos antimicrobianos, concretamente con moléculas farmacéuticas con acción antibiótica y/o antimicótica.

15 **Antecedentes de la invención**

Sin embargo, se ha demostrado que algunas condiciones particulares, tales como el tratamiento prolongado con medicamentos antimicrobianos, el uso inimaginable de agentes agresivos, tales como detergentes, la sudoración excesiva o también condiciones ambientales tales como calor y alta humedad que aumentan la sudoración de la persona, pueden conducir a desequilibrios que fomentan la proliferación de patógenos oportunistas.

A pesar de los problemas mencionados anteriormente, en los últimos años, la mayor parte de los esfuerzos científicos se ha dirigido a la búsqueda de nuevas moléculas antibióticas y/o antimicóticas cada vez más eficaces.

Las investigaciones han conducido a una mejora del tratamiento de las infecciones agudas, pero potenciaron un problema muy grave y todavía sin resolver, concretamente que se produzca resistencia a los antibióticos con la consecuente reaparición del acontecimiento infeccioso (Elmer G.W. *et al.*, JAMA, 275: 870-876, 1996). Se han dado a conocer estos fenómenos particularmente en las infecciones del aparato genitourinario femenino (Sparks J.M., J. Reprod. Med., 36: 745-752, 1991) y en la piel.

Entre las diversas enfermedades infecciosas de la piel que muestran que se producen recidivas, la pitiriasis versicolor es una infección muy frecuente.

Esta infección, producida por el hongo *Malassezia furfur*, muy difundido entre la población más joven, no es una patología grave, pero sí muy molesta y generalmente muestra una reaparición cíclica.

Algunos estudios también muestran que la levadura *M. furfur* desempeña un importante papel en la dermatitis seborreica (Bergbrant I.M. e Faergemann J., Mycoses, 37(5-6): 217-219, 1994) y en la dermatitis atópica (Broberg A. e Faergemann J., Acta Derm Venereol., 75(1):46-49, 1995). El mecanismo de acción de la levadura en estas patologías aún no se ha aclarado, pero parece haber una relación con la reducción de la función linfocítica (Faergemann J., Mycoses, 40 (supl.1): 29-32, 1997).

Actualmente, no existen estudios ni *in vitro* ni *in vivo* que demuestren la eficacia de bacterias probióticas a nivel cutáneo y además sigue habiendo muchas incertidumbres sobre la composición y la organización del ecosistema microbiano.

Por ejemplo, Ouwehand A.C. *et al.* (Letters in Applied Microbiology, 2003, 36:327-331) han publicado recientemente un estudio llevado a cabo con diferentes bacterias probióticas con el objetivo de determinar sus posibles beneficios en la piel. Los autores han estimado la capacidad de algunos probióticos de inhibir el crecimiento bacteriano *in vitro* de diversos patógenos y de modificar su adhesión sobre la queratina inmovilizada. Aunque se haya observado una inhibición *in vitro* suficiente de los patógenos mediante los probióticos usados, los decepcionantes resultados del ensayo con la queratina han llevado a los autores a la conclusión de que dichos probióticos no pueden impedir la adhesión de dichos patógenos (página 331, primera columna, primer párrafo).

55 **Sumario de la invención**

En contra de estas enseñanzas, se descubrió sorprendentemente que, cuando se aplican sobre la piel, ciertas bacterias probióticas producen un efecto beneficioso, luchando contra la infección por los patógenos.

Un objeto de la presente invención es proporcionar un nuevo tratamiento para las afecciones de la piel producidas por patógenos que no presente los inconvenientes de la técnica anterior.

Más particularmente, un objeto de la invención es proporcionar un tratamiento para las infecciones de la piel que es eficaz sin riesgos para el paciente y que reduce el que se produzcan recidivas.

De hecho, se descubrió sorprendentemente que es posible tratar enfermedades microbianas de la piel con ciertas bacterias probióticas, obteniendo además de la resolución del acontecimiento infeccioso, también la reducción del riesgo de que se produzcan recidivas.

Descripción detallada de la invención

Por tanto, según uno de sus aspectos, el objeto de la presente invención es el uso de bacterias probióticas específicas para la preparación de una composición tópica para la protección de la piel frente a las enfermedades microbianas, en particular para prevenir y/o tratar las enfermedades microbianas de la piel.

Según otro de sus aspectos, el objeto de la invención es el uso de bacterias probióticas específicas para la preparación de una composición tópica para prevenir y/o tratar la pitiriasis versicolor.

Según un aspecto adicional, el objeto de la invención es el uso de bacterias probióticas específicas para la preparación de una composición tópica para prevenir y/o tratar la dermatitis, en particular la dermatitis atópica.

Según otro de sus aspectos, el objeto de la invención es el uso de bacterias probióticas específicas para prevenir y/o tratar la caspa.

Tal como se menciona en el presente documento, la expresión “bacterias probióticas” (o también sólo “probióticos”) indica bacterias que pueden tener un efecto beneficioso sobre el organismo del huésped si se toman en las cantidades debidas (Guarner F., Schaafsma G.J., Int. J. Food Microbiol. 39:237-238, 1998). Entre las bacterias probióticas, aquellas según la invención son las que pertenecen al género *Lactobacillus* y, en particular, *L. plantarum* BCCM-LMG P 17630 comercializada con la marca comercial Bactocin® y las descritas en la solicitud de patente EP 0 949 330 a nombre del mismo solicitante, concretamente *L. gasseri* BCCM-LMG P18137, *L. gasseri* BCCM-LMG P17632 y *L. crispatus* BCCM-LMG P 17631.

Se ha demostrado que, en particular, *L. crispatus* P17631 es sumamente eficaz en el tratamiento y en la prevención de la pitiriasis versicolor, también de la dermatitis atópica y su uso en la preparación de productos destinados para tales patologías representa un aspecto preferido de la presente invención.

Según una realización preferida, las bacterias probióticas se usan según la invención en forma liofilizada. La liofilización puede llevarse a cabo según cualquier método apropiado, bien conocido por los expertos en la técnica, opcionalmente usando excipientes usados de manera convencional.

Las bacterias probióticas según la invención pueden incluirse en composiciones farmacéuticas o cosméticas para uso tópico o bien listas para su uso o bien para formulaciones extemporáneas.

Pueden añadirse posibles estabilizadores y aditivos comunes a dichas composiciones o a las bacterias probióticas durante la fase de liofilización.

Por tanto, según otro de sus aspectos, el objeto de la invención es el uso de dichas bacterias probióticas en forma liofilizada para la preparación de composiciones tópicas para la prevención y/o el tratamiento de las enfermedades microbianas de la piel.

Por ejemplo, si se desea o es necesario, en el caso del tratamiento de la caspa, las bacterias probióticas según la invención pueden usarse en forma de polvo liofilizado sin fabricarse ni incluirse adicionalmente en formulaciones particulares.

Según una realización, el objeto de la invención es el uso de *L. crispatus* P17631, ventajosamente en forma liofilizada, para la preparación de un medicamento para prevenir y/o tratar las infecciones producidas por la pitiriasis versicolor.

Preferiblemente, las bacterias probióticas están en forma liofilizada y están contenidas en composiciones farmacéuticas para uso tópico, opcionalmente en presencia de estabilizadores y excipientes convencionales.

Las composiciones tópicas que comprenden dichas bacterias probióticas son un objeto adicional de la invención.

Tales composiciones pueden ser medicamentos o productos cosméticos y pueden prepararse según los métodos conocidos en la técnica y pueden estar en una forma unitaria de dosificación o una forma de dosificación múltiple.

Para fines ilustrativos, las composiciones de la invención pueden prepararse en forma de gel, cremas, emulsiones, pomadas, espumas, polvos, disoluciones o suspensiones acuosas, disoluciones o suspensiones en aceite o también disoluciones o suspensiones bifásicas, que han de agitarse antes de su uso.

Las composiciones pueden contener entre 10^3 y 10^{12} , ventajosamente entre 10^5 y 10^{10} , por ejemplo entre 10^6 y 10^8 UFC (unidades formadoras de colonias) por gramo de composición.

Podrían administrarse tales composiciones en cantidades apropiadas a la extensión de la zona que ha de tratarse, preferiblemente una o más veces al día.

El tratamiento se extiende preferiblemente durante al menos 7-10 días, sin embargo, tratamientos más cortos también pueden proporcionar resultados interesantes. Además, considerando la ausencia de toxicidad de las composiciones de la invención, si se desea o es necesario, obviamente pueden preverse tratamientos más largos.

También se ha observado que en algunos casos es aconsejable llevar a cabo un tratamiento “preventivo” en periodos particulares del año, especialmente los denominados “cambios de estación”, concretamente en primavera y otoño.

El uso de las bacterias probióticas según la invención también puede llevarse a cabo en relación con un tratamiento antimicrobiano inicial convencional, con el fin de acelerar la desaparición de la sintomatología (efecto rápido del antimicrobiano) y por consiguiente limitar las posibilidades de recidivas (efecto de larga duración de las bacterias probióticas).

Para el uso según la invención, pueden usarse indistintamente una única bacteria probiótica o mezclas de bacterias probióticas. Según otro aspecto, la invención se refiere a un uso para el tratamiento de las enfermedades de la piel tal como se describió anteriormente que comprende la administración tópica de una dosis eficaz de al menos una de dichas bacterias probióticas.

Tal como se describió previamente, los tipos de las preparaciones dermatológicas que mantienen una vitalidad satisfactoria de los probióticos deben contener un poco de agua y deben ser lipófilas como, por ejemplo, las siguientes:

- formulaciones en las que el medio está formado por una fase lipófila de fluido (aceite) en asociación con un coloide sólido, con el fin de formar un sistema con una consistencia semisólida
- formulaciones formadas por una sustancia lipófila en asociación con detergentes;
- formulaciones formadas por una sustancia lipófila a la que se le añaden diferentes polímeros de síntesis que pueden formar un sistema semisólido con características de viscosidad y flexibilidad adaptadas para el uso tópico (gel lipófilo).

Según una realización, se ha demostrado que un sistema líquido bifásico (emulsiones, nanoemulsiones, micro-emulsiones) tal como aceite en agua (O/A) proporciona buenos resultados en la supervivencia de los probióticos, especialmente si las dos fases se mezclan justo antes de su uso (formulaciones extemporáneas). En este caso, la fase lipófila y la hidrófila están contenidas en dos recipientes separados que, mediante su apertura antes de su uso, permiten el mezclado de las dos fases que da como resultado una mezcla (comprimible) que ha de combinarse, por ejemplo, sobre la palma de la mano antes de la administración tópica.

Se proporcionan los siguientes ejemplos de manera ilustrativa pero no limitativa.

Ejemplo 1

Formulación de una pomada convencional que comprende al menos

Lactobacillus liofilizados

Aceite de vaselina

Aceite mineral

Mezcla de ácidos grasos con polietilenglicol

Ejemplo 2

Formulación de una espuma convencional que comprende al menos

Lactobacillus liofilizados

Aceite de vaselina

Tensioactivos (por ejemplo, ésteres de sorbitano)

Ejemplo 3

Formulación de un gel convencional que comprende al meno

Lactobacillus liofilizados

Mezcla de polímeros de estireno

Aceite mineral

Sílice coloidal

Obviamente, pueden añadirse otros componentes y excipientes a las formulaciones descritas anteriormente según las técnicas bien conocidas por los expertos en la técnica (por ejemplo, aceite de jojoba, extractos naturales, extractos vegetales, etc.).

Se ha demostrado la actividad de las bacterias probióticas según la invención con estudios *in vitro* e *in vivo*.

Ensayo in vitro

Se han llevado a cabo ensayos *in vitro* con el fin de estimar la actividad antimicótica de las bacterias probióticas hacia el crecimiento del patógeno *M. furfur* cambiando las condiciones de desarrollo de tal manera que fueran óptimas para ambos microorganismos (anaerobiosis + aerobiosis). Tales condiciones no corresponden a las condiciones de crecimiento de la mayor parte de las bacterias probióticas, por ejemplo los *Lactobacillus* que prefieren entornos anaerobios, pero no obstante, de manera sorprendente, los resultados de los ensayos *in vivo* han demostrado que tales bacterias probióticas tienen, en cualquier caso, el efecto terapéutico (o cosmético) deseado.

La prueba *in vitro* usada es la “prueba de la mancha en agar” descrita en muchos artículos, entre los cuales el de Jacobsen C.N. ET de (Appl. and Envir. Microb. 65: 4949-4956, 1999) y de Ouwehand A.C. ET de (Letters in Applied Microbiology, 2003, 36:327-331).

Se pusieron las manchas de lactobacilos que iban a evaluarse para determinar su actividad antimicótica en placas de Petri que contenían 15 mililitros de agar MRS, con 10 μ l del cultivo que se hizo crecer durante una noche a 37°C. Se incubaron las placas secadas, que se dejaron secar durante aproximadamente 15 minutos, a 37°C durante una noche en condiciones anaerobias.

El día después, tras haber inspeccionado el crecimiento de las manchas, se sometieron a aceleración sobre cada placa 2,5 ml de medio de agar blando mYPG, composición que se cita en la tabla, y se añadieron 500 μ l de cultivo de *Malassezia furfur*.

TABLA

Composición del medio de agar blando mYPG

Extracto de malta	5 g
Peptona	10 g
Glucosa	20 g
Tween 40	1 g
Tween 80	1 g
Agar	4,5 g
Agua destilada	1000 ml

Se han incubado las placas a 37°C en condiciones aerobias durante 24-48 horas, hasta que fue visible el crecimiento de la pátina del patógeno.

Se observaron halos de inhibición, más o menos grandes, cerca de las manchas, donde se ha sembrado la muestra de *Lactobacillus*, cuánto mayor es el diámetro de los halos, más importante es la actividad antimicótica.

Ensayo in vivo

Se han llevado a cabo pruebas *in vivo* con voluntarios que cada año mostraban recidivas de pitiriasis versicolor.

ES 2 320 685 T3

Los pacientes, cada año, mostraban pequeñas manchas blancas en la espalda y los brazos, debido a la destrucción de los melanocitos.

5 Se ha realizado el tratamiento aplicando el liofilizado de *L. crispatus* suspendido de manera extemporánea en una mezcla oleosa.

Los resultados de este ensayo han sido sorprendentes, debido a que con sólo una poca administración de *L. crispatus* se ha provocado la desaparición de las manchas típicas de la micosis.

10 Ha sido posible observar que cuando no se aplicó la suspensión de *L. crispatus* las lesiones estaban todavía presentes, además, después de un año, no reaparecieron las manchas en las zonas tratadas.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Uso de al menos una bacteria probiótica seleccionada de *L. plantarum*, P17630, *L. crispatus* P17631, *L. gasseri* P17632, *L. gasseri* P18137 y sus mezclas para la preparación de una composición tópica para prevenir y/o tratar enfermedades de la piel.

2. Uso según la reivindicación 1, para la preparación de una composición tópica para prevenir y/o tratar afecciones microbianas de la piel.

3. Uso según la reivindicación 1, para la preparación de una composición tópica para prevenir y/o tratar la dermatitis atópica.

4. Uso según la reivindicación 2, para la preparación de una composición tópica para prevenir y/o tratar la pitiriasis versicolor.

5. Uso según la reivindicación 1, para prevenir y/o tratar la caspa.

6. Uso según las reivindicaciones 1 a 5, en el que dicha bacteria probiótica es *L. crispatus* P17631.

7. Composición tópica para su uso en prevenir y/o tratar enfermedades de la piel, que comprende al menos una bacteria probiótica seleccionada de *L. plantarum*, P17630, *L. crispatus* P17631, *L. gasseri* P17632, *L. gasseri* P18137 y sus mezclas.

8. Composición según la reivindicación 7, que comprende desde 10^3 hasta 10^{12} UFC de bacterias probióticas por gramo de composición.

9. Composición según la reivindicación 8, que comprende desde 10^6 hasta 10^8 UFC de bacterias probióticas por gramo de composición.

10. Composición según las reivindicaciones 7 a 9, en forma de gel, crema, emulsión, pomada, espuma, polvo, disolución o suspensión acuosa, disolución o suspensión en aceite o disolución o suspensión bifásica.

11. Composición según las reivindicaciones 7 a 10, como forma unitaria de dosificación única o como forma unitaria de dosificación múltiple.

12. Composición según las reivindicaciones 7 a 11, que es un medicamento o un cosmético.

13. Composición según las reivindicaciones 7 a 12, en la que dicha al menos una bacteria probiótica es *L. crispatus* P17631.

14. Composición según las reivindicaciones 7 a 12, en la que dicha al menos una bacteria probiótica es *L. plantarum*, P17630.