



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 322 851**

51 Int. Cl.:  
**A61Q 19/00** (2006.01)  
**A61K 8/97** (2006.01)  
**A61K 8/67** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04255470 .9**  
96 Fecha de presentación : **09.09.2004**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1514536**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **16.03.2005**

54 Título: **Uso de composiciones tópicas.**

30 Prioridad: **10.09.2003 US 659598**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**30.06.2009**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**30.06.2009**

73 Titular/es: **JOHNSON & JOHNSON CONSUMER  
COMPANIES, Inc.**  
**Grandview Road**  
**Skillman, New Jersey 08558, US**

72 Inventor/es: **Seiberg, Miri;**  
**Liu, Jue-Chen y**  
**Iotsova, Violetta**

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 322 851 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 de composiciones tópicas.

### 5 1. Campo de la invención

La presente invención se refiere al tratamiento tópico para acné, arrugas, rosácea o daño fotoinducido con reducción del eritema inducido por retinoides.

### 10 2. Antecedentes de la invención

El acné es un trastorno dermatológico inflamatorio, que aparece con frecuencia en la adolescencia y con alguna regularidad en adultos de la especie humana. La afección del acné puede incluir lesiones cutáneas que varían desde el comedón en un folículo pilosebáceo hasta síntomas de tipo inflamatorio más graves tales como pústulas, pápulas, quistes y nódulos. La afección no es sólo molesta para la víctima, sino también vergonzante y puede producir desfiguración y cicatrices.

Se considera que la patología del acné vulgaris involucra varios factores: el primero de los cuales es la formación de comedones más comúnmente denominados puntos blancos (comedones cerrados) y puntos negros (comedones abiertos). Estos son masas córneas sólidas que obstruyen los folículos y están asociadas con el aumento de la producción de sebo. Se componen de células queratinizadas y sebo empaquetados estrechamente. A medida que el comedón se agranda a través de la acumulación continua de células queratinizadas, la presión aumenta dentro de los folículos que finalmente se rompen y vierten su contenido, que consiste en material córneo, sebo y bacterias, en la piel. Esto provoca respuestas inflamatorias que adoptan la forma de pústulas (granos) cuando la ruptura es pequeña y nódulos quísticos con ruptura completa.

En el pasado se han intentado muchos métodos diferentes para mejorar este trastorno, con algunos tratamientos más efectivos que otros. Se han empleado enfoques que varían del lavado y limpieza simples a los agentes farmacéuticos. Un grupo de agentes usados en el tratamiento del acné incluyen retinoides y retinoles. Aunque estos agentes pueden mejorar significativamente el acné, sus efectos secundarios no deseables varían de irritación leve a grave, enrojecimiento, exfoliación y sensación de picazón y ardor. En consecuencia, se desea tener un tratamiento tópico único que pueda evitar o revertir el acné con efectos secundarios no deseados mínimos o nulos.

El envejecimiento de la piel es un fenómeno complejo que resulta de la interacción de varios factores intrínsecos y extrínsecos. Los cambios cutáneos asociados con el envejecimiento a menudo se manifiestan como discapacidades cosméticas. Debido a su impacto psicológico, el envejecimiento cutáneo se ha convertido en un problema de gran significación y preocupación social. Con el envejecimiento de la generación de la explosión de la natalidad, la era del cuidado cosmético, el mantenimiento y rejuvenecimiento cosmético adquiere una conciencia creciente. Los métodos para prevenir y tratar el envejecimiento cutáneo son muy deseados. El envejecimiento intrínseco es un proceso programado genéticamente inevitable. Entre las influencias extrínsecas (viento, calor, hábito de fumar, productos químicos, etc.), la radiación ultravioleta parece ser el factor individual más importante asociado con el envejecimiento de la piel. El fotoenvejecimiento está inducido por la exposición acumulativa a la radiación ultravioleta (UVR). El aumento de la exposición recreativa al sol, que incluye excesivos baños de sol, la reducción del ozono estratosférico y el uso de UVR en el tratamiento de varias enfermedades cutáneas, han llevado al aumento de la frecuencia del fotoenvejecimiento en las últimas décadas. El daño fotoinducido se puede prevenir por la evitación del sol y la protección solar apropiada, y se podría revertir por el uso de retinoides tópicos, que podrían ser irritantes y costosos. La sobreexposición a la radiación ultravioleta y visible también causa quemaduras solares. El uso de aspirina y otros fármacos antiinflamatorios no esteroides, baños fríos y esteroides tópicos sólo ofrece un alivio leve.

En el pasado se han intentado varios enfoques para tratar el acné, daño fotoinducido y otras afecciones cutáneas, que incluyen el tratamiento con la forma ácida de la vitamina A (también conocida como "tretinoína") y retinoides naturales o precursores de retinoides tales como la forma alcohólica de la vitamina A (también conocida como "retinol"). (Véase, por ejemplo, la Patente Estadounidense No. 4.877.805 y la Patente Estadounidense No. 4.355.028). Sin embargo, el tratamiento tópico con retinoides puede ser muy irritante para la piel e incómodo para el paciente. Puede causar enrojecimiento, lo que puede ser embarazoso para el paciente, en particular los que sufren de acné en sus años adolescentes. Se ha hallado que el tratamiento oral con retinoides tiene efectos teratogénicos.

En consecuencia, sería deseable hallar un tratamiento tópico para el acné, la rosácea, el daño fotoinducido y otras afecciones cutáneas que no cause enrojecimiento de la piel.

### 60 Sumario de la invención

De acuerdo con la presente invención, hemos hallado un uso como se define en la reivindicación 1. La composición usada en la presente invención es útil para tratar y aliviar el acné, la rosácea, las arrugas y el daño fotoinducido y consta de extractos vegetales no desnaturalizados que incluyen extractos de leguminosas y hortalizas que tienen actividad inhibidora de tripsina y un retinoide natural o sintético o compuestos de tipo retinol.

**Descripción detallada de las realizaciones preferidas**

Preferiblemente, las composiciones usadas en la presente invención contienen extractos de leguminosas u hortalizas no desnaturalizados que contienen compuestos que inhiben la tripsina, tales como inhibidores de serina proteasa. En particular, los extractos de leguminosas no desnaturalizados también serán útiles en la presente invención. Más preferiblemente, extractos de haba de soja, haba de lima y judía negra no desnaturalizados, y otros productos obtenidos de estas habas, tales como, sin limitación, leche de haba, pasta de haba y similares, también sirven para reducir la pigmentación por este mecanismo. Los inhibidores de serina proteasa aislados de hortalizas o leguminosas son también útiles en la presente invención, tales como, sin limitación, el inhibidor de tripsina de soja obtenido de proteínas derivadas de soja “STI” y el inhibidor de Bowman-Birk, “BBI”.

Las composiciones usadas en la presente invención con preferencia contienen productos leguminosos y, con mayor preferencia, productos de soja, que pueden estar en forma líquida (por ejemplo, leche de soja) o sólida (por ejemplo, un polvo de haba de soja o polvo de leche de soja). Se entiende por “producto de soja” una sustancia derivada del haba de soja, que contiene los ingredientes que se hallan naturalmente en los habas de soja, a las concentraciones relativas halladas en los habas. Se entiende por “producto de soja” a una sustancia derivada del haba de soja. El producto de soja puede contener sólo una porción del haba de soja (por ejemplo, un extracto del haba de soja tal como un polvo de haba de soja reducido en lípidos o leche de soja filtrada) o puede contener el haba de soja entero (por ejemplo, un polvo molido de la legumbre). El producto de soja puede estar en forma líquida (por ejemplo, leche de soja) o sólida (por ejemplo, un polvo de haba de soja o polvo de leche de soja). Cuando está en forma líquida, el término “producto de soja” se refiere a los constituyentes sólidos del líquido que derivan del haba de soja.

El producto de soja puede ser polvo de haba de soja. El polvo de haba de soja se puede obtener por molienda de habas de soja secos. El polvo de soja puede liofilizarse. La leche de soja y el polvo de leche de soja también son productos de soja útiles. La leche de soja es una combinación de sólidos derivados del haba de soja y agua, cuya mezcla tiene algunos o todos los constituyentes insolubles filtrados. El polvo de leche de soja es leche de soja evaporada, que en una realización, está en forma liofilizada o secada por aspersión. Los procedimientos para la fabricación de leche de soja incluyen, sin limitación, los siguientes tres procedimientos. Primero, la leche de soja se puede obtener colocando los habas de soja en agua para permitirles absorber el agua. Las habas de soja hinchadas posteriormente se muelen y después se agrega agua adicional. A continuación la mezcla se puede filtrar para eliminar cualquier residuo insoluble. Segundo, la leche de soja también se puede preparar a partir de polvo de haba de soja. El polvo de haba de soja se mezcla completamente con agua (por ejemplo, durante al menos una hora), a lo que puede seguir un proceso de filtración para eliminar residuos insolubles. Tercero, la leche de soja también se puede reconstituir a partir de polvo de leche de soja añadiendo agua. La leche de soja puede comprender entre aproximadamente 1% y aproximadamente 50% en peso (por ejemplo, de aproximadamente 5% a aproximadamente 20% en peso) de sólidos del haba de soja.

La superficie de los frutos de las leguminosas a menudo contiene altos niveles de microorganismos. En consecuencia, antes de usar en seres humanos, el producto de leguminosa necesita tratarse para reducir o eliminar tales microorganismos.

Los productos de leguminosas utilizados en la presente invención pueden tener un contenido microbiano total de menos de aproximadamente 10.000 unidades formadoras de colonias (“ufc”) por gramo. Preferiblemente, los productos de soja utilizados en la presente invención tienen un contenido microbiano de menos de aproximadamente 1.000 ufc por gramo (tal como menos de aproximadamente 100 ufc por gramo) del producto de leguminosa.

Los productos de leguminosas utilizados en la presente invención pueden tener un contenido microbiano total objetable de menos de 300 ufc por gramo, tal como menos de 150 ufc por gramo. Preferiblemente, los productos leguminosos utilizados en la presente invención tienen una cantidad no detectable de microbios objetables para al menos un gramo (por ejemplo, al menos diez gramos) de producto de leguminosa.

El producto de leguminosa se puede exponer a irradiación gamma. El producto de leguminosa se puede exponer a entre aproximadamente 2 a aproximadamente 30 kGy de irradiación gamma, tal como entre aproximadamente 5 y aproximadamente 10 kGy de irradiación gamma. Tal tratamiento reduce el contenido microbiano del producto de leguminosa, mientras se mantiene su actividad biológica (por ejemplo, actividad inhibidora de serina proteasa). El tratamiento de los productos leguminosos con irradiación gamma mantiene la elegancia cosmética del producto de leguminosa, tal como los colores naturales mantenidos, y no induce malos olores significativos.

Otros procesos antimicrobianos que también mantienen la actividad inhibidora de proteasa del producto de leguminosa que se pueden poner en práctica solos o en combinación con irradiación gamma, incluyen, sin limitación, exposición a rayos x, haces de electrones o protones de alta energía, radiación ultravioleta, presión hidrostática y adición de agentes químicos que poseen actividad antimicrobiana, y sus combinaciones.

En una realización, el producto de soja es un producto de soja no desnaturalizado. “Desnaturalización” se define en el Bantam Medical Dictionary (edición de 1990) como “el cambio de las propiedades físicas y fisiológicas de una proteína, que son causadas por calor, rayos X o productos químicos. Estos cambios incluyen la pérdida de actividad (en el caso de las enzimas) y pérdida (o alteración) de antigenicidad (en el caso de antígenos)”. Lo que se entiende por “extracto vegetal no desnaturalizado” es un producto extraído o derivado de una planta en el que el procesamiento para la obtención de semejante extracto vegetal (por ejemplo, la temperatura, medio de extracción) no eliminó su actividad

## ES 2 322 851 T3

inhibidora de proteasas. Una de tales proteasas es la tripsina. En una realización, el estado no desnaturalizado del producto de soja de la presente invención se mide por la presencia de una proteína inhibidora de la tripsina de soja intacta (STI) o por su actividad inhibidora de tripsina.

5 Fuentes adicionales de inhibidores de serina proteasa se pueden extraer de las especies pertenecientes a las siguientes familias de plantas: Solanáceas (por ejemplo, patata, tomate, tomatilla y similares); Gramíneas (por ejemplo, arroz, trigo sarraceno, sorgo, trigo, cebada, avena y similares); Cucurbitáceas (por ejemplo, pepinos, calabaza, calabacín, esponja vegetal y similares); y, preferiblemente, Leguminosas (por ejemplo, habas, arvejas, lentejas, maníes y similares). Los ingredientes presentes en la soja, tales como isoflavonas, o un inhibidor de tripsina de soja o la soja no  
10 desnaturalizada, no han sido conocidos o utilizados previamente para reducir la irritación o enrojecimiento inducido por retinoides. De modo sorprendente, hemos descubierto que las composiciones que contienen tales elementos son capaces de reducir la irritación o enrojecimiento inducidos por los retinoides sin afectar la actividad de los retinoide.

15 Los compuestos que son activos en las composiciones usadas en la presente invención se pueden administrar tópicamente por cualquier medio conocido por los expertos en la técnica. Si los parámetros de administración del agente farmacéutico o cosmético tópicamente activo así lo requieren, la composición tópicamente activa de la presente invención con preferencia también puede estar compuesta por un vehículo aceptable para uso farmacéutico o cosmético capaz de actuar como un sistema de administración para permitir la penetración del agente tópicamente activo en la piel.

20 Un vehículo aceptable para la administración tópica de algunas de las composiciones de la presente invención, en particular proteínas tales como tripsina y STI, pueden contener liposomas. Los liposomas con mayor preferencia son no fónicos y contienen a) dilaurato de glicerilo (con preferencia en una cantidad de entre aproximadamente 5% y aproximadamente 70% en peso), b) compuestos que tienen el esqueleto esteroide que se encuentra en el colesterol (con preferencia en una cantidad de entre aproximadamente 5% y aproximadamente 45% en peso); y c) uno o más  
25 éteres de ácidos grasos que tienen de aproximadamente 12 a aproximadamente 18 átomos de carbono (con preferencia en una cantidad de entre aproximadamente 5% y aproximadamente 70% en peso en forma colectiva), en el que los compuestos constituyentes de los liposomas con preferencia están en una relación de aproximadamente 37,5: 12,5: 33,3: 16,7. Los liposomas compuestos de dilaurato de glicerilo / colesterol / éter polioxietileno-10-estearílico / éter polioxietileno-9-laurílico (liposomas GDL) son de máxima preferencia. Con preferencia los liposomas están presentes  
30 en una cantidad, sobre la base del volumen total de la composición, de aproximadamente 10 mg/ml a aproximadamente 100 mg/ml, y con más preferencia de aproximadamente 20 mg/ml a aproximadamente 50 mg/ml. De máxima preferencia es una relación de aproximadamente 37,5: 12,5: 33,3: 16,7. Preferiblemente se pueden preparar liposomas adecuados de acuerdo con el protocolo expuesto en el Ejemplo 1 de la solicitud padre estadounidense No. de Serie 09/110.409, si bien también son aceptables otros métodos comúnmente usados en la técnica. La composición descrita  
35 anteriormente se puede preparar combinando los componentes deseados en un recipiente adecuado y mezclándolos en condiciones ambientales en cualquier medio de mezcla de alto cizallamiento convencional bien conocido en la técnica para las preparaciones de liposomas no fónicos, tales como los descritos en Niemiec *et al.*, "Influence of Nonionic Liposomal Composition On Topical Delivery of Peptide Drugs Into Pilosebaceous Units: An *In Vivo* Study Using the Hamster Ear Model," 12 *Pharm. Res.* 1184-88 (1995) ("Niemiec"). Hemos hallado que la presencia de estos liposomas  
40 en las composiciones usadas en la presente invención puede mejorar las capacidades terapéuticas de algunas de las composiciones usadas en la presente invención.

Otras formulaciones preferidas pueden contener, por ejemplo, leche de soja u otras formulaciones líquidas derivadas directamente de una leguminosa u otra planta adecuada. Por ejemplo, semejante formulación puede contener una  
45 gran proporción de leche de soja, un emulsionante que mantiene la estabilidad física de la leche de soja, y en forma opcional, un agente quelante, conservantes, emolientes, humectantes y/o agentes espesantes o gelificantes.

Las emulsiones aceite en agua, emulsiones agua en aceite, formulaciones basadas en disolventes y geles acuosos conocidos por los expertos en la técnica también se pueden utilizar como vehículos para la administración de las  
50 composiciones usadas en la presente invención.

Las composiciones tópicas útiles en la presente invención involucran formulaciones adecuadas para la aplicación tópica en la piel. La composición puede comprender el producto de soja y un vehículo tópico aceptable para uso  
55 cosmético. El vehículo tópico aceptable para uso cosmético puede comprender de aproximadamente 50% a aproximadamente 99,99% en peso de la composición (por ejemplo, de aproximadamente 80% a aproximadamente 95% en peso de la composición).

Las composiciones se pueden preparar en una amplia variedad de tipos de producto que incluyen, sin limitación, composiciones sólidas y líquidas tales como lociones, cremas, geles, bastones, sprays, cremas de afeitar, ungüentos,  
60 líquidos para lavado y barras sólidas de limpieza, champúes, pastas, polvos, espumas, tiras adhesivas y toallas. Estos tipos de productos pueden comprender varios tipos de vehículos tópicos aceptables para uso cosmético que incluyen, sin limitación, soluciones, emulsiones (por ejemplo, microemulsiones y nanoemulsiones), geles, sólidos y liposomas. Los siguientes son ejemplos no limitantes de tales vehículos. Otros vehículos pueden ser formulados por los expertos en la técnica.

65 Las composiciones tópicas útiles en la presente invención se pueden formular como soluciones. Las soluciones normalmente incluyen un disolvente acuoso (por ejemplo, de aproximadamente 50% a aproximadamente 99,99% o de aproximadamente 90% a aproximadamente 99% de un disolvente acuoso aceptable para uso cosmético).

## ES 2 322 851 T3

Las composiciones tópicas útiles en la invención se pueden formular como una solución que comprende un emoliente. Tales composiciones con preferencia contienen de aproximadamente 2% a aproximadamente 50% de un emoliente(s). Como se usa en la presente, “emolientes” se refiere a los materiales usados para la prevención o alivio de la sequedad, así como para la protección de la piel. Se conoce una amplia variedad de emolientes adecuados y se pueden  
5 usar en la presente. Véase International Cosmetic Ingredient Dictionary and Handbook, eds. Wenninger y McEwen, pp. 1656-61, 1626 y 1654-55 (The Cosmetic, Toiletry and Fragrance Assoc., Washington, D.C., 7th. Edition, 1997) (de aquí en adelante “INCI Handbook”) contiene numerosos ejemplos de materiales adecuados.

Se puede obtener una loción a partir de tal solución. Las lociones normalmente comprenden de aproximadamente  
10 1% a aproximadamente 20% (por ejemplo, de aproximadamente 5% a aproximadamente 10%) de emoliente(s) y de aproximadamente 50% a aproximadamente 90% (por ejemplo, de aproximadamente 60% a aproximadamente 80%) de agua.

Otro tipo de producto que se puede formular a partir de una solución es una crema. Una crema normalmente com-  
15 prende de aproximadamente 5% a aproximadamente 50% (por ejemplo, de aproximadamente 10% a aproximadamente 20%) de emoliente(s) y de aproximadamente 45% a aproximadamente 85% (por ejemplo, de aproximadamente 50% a aproximadamente 75%) de agua.

Inclusive otro tipo de producto que se puede formular a partir de una solución es un ungüento. Un ungüento  
20 puede comprender una base simple de aceites animales o vegetales o hidrocarburos semisólidos. Un ungüento puede comprender de aproximadamente 2% a aproximadamente 10% de emoliente(s) más de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 2% de agente(s) espesante(s). Una descripción más completa de agentes espesantes o agentes que aumentan la viscosidad útiles en la presente se pueden hallar en INCI Handbook pp. 1693-1697.

Las composiciones tópicas útiles en la presente invención se pueden formular como emulsiones. Si el vehículo  
25 es una emulsión, de aproximadamente 1% a aproximadamente 10% (por ejemplo, de aproximadamente 2% a aproximadamente 5%) del vehículo comprende emulsionante(s). Los emulsionantes pueden ser no iónicos, aniónicos o catiónicos. Se describen emulsionantes adecuados, por ejemplo, en INCI Handbook, pp. 1673-1686.

Las lociones y cremas se pueden formular como emulsiones. Normalmente tales lociones comprenden de 0,5% a  
30 aproximadamente 5% de emulsionante(s). Tales cremas normalmente comprenderían de aproximadamente 1% a aproximadamente 20% (por ejemplo, de aproximadamente 5% a aproximadamente 10%) de emoliente(s); de aproximadamente 20% a aproximadamente 80% (por ejemplo, de 30% a aproximadamente 70%) de agua; y de aproximadamente 1% a aproximadamente 10% (por ejemplo, de aproximadamente 2% a aproximadamente 5%) de emulsionante(s).

Las preparaciones para el cuidado de la piel de emulsión monofásicas, tales como lociones y cremas, del tipo  
35 aceite en agua y tipo de agua en aceite son bien conocidas en la técnica cosmética y son útiles también en la presente invención. Las composiciones de emulsión multifásicas, tales como las del tipo agua-en - aceite-en agua también son útiles en la invención. En general, tales emulsiones monofásicas o multifásicas contienen agua, emolientes, y emulsionantes como ingredientes esenciales.

Las composiciones tópicas de la presente invención también se pueden formular como gel (por ejemplo, un gel  
40 acuoso usando un agente(s) gelificante(s) adecuado(s). Los agentes gelificantes adecuados para los geles acuosos incluyen, sin limitación, gomas naturales, polímeros y copolímeros de ácido acrílico y acrilato y derivados de celulosa (por ejemplo, hidroximetilcelulosa e hidroxipropilcelulosa). Los agentes gelificantes adecuados para los aceites (tales como aceite mineral) incluyen, sin limitación, copolímero hidrogenado de butileno / etileno /estireno y copolímero hidrogenado de etileno / propileno / estireno. Tales geles normalmente comprenden entre aproximadamente 0,1% y 5% en peso de tales agentes gelificantes.

Las composiciones tópicas usadas en la presente invención también se pueden formular para dar una formulación  
50 sólida (por ejemplo, un bastón basado en cera, composición de jabón en barra, polvo o una toalla que contiene polvo).

Las composiciones tópicas útiles de la presente invención pueden contener, además de los componentes mencio-  
55 nados anteriormente, una amplia variedad de materiales liposolubles y/o materiales hidrosolubles adicionales convencionalmente usados en composiciones para su uso en piel, cabello y uñas en sus niveles establecidos en la técnica.

La fuente de compuesto activo formulada generalmente dependerá de la forma particular del compuesto. Las  
60 moléculas orgánicas pequeñas y los fragmentos peptídico pueden sintetizarse químicamente y suministrarse en una forma pura adecuada para uso farmacéutico/ cosmético. Los productos de extractos naturales se pueden purificar de acuerdo con técnicas conocidas en la técnica. Las fuentes recombinantes de compuestos también están disponibles para los expertos en la técnica.

En realizaciones alternativas, la composición farmacéutica o cosmética tópicamente activa opcionalmente se puede  
65 combinar con otros ingredientes tales como hidratantes, adyuvantes cosméticos, antioxidantes, agentes blanqueadores, inhibidores de tirosinasa y otros agentes despigmentantes conocidos, tensioactivos, agentes espumantes, acondicionadores, humectantes, fragancias, espesantes, agentes amortiguadores del pH, conservantes, pantallas solares y similares. Las composiciones usadas en la presente invención también pueden contener cantidades activas de retinoides (es decir, compuestos que se unen a cualquier miembro de la familia de los receptores retinoides) y precursores de retinoides

## ES 2 322 851 T3

tales como retinol, incluyendo, por ejemplo, tretinoína, retinol, ésteres de tretinoína y/o retinol, retinoides sintéticos tales como los expuestos, por ejemplo, en la patente estadounidense No. 4.877.805, y similares.

Uno de los problemas encontrados por muchos individuos que utilizan productos que contienen ácido retinoico es el aumento de eritema causado por la irritación, un efecto secundario común del uso de retinoides. Hemos hallado que, en forma sorprendente, la combinación de tretinoína y extractos de soja con productos con actividad inhibidora de la tripsina, tales como polvo de leche de soja no desnaturalizada, produce una disminución del enrojecimiento cutáneo cuando se aplica en combinación con o en forma simultánea con el ácido retinoico. Con preferencia, los productos de soja se utilizan en una composición tópica que contiene de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50% de polvo de haba de soja o polvo de leche de soja, con mayor preferencia aproximadamente 0,05 a aproximadamente 20% de polvo de haba de soja o polvo de leche de soja y con máxima preferencia aproximadamente 0,5 a aproximadamente 5% de polvo de haba de soja o polvo de leche de soja.

La composición farmacéutica o cosmética tópicamente activa se debe aplicar en una cantidad efectiva para reducir la irritación inducida por retinoides en la piel de mamífero. Como se usa en la presente, "cantidad efectiva" significará una cantidad suficiente para cubrir la región de la superficie cutánea donde se desea reducir la irritación inducida por retinoides. Con preferencia, la composición se aplica generosamente en la superficie de la piel de modo que, tomando como base un cm cuadrado de superficie de piel, esté presente de aproximadamente  $2 \mu\text{l}/\text{cm}^2$  a aproximadamente  $200 \mu\text{l}/\text{cm}^2$  de agente tópicamente activo cuando se desea una reducción de la irritación o enrojecimiento.

Los extractos naturales obtenidos directamente de las plantas o fuentes botánicas se pueden emplear en las composiciones de la presente invención en una concentración (p/v) de aproximadamente 1 a aproximadamente 99%. Las fracciones de los extractos naturales y los inhibidores de proteasa naturales tales como STI o BBI pueden tener un rango preferido diferente, de aproximadamente 0,01% a aproximadamente 20% y, con mayor preferencia, de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 10% de la composición, y con máxima preferencia de 0,1% a aproximadamente 2,5%. Obviamente, las mezclas de agentes activos usados en la presente invención se pueden combinar y usar en conjunto en la misma formulación, o en aplicaciones seriadas de formulaciones diferentes.

Hemos descubierto en forma inesperada que cuando los agentes tópicamente activos se aplicaron en forma tópica a la piel de un animal, se obtuvo un cambio significativo en el estado de la piel. Con preferencia, los agentes activos de la presente invención se aplican a la piel de un mamífero en una concentración y dosis relativamente altas (de aproximadamente 0,005% a aproximadamente 1% para los compuestos que tienen altos índices terapéuticos tales como retinoides naturales y sintéticos y compuestos relacionados; de aproximadamente 20% a aproximadamente 99% para derivados líquidos y extractos de materiales botánicos; y de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 20% para extractos secos o fracciones de extractos naturales e inhibidores de proteasa obtenidos en forma natural tales como STI o sus mezclas) entre una y dos veces por día durante un período de tiempo hasta que la piel evidencie un cambio en el estado de la piel. Esto puede llevar de aproximadamente cuatro a aproximadamente diez semanas o más. A partir de allí, una vez que se ha obtenido el cambio en el estado de la piel, se puede aplicar una concentración y dosis menor (de aproximadamente 0,00001% a aproximadamente 0,005% para los compuestos que tienen altos índices terapéuticos tales como retinoides naturales y sintéticos y compuestos relacionados; de aproximadamente 10% a aproximadamente 90% para derivados líquidos y extractos de materiales botánicos; y de aproximadamente 0,01% a aproximadamente 5% para extractos secos o fracciones de extractos naturales e inhibidores de proteasa obtenidos en forma natural tales como STI o sus mezclas) del ingrediente activo en un esquema de tiempo menos frecuente, por ejemplo aproximadamente una vez por día a aproximadamente dos veces por semana. Los efectos de los agentes activos de la presente invención son reversibles, en consecuencia, a fin de mantener estos efectos, se debe realizar una aplicación o administración continuas. La invención descrita en forma ilustrativa en la presente se pueden poner en práctica adecuadamente en ausencia de cualquier componente, ingrediente o etapa que no esté específicamente desvelado en la presente memoria.

Se exponen varios ejemplos a continuación para ilustrar adicionalmente la naturaleza de la invención y la manera de llevarla a cabo, pero no sirven para limitar el ámbito de uso de la presente invención.

### Ejemplo 1

#### *Preparación de productos derivados naturales que contienen STI*

En base de pruebas analíticas, se ha determinado que la leche de soja y la pasta de soja son fuentes ricas en inhibidor de tripsina de soja.

Para preparar la pasta de soja, primero se sumergieron los habas de soja en agua desionizada o purificada durante varias horas. Los habas de soja se molieron después de estar completamente hidratados, con la adición de pequeñas cantidades de agua, de ser necesario, para suavizar la pasta. Para preparar leche de soja, se realizó el mismo procedimiento con la adición de más agua. (El proceso de molienda permite extraer la leche de soja). Después de la recolección, la leche de soja se filtró hasta eliminar las partes residuales de la cáscara del haba.

Se prepararon leche de soja, pasta de soja y miso para usar como materiales derivados naturales que contienen STI y pueden aclarar el color de la piel.

## ES 2 322 851 T3

### Ejemplo 2

#### *Formulaciones para tratamiento cutáneo con leche de soja C (no reivindicada)*

5 Al preparar la leche de soja, se descubrió que el carácter emoliente intenso de la leche sería deseable en una formulación para el cuidado de la piel. Debido a que el agua se usa como ingrediente predominante de cualquier emulsión aceite en agua, y en muchas otras formulaciones para el cuidado de la piel, postulamos que se podría usar leche de soja para sustituir el agua desionizada en dichas formulaciones. Sin embargo, esperábamos que este tipo de formulación no sería físicamente estable debido a la inmiscibilidad de los componentes oleosos y acuosos de la leche de soja. De modo sorprendente, hallamos que esta sustitución de la leche de soja en lugar del agua era físicamente estable. Las formulaciones que utilizan leche de soja deben contener entre aproximadamente 1% y aproximadamente 99% de leche de soja, con mayor preferencia de aproximadamente 80% a aproximadamente 95% de leche de soja. Con preferencia, esta y formulaciones similares deben incluir un agente para aumentar la viscosidad en una cantidad de aproximadamente 0% a aproximadamente 5% (con mayor preferencia, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 2%), uno o más emolientes en una cantidad de hasta aproximadamente 20% y/o emulsionantes en una cantidad de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 10% (con mayor preferencia de aproximadamente 3 a aproximadamente 5%) y, opcionalmente, un agente extensor en una cantidad de aproximadamente 0 a aproximadamente 5% (con mayor preferencia de aproximadamente 1 a aproximadamente 2%), un conservante, un agente quelante o un humectante. El conservante debe estar presente en una cantidad efectiva para preservar la integridad de la leche y mantener la actividad de la composición. Deber estar presente suficiente cantidad de espesante para impartir cuerpo a la formulación sin hacer que esta se vuelva tan viscosa que pueda impedir la extensibilidad, por ejemplo, de aproximadamente 0 a aproximadamente 10%, con mayor preferencia de aproximadamente 3 a aproximadamente 5%. También se pueden incorporar pantallas solares, antioxidantes, vitaminas y otros agentes despigmentantes y otros ingredientes tópicos para el cuidado cutáneo en las composiciones de la presente invención.

25 Un ejemplo particularmente preferido de una formulación para el tratamiento de la piel que sustituye el agua por leche de soja se muestra en la siguiente Tabla A.

TABLA A

Ingrediente	Función	% P/P
leche de soja	Vehículo, despigmentante	84,9%
octenil succinato de almidón y aluminio	agente viscosante	0,75%
ciclometicona	agente extensor	2%
PEG 6-triglicéridos del ácido cáprico/caprílico	emoliente/ emulsionante	3%
fenoxietanol	conservante	0,75%
cocoato de sacarosa	emoliente/ emulsionante	1%
Na <sub>2</sub> EDTA	agente quelatante	0,1 %
glicerina	humectante	2,5%
poliacrilamida; isoparafina; lauril éter-7	espesante	5%

60 Se pueden incorporar STI, pasta de soja y otros extractos naturales que contienen inhibidor de tripsina en dichas formulaciones para proporcionar concentraciones crecientes del inhibidor de serina proteasa. Los niveles de uso del ingrediente activo agregado pueden variar entre 0,01% a 15% en una formulación. También se podrían incorporar en esta formulación otros agentes despigmentantes, incluyendo inhibidores de PAR-2, inhibidores de tirosinasa, hidroquinonas, productos de soja, ácido ascórbico y sus derivados, así como otros ingredientes con beneficios para el cuidado de la piel.

## ES 2 322 851 T3

### Ejemplo 3

*Una formulación para tratamiento cutáneo como Emulsión aceite en agua (no reivindicada)*

5 Dos ejemplos de una formulación para el tratamiento cutáneo con una emulsión aceite en agua se presentan en la Tabla B. Una formulación con STI, donde STI podría reemplazarse con un inhibidor de serina proteasa obtenido naturalmente, o con cualquier extracto de origen natural o fracción del mismo que contienen inhibidores de serina proteasa, se describe en la columna 3 de la Tabla B. Los agentes terapéuticos de esta composición se podrían reemplazar con compuestos similares o con inhibidor de serina proteasa o con cualquiera de los materiales inhibidores de PAR-2 que  
 10 tienen altos índices terapéuticos, sean derivados sintéticos o naturales, como ingrediente activo. Los rangos sugeridos para los ingredientes en dichas formulaciones también se enumeran en la Tabla B. El contenido de agua desionizada de estas formulaciones se podría reemplazar con leche de soja.

TABLA B

15

Fase	Nombre CTFA	Función	% P/P	% P/P	Rangos	
20 25 30 35 40	ACEITE	Cetearil Glucósido	Tensioactivo	1,4	1,4	0,1-2,8
		Benzoato de alquilo C12-15	Tensioactivo	4,0	4,0	1-6
		Hidroxiestearato de octilo	Emoliente	1,0	1,0	0-5
		Dimeticona	Agente extensor	1,0	1,0	0-5
		Ciclometicona	Agente extensor	1,0	1,0	0-5
		Alcohol cetílico	Emoliente	2,5	2,5	0-4
		Hidroxitolueno butilado	Antioxidante	0,1	0,1	0-0,5
		Metoxicinamato de octilo	Filtro solar	6,0	6,0	0-10
		Propilparabeno	Conservante	0,5	0,1	0-0,5
		Acetato de vitamina E	Antioxidante	0,5	0,5	0-0,5
45 50 55 60	ACUOSA	Glicerina	Humectante	3,0	3,0	0-20
		D-Patenol	Provitamina	0,5	0,5	0-5
		EDTA disódico	Quelatante, agente blanqueador	0,1	0,1	0,01-1
		Metilparabeno	Conservante	0,2	0,2	0-0,3
		Carbómero	Espesante	0,35	0,35	0-3
		Agua desionizada o Leche de soja	Portador/agente terapéutico	76,35	77,5	50-80
		STI o extracto natural	Agente terapéutico	1,0	0	0-15
		Otros agentes terapéuticos	Agente terapéutico	0	0,25	0-1

65 Para preparar esta formulación, los ingredientes de la fase lipídica se combinaron y mezclaron a 85°C, y luego se enfriaron a 60°C. En un recipiente separado, el carbopol se añadió lentamente al agua o a la leche de soja. Después de mezclar durante 10 minutos, se añadió el resto de los ingredientes de la fase acuosa y la mezcla se calentó a 60°C. a continuación se combinaron las dos fases, se mezclaron durante 10 minutos, y se enfriaron a temperatura ambiente. Obviamente, se pueden combinar uno o más agentes de despigmentación dentro de la misma formulación, en este Ejemplo y en los siguientes ejemplos y otras realizaciones de los métodos y composiciones de la presente invención.

## ES 2 322 851 T3

### Ejemplo 4

#### *Composición para tratamiento cutáneo (Emulsión Aceite en Agua) (no reivindicada)*

5 En la Tabla C se presentan dos ejemplos adicionales de formulaciones para el tratamiento cutáneo en forma de emulsión aceite en agua. Una formulación con STI, donde STI se podría reemplazar con cualquier inhibidor de serina proteasa obtenido naturalmente, o con cualquier extracto obtenido naturalmente o fracción del mismo que contenga inhibidores de serina proteasa, se describe en la columna 3 de la Tabla C. Los agentes terapéuticos de esta composición se podrían reemplazar con compuestos similares o con inhibidor de serina proteasa o con cualquier material inhibidor de PAR-2 que tenga altos índices terapéuticos, sean derivados sintéticos o naturales, como ingrediente activo. Los rangos sugeridos para los ingredientes en dichas formulaciones también se enumeran en la Tabla C. El contenido de agua desionizada de estas formulaciones se podría reemplazar con leche de soja.

TABLA C

Nombre CTFA	Función	%P/ P	% P/P	Rangos preferidos
Etanol	Disolvente	12,0	12,0	5-20
Propilenglicol	Disolvente	3,0	3,0	1-10
Hidroxietilcelulosa	Espesante / Polímero	0,2	0,2	0-3
Polímero cruzado de acrilatos/ acrilato de alquilo C10-30	Espesante / Polímero	1,0	1,0	0-3
Pantenol (98%)	Provitamina/ Humectante	1,5	1,5	0,1-3
Fragancia	Fragancia	0,5	0,5	0-0,5
Isohexadecano	Agente extensor	4,0	4,0	0-5
Acetato de vitamina E	Antioxidante	1,0	1,0	0-2
Hidróxido de sodio	Neutralizante	0,35	0,35	0,1-0,5
Glicerina	Humectante	3,0	3,0	0-20
Agua desionizada o leche de soja	Portador/Agente Terapéutico	72,2	71,95	60-80
Agente terapéutico	Agente terapéutico	0	0,25	0-1
STI o extracto natural	Agente terapéutico	1,0	0	0-15

55 Para preparar esta formulación, la hidroxietilcelulosa se añadió lentamente al agua o a la leche de soja y se agitó hasta disolución completa. En un recipiente separado se añadió el polímero cruzado de acrilatos/ acrilato de alquilo C10-30 y se agitó hasta disolución completa. Se combinó el contenido de los dos recipientes y se mezcló durante 20 minutos. A continuación se añadió acetato de vitamina E y se mezcló, seguido de adición de isohexadecano y pantenol (98%). Después de mezclar durante cinco minutos el STI, o el extracto natural, se añadieron junto con el propilenglicol, y se agitó durante 5 minutos. Posteriormente se añadió glicerina y la formulación se agitó durante 20 minutos. Finalmente, el pH se ajustó con hidróxido de sodio (para STI, el rango es 6-8,5).

## ES 2 322 851 T3

### Ejemplo 5

#### *Composición para tratamiento cutáneo (Emulsión Agua en Aceite) (no reivindicada)*

5 Se presenta en la Tabla D un ejemplo de formulación para el tratamiento cutáneo con emulsión agua en aceite. Una formulación con STI, donde STI se podría reemplazar con cualquier inhibidor de serina proteasa obtenido naturalmente, o con cualquier extracto obtenido naturalmente o fracción del mismo que contenga inhibidores de serina proteasa, se describe en la columna 4 de la Tabla D. Una formulación similar con un agente terapéutico se presenta en la columna 5 de la Tabla D. Los agentes terapéuticos de esta composición se podrían reemplazar con compuestos similares o con un inhibidor de serina proteasa o con alguno de los materiales inhibidores de PAR-2 que tengan altos índices terapéuticos, sean derivados sintéticos o naturales, como ingrediente activo. Los rangos sugeridos para los ingredientes en tales formulaciones también se enumeran en la Tabla D. El contenido de agua desionizada de estas formulaciones se podría reemplazar con leche de soja.

15

TABLA D

Fase	Nombre CTFA	Función	% P/P	% P/P	Rangos preferidos
ACEITE	Aceite mineral	Emoliente	25,0	25,0	40-80
	Monooleato de sorbitano	Tensioactivo	5,0	5,0	1-6
	Alcohol estearílico	Emoliente	25,0	25,0	20-60
	Dimeticona	Agente extensor	1,0	1,0	1-5
	Alcohol cetílico	Emoliente	2,0	2,0	0,1-10
	Lecitina hidrogenada	Antioxidante	3,0	3,0	0-10
	Parsol MCX	Filtro solar	3,0	3,0	0-10
	Propilparabeno	Conservante	0,5	0,5	0,01-0,5
	Acetato de vitamina E	Antioxidante	0,5	0,5	0,01-0,5
	ACUOSA	Glicerina	Humectante	3,0	3,0
Metil parabeno		Conservante	0,2	0,2	0,01-0,3
Agua o leche de soja		Portador/agente terapéutico	30,8	31,55	20-45
STI		Agente terapéutico	1,0	0	0-10
Agente terapéutico		Agente terapéutico	0	0,25	0-1

60 Para preparar esta formulación se fundieron el alcohol estearílico y el aceite mineral a 70°C. Se añadieron los otros ingredientes de la fase y la mezcla se calentó a 75°C. Los ingredientes de la fase acuosa, que habían sido previamente disueltos en la fase acuosa a granel o la leche de soja y calentados a 70°C, se añadieron posteriormente y la mezcla se agitó hasta que se espesó.

65

## ES 2 322 851 T3

### Ejemplo 6

#### *Composición para tratamiento cutáneo (Gel Acuoso) (no reivindicada)*

5 Dos ejemplos de una formulación para tratamiento cutáneo con gel acuoso se presentan en la Tabla E. Una formulación con STI, donde STI se podría reemplazar con cualquier inhibidor de serina proteasa obtenido naturalmente, o con cualquier extracto obtenido naturalmente o fracción del mismo que contenga inhibidores de serina proteasa, se describe en la columna 3 de la Tabla E. Los agentes terapéuticos de esta composición se podrían reemplazar con compuestos similares o con inhibidor de serina proteasa o con cualquier material inhibidor de PAR-2 que tenga altos  
10 índices terapéuticos, sean derivados sintéticos o naturales, como ingrediente activo. Los rangos sugeridos para los ingredientes en dichas formulaciones también se enumeran en la Tabla E. El contenido de agua desionizada de estas formulaciones se podría reemplazar con leche de soja.

TABLA E

15

Nombre CTFA	Función	% P/P	% P/P	
Octoxinol-13	Tensioactivo	0,2	0,2	0,05-0,5
Ácido 2,4-Hexadienoico	Conservante	0,1	0,1	0-0,3
Bencenmetanol	Conservante	1,0	1,0	0-2
EDTA disódico	Quelatante/ Conservante	0,05	0,05	0,01-0,2
Ácido ascórbico	Antioxidante	0,1	0,1	0-0,2
Metabisulfito de sodio	Antioxidante	0,2	0,2	0-0,3
Carbómero	Espesante	1,5	1,5	0-3,0
Solución 20% de NaOH	Neutralizante	2,45	2,45	0,1-5
Agua desionizada o Leche de soja	Portador/agente terapéutico	93,4	94,15	85-98
STI o extracto natural	Agente terapéutico	1,0	0	0-15
Agente terapéutico	Agente terapéutico	0	0,25	0-1

45 Para preparar esta formulación, el EDTA disódico, metabisulfito de sodio y ácido ascórbico se añadieron lentamente al agua o a la leche de soja y se agitó hasta disolución completa. Luego se añadieron STI, extractos naturales o agentes terapéuticos y se mezclaron lentamente durante cinco minutos. Luego se aumentó la velocidad de agitación y se añadió carbopol. La composición se mezcló durante 30 minutos o hasta que la dispersión estuvo libre de “ojos de  
50 pescado”, que son grumos claros no dispersos, y se calentó a 50°C. En un recipiente separado, la fase en suspensión se preparó combinando Octoxinol-13, ácido 2,4-hexadienoico y bencenmetanol y se agitó diez minutos a 40-50°C. Luego se añadió la suspensión a la fase acuosa, se mezcló y se enfrió a 45°C. Se usó una solución 20% de hidróxido de sodio para ajustar la composición a pH 7,0 (el rango es 5,5-8,5). Esta se mezcló a homogeneidad usando un recipiente de agitación o barredor.

### 55 Ejemplo 7

#### *Composición basada en disolvente para tratamiento cutáneo (no reivindicada)*

60 Un ejemplo de formulación para tratamiento cutáneo que contiene disolvente se presenta en la Tabla F. Una formulación con STI, donde STI se podría reemplazar con cualquier inhibidor de serina proteasa obtenido naturalmente, o con cualquier extracto obtenido naturalmente o fracción del mismo que contenga inhibidores de serina proteasa, se describe en la columna 3 de la Tabla F. Los agentes terapéuticos de esta composición se podrían reemplazar con compuestos similares o con inhibidor de serina proteasa o con cualquier material inhibidor de PAR-2 que tenga altos  
65 índices terapéuticos, sean derivados sintéticos o naturales, como ingrediente activo. Los rangos sugeridos para los ingredientes en dichas formulaciones también se enumeran en la Tabla F. El contenido de agua desionizada de estas formulaciones se podría reemplazar con leche de soja.

## ES 2 322 851 T3

TABLA F

Nombre CTFA	Función	% P/P	Rango
Etanol	Solvente (1)	70	40-90
Propilenglicol	Solvente (2)	29	1-40
Agua desionizada	Portador	c.s.	1-40
STI	Agente terapéutico	0	0,01-50%
Agente terapéutico	Agente terapéutico	1 $\mu$ M	0,00001-1

Para preparar esta formulación de acuerdo con la solicitud padre estadounidense No. de Serie 09/110.409, se disolvió en agua un inhibidor de serina proteasa. El etanol y propilenglicol se mezclaron y combinaron con la solución acuosa que contenía el inhibidor de serina proteasa.

### Ejemplo 8

*El tratamiento de ratones utilizando Soja No Desnaturalizada y ácido retinoico muestra reducción del enrojecimiento*

Se obtuvieron ratones macho Lampiños RHJ/LE (Rhino), de 5-7 semanas en Jackson Laboratories (Bar Harbor, ME). Los ratones se aclimataron durante una semana, y luego se trataron durante 14 días, una vez/día, con material de ensayo. El material de ensayo incluye Renova<sup>®</sup> (0,05% de tretinoína, Ortho Neutrogena, CA), con y sin 2,5% de polvo de leche de soja. El polvo de leche de soja proveniente de leche de soja no desnaturalizada se describe en la solicitud de patente estadounidense Acta No. 09/698.454 presentada el 27 de octubre de 2000. El polvo de leche de soja se obtuvo de DevonSoy Farms (Carroll, Iowa) y se mezcló p/p en el producto de tretinoína mediante un homogenizador Polytron LS 10-35. Un grupo no tratado actuó como control del estudio. Cada grupo de ensayo contenía 5 ratones.

Al finalizar el período de tratamiento, los ratones se observaron visualmente en cuanto al enrojecimiento cutáneo y la reducción en la aparición de arrugas. Las observaciones visuales indican que los ratones tratados con tretinoína manifestaron enrojecimiento cutáneo, mientras que los ratones control no tratados sólo estuvieron levemente rosados. De modo sorprendente, la combinación de tretinoína con el polvo de leche de soja dio como resultado una reducción del enrojecimiento cutáneo, como se indica en la Tabla G.

TABLA G

Tratamiento	Enrojecimiento cutáneo
No tratado	1
Tretinoína	4
Tretinoína+Soja	2

Clave: 1= rosa claro, 2= rosa, 3= rosa-rojo, 4= rojo

Las observaciones visuales también indicaron que los ratones tratados con tretinoína presentaron reducción de las arrugas. La adición de soja a la tretinoína no cambió este efecto, lo que permite que la tretinoína reduzca las arrugas sin interferencia (ver Tabla H).

## ES 2 322 851 T3

TABLA H

	<b>Tratamiento</b>	<b>Arrugas</b>
5	No tratados	3
	Tretinoína	2
10	Tretinoína+Soja	2
	Clave: 0= sin arrugas, 1= pocas arrugas, 2= arrugas moderadas,	
15	3= arrugas graves,	

Este ejemplo demuestra que la adición de extractos de soja no desnaturalizada a un producto que contiene tretinoína reduce el enrojecimiento asociado al el tratamiento don retinoides, sin ningún efecto negativo sobre la actividad de los retinoides.

### Ejemplo 9

*Tratamiento de ratones utilizando Soja No Desnaturalizada y Ácido Retinoico*

Después de las observaciones visuales, los ratones descritos en el Ejemplo 8 fueron sacrificaron, y las muestras de sus pieles se evaluaron histológicamente. Se realizaron la tinción con H&E y el análisis histológico usando técnicas estándares como se describe en Sheehand y Hrapchak, 1980. El examen de las secciones de piel teñidas con H&E reveló las siguientes observaciones: La piel del ratón Rhino no tratado tiene utrículos grandes. La epidermis es muy fina y se dispone alrededor de los utrículos. No se observan folículos pilosos. Después del tratamiento con tretinoína, la epidermis se engrosa, los utrículos desaparecen y se producen estructuras epidérmicas que se asemejan a folículos pilosos. Las pieles tratadas con tretinoína más soja presentaron un perfil histológico muy similar al de las pieles tratadas con tretinoína. Los utrículos desaparecieron, la epidermis se engrosó y las estructuras epiteliales similares a folículos resultaron visibles. Es interesante que estas estructuras foliculares epiteliales lucían “más lisas” y algo más saludables con respecto a las de los ratones tratados con tretinoína. Este ejemplo demuestra que la adición de extractos de soja no desnaturalizada en los productos de tretinoína no reduce la efectividad del retinoide, y posiblemente mejora la calidad de la piel tratada.

### Ejemplo 10

*Tratamiento de ratones utilizando Soja No Desnaturalizada y Ácido Retinoico*

Las muestras de piel de los ratones del Ejemplo 8 se procesaron de acuerdo con: Mezick JA, Bhatia MC, Capetola RJ, Topical and systemic effects of retinoids on horn-filled utriculus size in the rhino mouse. A model to quantify “antikeratinizing” effects of retinoids., J Invest Dermatol 83: 2, 110-3, Aug, 1984. Se separaron capas epidérmicas como se describió, y se midió el diámetro de los utrículos usando análisis de imágenes computarizado (Image Pro Plus versión 4,5 de Media Cybernetics, Silver Spring, MD), cámara CCD Hitachi KP-D50 y microscopio Olympus BH-2). Para cada grupo de ensayo, se midió el diámetro de 50 utrículos epidérmicos. Una reducción del tamaño de los utrículos versus control indica un retinoide biológicamente activo. Como se muestra en la Tabla I, los utrículos tratados con tretinoína se redujeron en tamaño en aproximadamente 63%. El grupo tratado con tretinoína y soja mostró resultados similares, que demuestran nuevamente que el efecto retinoide no es inhibido por la adición de soja, a la vez que se sumaron beneficios como la reducción del enrojecimiento (Ejemplo 8).

TABLA I

	<b>Tratamiento</b>	<b>Diámetro de los utrículos (µm +/- DE)</b>	<b>% de reducción (respecto del control)</b>
60	Control	94,7 +/- 6,9	-
	Tretinoína	34,6 +/- 1,6	63,4
65	Renova+Soja	34,8 +/- 1,2	63,2

## ES 2 322 851 T3

### Ejemplo 11

#### *Estudio de irritación en seres humanos*

5 También se realizó y completó un estudio de 6 semanas de irritación y sensibilización en seres humanos. Los resultados demostraron un 34% de reducción de la irritación en los casos en que se aplicó una combinación de soja/retinol a la piel. No se observó sensibilización.

#### 10 *Método*

15 Se colocaron parches en forma intermitente con la formulación a aproximadamente 200 sujetos tres veces por semana en un total de nueve aplicaciones durante un período de 3 semanas. Los sitios se calificaron tres veces por semana después de retirarse cada parche. Después de un período de descanso de 2 semanas en el que no se aplicó material de ensayo, se aplicó un parche de provocación de la formulación en un sitio virgen de los sujetos. Los sitios de ensayo se calificaron después de retirarse el parche en los períodos de 24, 74, 96 horas y los resultados se exponen en la siguiente Tabla J.

20 TABLA J

	<b>Formulación</b>	<b>Puntaje de irritación</b>	<b>% de irritación</b>
25	Vehículo esencia+0,1% de retinol	381	100%
30	Esencia de soja 5%+0,1% de retinol	255	66%

### Ejemplo 12

35 Se obtuvieron ratones macho Lampiños RHJ/LE (Rhino), de 5-7 semanas, en Jackson Laboratories (Bar Harbor, ME). Los ratones se aclimataron durante una semana, y luego se trataron durante 14 días, una vez/día, con material de ensayo. El material de ensayo incluye producto de tretinoína marca Renova® (0,05% de tretinoína, disponible en el comercio en OrthoNeutrogena, CA), con y sin 0,1% de STI (inhibidor de tripsina de soja, Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO). STI se mezcló p/p en un producto Renova® usando un homogenizador Polytron LS10-35. Un grupo tratado con vehículo actuó como control para el estudio. Cada grupo de ensayo contenía 5 ratones.

45 Al fin del período de tratamiento, los ratones se observaron visualmente en cuanto al enrojecimiento cutáneo y el aspecto de las arrugas reducidas. Las observaciones visuales indican que los ratones tratados con Renova® manifestaron enrojecimiento cutáneo, mientras que los ratones control tratados con vehículo estuvieron solo ligeramente rosados. De modo sorprendente, la combinación de Renova® con STI produjo reducción del enrojecimiento cutáneo, como se indica en la Tabla K.

50 TABLA K

	<b>Tratamiento</b>	<b>Enrojecimiento cutáneo</b>
55	Vehículo	1
	Renova®	4
60	Renova®+STI	1

Clave: 1= rosa claro, 2= rosa, 3=  
rosa-rojo, 4= rojo

65

## ES 2 322 851 T3

Las observaciones visuales también indicaron que los ratones tratados con Renova presentaron reducción de las arrugas. La adición de STI a la Renova® no cambió este efecto, lo que permite que la Renova reduzca las arrugas sin interferencia (ver Tabla L).

5

TABLA L

	<b>Tratamiento</b>	<b>Arrugas</b>
10	No tratados	3
	Renova®	2
	Renova®+STI	2
15	Clave: 0= sin arrugas, 1= pocas arrugas, 2= arrugas moderadas, 3= arrugas graves	

20

Este ejemplo demuestra que la adición de STI a un producto que contiene tretinoína reduce el enrojecimiento asociado al tratamiento con retinoides, sin ningún efecto negativo sobre la actividad de los retinoides.

### 25 Ejemplo 13

Después de las observaciones visuales, los ratones descritos en el Ejemplo 12 fueron sacrificados y las muestras de sus pieles se evaluaron histológicamente. Se realizaron la tinción con H&E y el análisis histológico usando técnicas estándares como se describe en Sheehand y Hrapchak, 1980. El examen de las secciones de piel teñidas con H&E reveló las siguientes observaciones: La piel del ratón Rhino tratado con vehículo tiene utrículos grandes. La epidermis es muy fina y aparecen líneas alrededor de los utrículos. No se observan folículos pilosos. Después del tratamiento con tretinoína, la epidermis se engrosa, los utrículos desaparecen y se producen estructuras epidérmicas que se asemejan a estructuras foliculares epidérmicas. Las pieles tratadas con tretinoína combinada con STI presentaron un perfil histológico muy similar al de las pieles tratadas con tretinoína. Los utrículos desaparecieron, la epidermis se engrosó y las estructuras epiteliales foliculares resultaron visibles. Este ejemplo demuestra que la adición de STI en los productos de tretinoína no reduce la efectividad del retinoide.

### 40 Ejemplo 14

Las muestras de piel de los ratones del Ejemplo 12 se procesaron de acuerdo con: Mezick JA, Bhatia MC, Capetola RJ, Topical and systemic effects of retinoids on horn-filled utriculus size in the rhino mouse. A model to quantify "antikeratinizing" effects of retinoids., J Invest Dermatol 83: 2, 110-3, Aug, 1984. Se separaron capas epidérmicas como se describió, y se midió el diámetro de los utrículos usando análisis de imágenes computarizado (Image Pro Plus versión 4,5 de Media Cybernetics, Silver Spring, MD), cámara CCD Hitachi KP-D50 y microscopio Olympus BH-2). En cada grupo de ensayo, se midió el diámetro de 50 utrículos epidérmicos. Una reducción del tamaño de los utrículos versus control indica un retinoide biológicamente activo. Como se muestra en la Tabla M, los utrículos tratados con Renova® se redujeron en tamaño en aproximadamente 70%. El grupo tratado con tretinoína y STI mostró resultados similares, que demuestran nuevamente que el efecto retinoide no es inhibido por la adición de STI, a la vez que se sumaron beneficios como la reducción del enrojecimiento (como se expone en el Ejemplo 12).

TABLA M

55

	<b>Tratamiento</b>	<b>Diámetro de los utrículos (µm +/- DE)</b>	<b>% de reducción (respecto del control)</b>
60	Control	94,7 +/- 6,9	-
	Tretinoína	34,6 +/- 1,6	63,4
	Renova®+STI	29,4 +/- 0,6	68,9

65

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Uso de (a) un retinoide sintético, un retinoide natural o retinol y (b) un extracto botánico no desnaturalizado que tiene actividad inhibidora de tripsina en la fabricación de un medicamento combinado para reducir el eritema inducido por retinoides causado por la irritación cuando el medicamento se administra por vía tópica.
- 10 2. El uso de la reivindicación 1, en el que dicho retinoide es un retinoide sintético, ácido retinoico, un éster del ácido retinoico o retinol.
3. El uso de la reivindicación 2, en el que dicho compuesto retinoide es ácido retinoico.
4. El uso de la reivindicación 2, en el que dicho compuesto retinoide es retinol.
- 15 5. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que dicho extracto botánico no desnaturalizado se obtiene de la familia botánica de las leguminosas, solanáceas, gramíneas o cucurbitáceas y es una mezcla de tales extractos.
- 20 6. El uso de la reivindicación 5, en el que dicha familia botánica es la de las leguminosas.
7. El uso de la reivindicación 6, en el que dicho extracto es extracto de haba de soja no desnaturalizado, extracto de haba de lima no desnaturalizado, extracto de judía negra no desnaturalizado o una de sus mezclas.
- 25 8. El uso de la reivindicación 7, en el que dicho extracto es una fracción de extracto de haba de soja no desnaturalizado, extracto de haba de lima no desnaturalizado, extracto de judía negra no desnaturalizado o una de sus mezclas.
- 30 9. El uso de la reivindicación 8, en el que dicho extracto es leche de soja no desnaturalizada, leche de haba de lima no desnaturalizada, leche de judía negra no desnaturalizada, extracto de haba de soja no desnaturalizado, extracto de haba de lima no desnaturalizado, extracto de judía negra no desnaturalizado, pasta de haba de soja no desnaturalizada, pasta de haba de lima no desnaturalizada, pasta de judía negra no desnaturalizada o una de sus mezclas.
- 35 10. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que el extracto es un extracto de haba de soja no desnaturalizado que tiene actividad inhibidora de tripsina o actividad inhibidora de Bowman Birk.
- 40 11. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que el medicamento se administra en forma tópica para tratar el acné, o para tratar las arrugas causadas por daño fotoinducido o para el tratamiento de la rosácea o para el tratamiento del daño fotoinducido.
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65