

ITALIAN PATENT OFFICE

Document No.

102011901937522A1

Publication Date

20121019

Applicant

MAVI SUD S.R.L.

Title

METODO DI PREPARAZIONE DI COMPLESSI DI CHITINA E PRINCIPI ATTIVI
E COMPLESSI COSI OTTENUTI.

"METODO DI PREPARAZIONE DI COMPLESSI DI CHITINA E PRINCIPI ATTIVI E COMPLESSI COSÌ OTTENUTI "

DESCRIZIONE

5

STATO DELLA TECNICA ANTERIORE

Le malattie della pelle sono malattie che creano spesso gravi effetti sia di salute che sociali. La pelle è la barriera che separa gli organi ed i tessuti interni del corpo dall'ambiente esterno. E' anche la parte del corpo più esposta alla vista degli altri
10 individui. E' evidente quindi come condizioni patologiche o anche di semplice invecchiamento della pelle possano causare problemi addirittura sociali all'individuo che presenti tali condizioni.

Le condizioni patologiche possono essere rappresentate sia da condizioni molto gravi come tumori, che da condizioni come dermatiti, eczemi, malattie bollose, malattie
15 squamose, eritemi, infezioni ed altre che a loro volta possono essere sporadiche o croniche. D'altra parte l'invecchiamento cutaneo è un processo continuato nel tempo associato con cambiamenti progressivi della pelle che si manifestano sotto forma di linee sottili, rughe, rilassamento dei tessuti e pigmentazione irregolare (macchie brune cutanee o depigmentazione). L'invecchiamento è legato in parte ad un processo
20 controllato geneticamente (intrinseco) e in parte all'esposizione ad agenti atmosferici e chimici (sole, freddo, agenti inquinanti) (estrinseco), oltre che allo stile di vita (ad esempio fumo, basso indice di massa corporea), e alla comparsa della menopausa. Questi eventi, che si presentano in modo più o meno incisivo e in tempi variabili da individuo a individuo, possono indurre un invecchiamento cutaneo prematuro.

25 Sono note numerosissime formulazioni farmaceutiche e cosmetiche che hanno come bersaglio il tessuto cutaneo volte a curare le malattie, le disfunzioni e/o i danni anche meccanici che colpiscono quest'organo o anche a preservarlo dalle conseguenze legate all'invecchiamento o, in particolar modo, a ripararlo per quanto possibile dalle conseguenze dell'invecchiamento precoce.

30 La domanda di brevetto internazionale WO2007/099172, a nome della stessa

richiedente, descrive una miscela di sostanze comprendenti melatonina ed almeno una sostanza immunostimolante e/o antiossidante, in cui almeno una delle sostanze che costituiscono la miscela è legata a nano fibrille di chitina.

La domanda di brevetto internazionale WO2006/048829 descrive invece una
5 composizione medico chirurgica comprendente nano fibrille di chitina come principio attivo come riempitivo cutaneo intradermico applicabile per iniezione o per la prevenzione di infezioni e opzionalmente acido ialuronico sempre come riempitivo intradermico applicabile per iniezione.

La stessa domanda di brevetto WO2006/048829 fornisce un metodo per la
10 preparazione di nano fibrille di chitina.

Sono descritte in letteratura alcune combinazioni di principi attivi con nano fibrille di chitina, ad esempio, Morganti et al 2011 descrive la combinazione melatonina, vitamina E e beta glucano come estremamente efficace per la cura dell'invecchiamento cutaneo.

15 La cura e la prevenzione delle malattie cutanee, dei danni cutanei e dell'invecchiamento cutaneo sono oggetto di una continua ricerca volta ad un miglioramento costante della tecnica e dei risultati ottenuti, le composizioni anti età essendo comunque composizioni che devono soddisfare anche a requisiti di non allergenicità, di tollerabilità e di non-tossicità essendo somministrate per via topica,
20 orale, parenterale, intradermica e simili. Vi è quindi una continua ricerca volta a sviluppare nuove composizioni anti età e nuove metodologie di somministrazione che soddisfino i requisiti di tollerabilità, non allergenicità e di sicurezza nell'uso e che, al tempo stesso, forniscano risultati sempre più efficaci nel trattamento delle malattie cutanee, dei danni alla cute e dell'invecchiamento cutaneo sia intrinseco che
25 estrinseco e dei sintomi ad esso associati.

SOMMARIO DELL'INVENZIONE

Gli autori della presente invenzione hanno sorprendentemente trovato un nuovo procedimento di preparazione di complessi di associazione di nano fibrille di chitina (o

suoi derivati) polimero a carica prevalentemente elettropositiva, con polimeri aventi carica prevalentemente negativa in grado di intrappolare i principi attivi di origine sia naturale che sintetica. Questi complessi arricchiti si sono rivelati particolarmente efficaci nel trattamento di malattie cutanee, nella riparazione di danni subiti dalla cute e/o per il trattamento dell'invecchiamento cutaneo. In particolare, questi complessi si sono mostrati più efficaci nell'inglobare i principi attivi di interesse e nel raggiungere il tessuto bersaglio ed esercitare il loro effetto terapeutico e/o cosmetico rispetto a miscele o preparati in cui la sostanza a carica prevalentemente negativa non è stata utilizzata. Per sostanza a "carica prevalentemente negativa" o sostanza a "carica negativa" si intendono sostanze la cui carica netta (prevalente nella sostanza) è quella negativa (ad esempio, al di sopra del loro punto isoelettrico, le proteine hanno una carica netta negativa). I complessi qui descritti, inoltre, presentano una stabilità maggiore nel tempo rispetto a equivalenti preparati in cui la sostanza a carica negativa non è stata utilizzata durante il processo di preparazione. La presenza di opportuni polimeri a carica negativa durante la preparazione del composto contenente nano fibrille di chitina (qui anche indicate come CN) e principi attivi, permette la formazione di complessi in cui il principio attivo è maggiormente protetto dalla degradazione ossido-riduttiva e risulta anche più efficace in vivo rispetto a composti contenenti solamente nano chitina e/o uno o più principi attivi di interesse utilizzati normalmente sia nel settore farmaceutico che cosmetico o per la fabbricazione di tessuti e non-tessuti bioattivi.

Inoltre, gli autori hanno sorprendentemente scoperto che una somministrazione topica di formulazioni comprendenti i complessi sopra indicati in concomitanza con una somministrazione orale degli stessi, mostra, a parità di dosaggio totale attraverso la sola somministrazione topica o orale, un effetto sinergico legato al particolare modo di somministrazione.

Sono quindi oggetto dell'invenzione, complessi di nano fibrille di chitina in associazione con almeno un polimero a carica negativa e uno o più principi attivi; composizioni farmaceutiche o cosmetiche comprendenti tali complessi, kit per somministrazione concomitante o in sequenza comprendente dette composizioni in forma idonea alla

somministrazione topica (in cui questa somministrazione topica può essere realizzata anche attraverso tessuti bio-funzionali) e in forma idonea alla somministrazione orale, un uso di detti complessi o dette composizioni in un metodo per il trattamento di malattie della cute, di danni cutanei o dell'invecchiamento della pelle e degli effetti ad esso associati, un metodo per la preparazione di detti complessi e un metodo per la preparazione di dette composizioni.

DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELLE FIGURE

La figura 1 mostra l'aumento in percentuale di idratazione nel tempo (4, 8, 12 settimane) rispetto ai valori di partenza su soggetti sani che presentano foto invecchiamento cutaneo trattati per via topica per via orale o in combinazione via topica + via orale con complessi di nano fibrille di chitina (CN-MEB) secondo l'invenzione o con i soli principi attivi non complessati con nano fibrille di chitina a carica positiva (MEB). In particolare sono riportati nelle figure dati ottenuti con MEB rappresentato da una miscela Melatonina + vitamina E + β glucano mentre CN-MEB è rappresentato da complessi con nano fibrille di chitina secondo l'invenzione in cui la molecola avente carica negativa è l'acido ialuronico e i principi attivi sono l'ormone melatonina, l'immunostimolante è β glucano e l'antiossidante è la vitamina A.

CN-MEB o MEB sono stati somministrati due volte al giorno per un periodo fino 120 giorni con un dosaggio giornaliero totale uguale tra i diversi gruppi (CN-MEB e MEB) e tra le diverse forme di dosaggio. Quindi, se per la somministrazione orale e per la somministrazione topica il totale giornaliero di principi attivi somministrato era pari ad X, nel caso della combinazione, il dosaggio di ogni singola forma di somministrazione era la metà rispetto al dosaggio della stessa forma di somministrazione da sola perciò $\frac{1}{2}$ di X somministrato oralmente + $\frac{1}{2}$ di X somministrato per via topica ogni giorno, per un totale giornaliero complessivo di principi attivi pari ad X.

Si può notare in figura la maggiore efficacia di CN-MEB rispetto a MEB paragonando i due gruppi in ciascuna delle forme di realizzazione e come la somministrazione orale + topica di CN-MEB sia più efficace rispetto a tutte le altre forme di somministrazione nonostante sia somministrato lo stesso quantitativo complessivo giornaliero di principi

attivi in tutte le prove effettuate.

La figura 2 mostra l'aumento in percentuale di lipidi cutanei superficiali nel tempo (4, 8, 12 settimane) rispetto ai valori di partenza su soggetti sani che presentano foto
5 invecchiamento cutaneo trattati per via topica per via orale o in combinazione via topica + via orale con complessi di nano fibrille di chitina (CN-MEB) secondo l'invenzione o con i soli principi attivi non complessati con nano fibrille di chitina (MEB). In particolare sono riportati nelle figure dati ottenuti con MEB rappresentato da una miscela Melatonina + vitamina E + β glucano mentre CN-MEB è rappresentato da
10 complessi con nano fibrille di chitina secondo l'invenzione in cui la molecola avente carica negativa è l'acido ialuronico e i principi attivi sono l'ormone melatonina, l'immunostimolante è β glucano e l'antiossidante è la vitamina A.

CN-MEB o MEB sono stati somministrati due volte al giorno per un periodo fino 120 giorni con un dosaggio giornaliero totale uguale tra i diversi gruppi (CN-MEB e MEB) e
15 tra le diverse forme di dosaggio. Quindi, se per la somministrazione orale e per la somministrazione topica il totale giornaliero di principi attivi somministrato era pari ad X, nel caso della combinazione, il dosaggio di ogni singola forma di somministrazione era la metà rispetto al dosaggio della stessa forma di somministrazione da sola perciò $\frac{1}{2}$ di X somministrato oralmente + $\frac{1}{2}$ di X somministrato per via topica ogni giorno, per
20 un totale giornaliero complessivo di principi attivi pari ad X.

Si può notare in figura la maggiore efficacia di CN-MEB rispetto a MEB paragonando i due gruppi in ciascuna delle forme di realizzazione e come la somministrazione orale + topica di CN-MEB sia più efficace rispetto a tutte le altre forme di somministrazione nonostante sia somministrato lo stesso quantitativo complessivo giornaliero di principi
25 attivi in tutte le prove effettuate.

La figura 3 mostra l'aumento in percentuale di elasticità della pelle nel tempo (4, 8, 12 settimane) rispetto ai valori di partenza su soggetti sani che presentano foto
30 invecchiamento cutaneo trattati per via topica per via orale o in combinazione via topica + via orale con complessi di nano fibrille di chitina (CN-MEB) secondo

l'invenzione o con i soli principi attivi non complessati con nano fibrille di chitina (MEB). In particolare sono riportati nelle figure dati ottenuti con MEB rappresentato da una miscela Melatonina + vitamina E + β glucano mentre CN-MEB è rappresentato da complessi con nano fibrille di chitina secondo l'invenzione in cui la molecola avente
5 carica negativa è l'acido ialuronico e i principi attivi sono l'ormone melatonina, l'immunostimolante è β glucano e l'antiossidante è la vitamina A.

CN-MEB o MEB sono stati somministrati due volte al giorno per un periodo fino 120 giorni con un dosaggio giornaliero totale uguale tra i diversi gruppi (CN-MEB e MEB) e tra le diverse forme di dosaggio. Quindi, se per la somministrazione orale e per la
10 somministrazione topica il totale giornaliero di principi attivi somministrato era pari ad X, nel caso della combinazione, il dosaggio di ogni singola forma di somministrazione era la metà rispetto al dosaggio della stessa forma di somministrazione da sola perciò $\frac{1}{2}$ di X somministrato oralmente + $\frac{1}{2}$ di X somministrato per via topica ogni giorno, per un totale giornaliero complessivo di principi attivi pari ad X.

15 Si può notare in figura la maggiore efficacia di CN-MEB rispetto a MEB paragonando i due gruppi in ciascuna delle forme di realizzazione e come la somministrazione orale + topica di CN-MEB sia più efficace rispetto a tutte le altre forme di somministrazione nonostante sia somministrato lo stesso quantitativo complessivo giornaliero di principi attivi in tutte le prove effettuate.

20

La figura 4 mostra la ridotta ossidazione dei lipidi cutanei della pelle nel tempo (4, 8, 12 settimane) misurata attraverso il controllo quantitativo dell' MDA (malondialdeide) rispetto ai valori di partenza riscontrati su soggetti sani che, presentando fenomeni di foto invecchiamento cutaneo, sono stati trattati per via topica, per via orale o in
25 combinazione via topica + via orale con complessi di nano fibrille di chitina (CN-MEB) secondo l'invenzione o con i soli principi attivi non complessati con nano fibrille di chitina (MEB). In particolare sono riportati nelle figure i dati ottenuti con MEB rappresentato da una miscela Melatonina + vitamina E + β glucano, mentre CN-MEB è rappresentato da complessi con nano fibrille di chitina secondo l'invenzione in cui la
30 molecola avente carica negativa è l'acido ialuronico e i principi attivi sono l'ormone

melatonina, l'immunostimolante è β glucano e l'antiossidante è la vitamina A.

CN-MEB o MEB sono stati somministrati due volte al giorno per un periodo fino 120 giorni con un dosaggio giornaliero totale uguale tra i diversi gruppi (CN-MEB e MEB) e tra le diverse forme di dosaggio. Quindi, se per la somministrazione orale e per la
5 somministrazione topica il totale giornaliero di principi attivi somministrato era pari ad X, nel caso della combinazione, il dosaggio di ogni singola forma di somministrazione era la metà rispetto al dosaggio della stessa forma di somministrazione da sola perciò $\frac{1}{2}$ di X somministrato oralmente + $\frac{1}{2}$ di X somministrato per via topica ogni giorno, per un totale giornaliero complessivo di principi attivi pari ad X.

10 Si può notare in figura la maggiore efficacia di CN-MEB rispetto a MEB paragonando i due gruppi in ciascuna delle forme di realizzazione e come la somministrazione orale + topica di CN-MEB sia più efficace rispetto a tutte le altre forme di somministrazione nonostante sia somministrato lo stesso quantitativo complessivo giornaliero di principi attivi in tutte le prove effettuate.

15

La figura 5 mostra la diminuzione in percentuale del foto invecchiamento della pelle nel tempo (4, 8, 12 settimane) rispetto ai valori di partenza su soggetti sani che presentano foto invecchiamento cutaneo trattati per via topica per via orale o in
20 combinazione via topica + via orale con complessi di nano fibrille di chitina (CN-MEB) secondo l'invenzione o con i soli principi attivi non complessati con nano fibrille di chitina (MEB). In particolare sono riportati nelle figure dati ottenuti con MEB (una miscela Melatonina + vitamina E + β glucano) mentre CN-MEB è rappresentato da complessi con nano fibrille di chitina secondo l'invenzione in cui la molecola avente carica negativa è l'acido ialuronico e i principi attivi sono l'ormone melatonina,
25 l'immunostimolante è β glucano e l'antiossidante è la vitamina A.

CN-MEB o MEB sono stati somministrati due volte al giorno per un periodo fino 120 giorni con un dosaggio giornaliero totale uguale tra i diversi gruppi (CN-MEB e MEB) e tra le diverse forme di dosaggio. Quindi, se per la somministrazione orale e per la
30 somministrazione topica il totale giornaliero di principi attivi somministrato era pari ad X, nel caso della combinazione, il dosaggio di ogni singola forma di somministrazione

era la metà rispetto al dosaggio della stessa forma di somministrazione da sola perciò $\frac{1}{2}$ di X somministrato oralmente + $\frac{1}{2}$ di X somministrato per via topica ogni giorno, per un totale giornaliero complessivo di principi attivi pari ad X.

Si può notare in figura la maggiore efficacia di CN-MEB rispetto a MEB paragonando i
5 due gruppi in ciascuna delle forme di realizzazione e come la somministrazione orale + topica di CN-MEB sia più efficace rispetto a tutte le altre forme di somministrazione nonostante sia somministrato lo stesso quantitativo complessivo giornaliero di principi attivi in tutte le prove effettuate.

DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

10 Gli autori della presente invenzione hanno realizzato un metodo per la preparazione di complessi di nano fibrille di chitina in associazione con almeno una molecola a carica negativa e uno o più principi attivi, che risultano inglobati in maniera molto efficace in tali complessi. Come descritto più in dettaglio in seguito, i complessi realizzati con il metodo dell'invenzione presentano una maggiore efficacia
15 nell'associazione CN/principi attivi rispetto alla tecnica nota, una maggiore stabilità dei principi attivi associati in essi e una particolare efficacia in applicazioni mediche o terapeutiche.

Rispetto allo stato della tecnica, dove è riportato un legame di principi attivi a nano fibrille di chitina (WO2007/099172, pag 19), in cui il quantitativo di principio attivo
20 associato alle nano fibrille variava dal 20 al 30% massimo, il metodo qui descritto permette una incorporazione di principi attivi (associati alle nano fibrille di chitina) superiore anche al doppio di quanto riportato in letteratura.

Mentre la letteratura descrive l'associazione tra il principio attivo e le nano fibrille mediante la formazione di un legame, il metodo dell'invenzione, porta alla
25 realizzazione di complessi all'interno dei quali sono "incapsulati" i principi attivi.

Questo incapsulamento permette quindi l'associazione delle CN con un quantitativo maggiore di principio attivo con il vantaggio triplice di:

- aumentare il quantitativo di principio attivo disponibile,
- aumentare la penetrabilità del principio attivo grazie alla presenza di dette

nano fibrille e

-aumentare stabilità nel tempo dei principi attivi incapsulati con un conseguente aumento dell'emivita di questi ultimi rispetto a quella degli stessi principi attivi non incapsulati e della durata di conservazione dei principi attivi complessati rispetto agli
5 stessi non complessati.

E' stato osservato dagli autori della presente invenzione che la concentrazione, il pH, le cariche elettriche e la forma degli ingredienti sono aspetti importanti per l'autoassemblaggio dei complessi desiderati. Infatti, si possono ottenere diversi tipi di complessi secondo la carica elettrica prevalente dell'ingrediente utilizzato. Gli inventori
10 hanno osservato che, essendo le nano fibrille di chitina prevalentemente a carica positiva, è possibile ottenere diversi tipi di associazioni in forma di microsfeere e/o microfibre di chitina-ialuronano mettendo acido ialuronico (avente carica negativa) nella sospensione acquosa di CN (nano fibrille di chitina). Questo complesso si può sottoporre a spray-drying o a crio-spray-drying e controllare mediante diffrazione ai
15 raggi x.

Di particolare interesse è la possibilità, ad esempio, di formare un complesso con CN utilizzando luteina più un tensioattivo e versando l'acido ialuronico (HY) nella sospensione ottenuta che permette di ottenere microsfeere e/o microfibre CN-HY che intrappolano luteina. Si possono ottenere altri complessi utilizzando molecole
20 idrosolubili e/o liposolubili, opportunamente pre-disperse mediante l'uso di tensioattivi adatti. I CN-polimeri a blocco che si generano con il metodo qui descritto possono incapsulare, proteggendoli quindi dal deterioramento, vari principi attivi compresi principi attivi liposolubili e/o sensibili. La formazione dei complessi così formati, oltre a proteggere i principi attivi incapsulati negli stessi, ne facilita anche la diffusione
25 attraverso la pelle.

Il metodo dell'invenzione comprende i seguenti passaggi:

a) si prepara una prima componente agitando da 5 min a 2 hr una miscela in mezzo acquoso di nanofibrille di chitina dal 0,1% a 10% (peso/volume) ed uno o più di detti
30 principi attivi ad esempio in concentrazioni variabili dallo 0.1 al 10% in peso;

b) si prepara una seconda componente sospendendo in mezzo acquoso da 0,1% a 10%, ad esempio da 0,15% a 2% almeno uno di detti polimeri a carica negativa e opzionalmente uno o più di detti principi attivi;

c) si versa la prima alla seconda componente lasciando per circa 1 ora che il complesso si stabilizzi. Si ottiene così un precipitato e un surnatante.

Ulteriormente, il precipitato ottenuto al passaggio (c) potrà essere separato o non separato dal surnatante per filtrazione ed eventualmente purificato e/o successivamente raffinato per ridurre le dimensioni del complesso ad una struttura micro o nanometrica.

Ad esempio, secondo le tecniche idonee note all'esperto del settore, il precipitato ottenuto al punto c) (surnatante e precipitato) o l'insieme dei prodotti ottenuti al punto c) filtrati o in sospensione potranno essere ulteriormente processati in una turbina, o mediante ripetuti passaggi (2, 3 o più volte) attraverso opportuni cilindri sotto pressione e/o adatti omogeneizzatori. Tale procedura, compresa nel concetto di "successiva raffinazione" permetterà di ridurre i complessi a dimensione micrometrica e/o nanometrica.

Potranno essere utilizzati, ad esempio, opportuni molini, come quello colloidale che potrà essere costituito da un rotore tronco-conico che ruota, ad altissima velocità, internamente ad uno statore. La distanza fra rotore e statore può essere regolata in modo da ottenere la desiderata consistenza dell'emulsione. Il molino comprende anche un omogenizzatore costituito da una filiera coassiale e da un ugello. L'emulsione grossolana è laminata ed omogenizzata attraversando l'ugello la cui sezione può essere variata agendo su una vite micrometrica collegata alla filiera. L'emulsione è lavorata più volte e riversata nuovamente nella miscela fino ad ottenere la desiderata omogeneizzazione. Ad esempio, potrà essere utilizzato il molino colloidale MK 2000 (della Ikausa) specialmente progettato per la produzione di miscele colloidali, emulsioni estremamente fini e sospensioni, Alternativamente sono disponibili in commercio numerosi altri dispositivi analoghi o simili idonei, ad esempio da ART-moderne Labortechnik e. K.; IKA®-Werke GmbH & CO. KG; Probst & Class GmbH & Co. KG; Zoz GmbH; Brogtec Mischtechnik GmbH.

Nel metodo qui descritto la molecola a carica negativa potrà essere scelta nel gruppo comprendente: acido ialuronico, collagene, fosfolipidi e/o peptidi sintetici scelti nel gruppo comprendente poliglucosidi, peptidi polifenolici, polimeri o oligomeri siliconici quali ad esempio fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, ciclo destrine, maltoil
5 e glucosilciclodestrine, cellulosa e derivati, gelatina, glucosio saccarosio, ammoniacali quaternari, ciclometicone, derivati del silanolo, alchil dimeticone copolioli, dimetilsilossani lineari e ciclici, ecc.

Le nano fibrille di chitina idonee alla realizzazione del metodo qui descritto si potranno preparare, ad esempio, come descritto in WO2006/048829.

10 In una forma di realizzazione la sospensione diluita al punto 3 avrà una viscosità compresa tra circa 5000 e 10000 cps.

Gli uno o più principi attivi potranno essere scelti tra quelli idonei noti in letteratura. Data la particolare efficacia sulla pelle dei complessi qui descritti, si potranno vantaggiosamente utilizzare principi attivi idonei al trattamento di diverse
15 condizioni della pelle e somministrati per via orale e/o topica anche attraverso il contatto di particolari tessuti o non-tessuti. Una descrizione particolareggiata dei principi attivi idonei al metodo qui descritto è fornita di seguito.

In molti casi, nel metodo della presente invenzione, quando uno o più principi attivi di interesse siano liposolubili, potrà essere vantaggioso che questi siano
20 contenuti in una composizione comprendente un tensioattivo per facilitare la preparazione dei complessi secondo il metodo descritto.

Quindi, qualora vi fossero uno o più principi attivi liposolubili di interesse, questi potranno essere disciolti (ciascuno singolarmente o uno o più insieme) in una composizione (in forma di soluzione, emulsione, sospensione, dispersione)
25 comprendente uno o più tensioattivi farmaceuticamente e/o cosmeticamente accettabili. Un esempio di tensioattivi idonei alla realizzazione del metodo qui descritto sono esteri degli acidi grassi. Potranno essere utilizzati anche plastificanti ed umettanti quali, ad esempio, glicerina, acido oleico, lecitina, un acido oligolattico, butilen glicole , etilenglicol, sorbitolo, ecc.

30 Il metodo descritto sopra permette quindi la preparazione dei complessi

dell'invenzione in cui la quantità di principio attivo che rimane associato alle CN è sostanzialmente maggiore di quella descritta nello stato della tecnica riguardante associazioni di CN con principi attivi e metodi per preparale.

Si è osservato, infatti, che la percentuale di principio attivo che resta
5 "intrappolata" nei complessi qui descritti è superiore al 40%, fino anche al 50%, al 60% e addirittura anche fino a circa il 70% del principio attivo utilizzato per la preparazione degli stessi rispetto al 20, 30% riportato nella tecnica nota..

Normalmente la molecola a carica negativa entra a far parte dei complessi ottenuti.. E' stato comunque verificato che, quand'anche questo non avvenga, e la
10 molecola a carica negativa non sia rilevabile nel complesso stesso, detto metodo permetteva comunque l'incorporazione nel complesso di un quantitativo di principio attivo superiore al 40% del quantitativo utilizzato per la preparazione dei complessi, anche superiore al 50%, al 60% fino ad addirittura circa il 70% di principio attivo incorporato.

15 L'inclusione di principi attivi nei complessi qui descritti ha permesso di allungarne sia la durata di conservazione, sia l'emivita in vivo. I dati sperimentali sotto riportati indicano, infatti, come composizioni comprendenti i complessi dell'invenzione mostrino un incremento costante della loro efficacia clinica nel tempo (fig. 5). Sorprendentemente, poi, i complessi qui descritti, si sono rivelati particolarmente
20 efficaci nel distretto cutaneo quando somministrati contemporaneamente per via orale e per via topica.

Gli autori della presente invenzione hanno infatti scoperto che uno stesso dosaggio di principi attivi inseriti nei complessi qui descritti ha una diversa efficacia se somministrato per via orale, per via topica o, contemporaneamente, per via orale e
25 topica.

L'effetto sorprendente è legato al fatto che, sebbene la via topica sembri essere più efficace a livello cutaneo rispetto a quella orale, a parità di dosaggio totale di principi attivi somministrati, la ripartizione del dosaggio in ugual misura tra somministrazione topica e somministrazione orale in contemporanea, offre un effetto
30 sinergico.

Questo risultato del tutto inatteso dimostra un primo dato non prevedibile, e cioè che i complessi dell'invenzione mantengono l'efficacia del principio attivo anche a seguito di una somministrazione orale.

Inoltre, i risultati ottenuti dimostrano che, sorprendentemente, la combinazione
5 di un metodo di somministrazione cutanea e un metodo di somministrazione apparentemente meno efficace di quella cutanea, quale la somministrazione orale, fornisce una via di somministrazione estremamente efficace a parità di principi attivi somministrati.

Come indicato nella descrizione del metodo sopra, le sostanze negative idonee
10 alla realizzazione dei complessi secondo l'invenzione sono sostanze adatte ad una formulazione farmaceutica e/o cosmetica, come ad esempio sostanze scelte nel gruppo comprendente: acido ialuronico, collagene, fosfolipidi e/o peptidi sintetici scelti nel gruppo comprendente peptidi polifenolici, polimeri, poliglucosidi, fosfolipidi quali fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina. o oligomeri e polimeri siliconici quali stearyl o
15 lauril-amido-siliconi quaternizzati, polisilossani lineari, ecc. Le nano fibrille di chitina presenti nei complessi dell'invenzione possono essere quelle descritte per il metodo di preparazione sopra divulgato.

Infine, qualsiasi principio attivo compatibile con le nano fibrille di chitina e con la sostanza a carica negativa scelta può essere inglobato nei complessi dell'invenzione.
20 Nella presente domanda sono riportati dati ottenuti in vivo utilizzando la miscela di principi attivi sopra descritti su individui sani che hanno dato il loro consenso informato al trattamento.

I dati ottenuti hanno dimostrato la particolare efficacia dei complessi dell'invenzione a trattamenti in cui il bersaglio è la cute.

25 In particolare, quindi, si potranno scegliere uno o più principi attivi idonei alla cura di malattie cutanee e/o a trattamenti cosmetici della pelle. Ad esempio, i principi attivi potranno essere scelti, tra quelli noti in letteratura per la cura di malattie cutanee quali infezioni fungine, batteriche, virali della pelle, tumori cutanei, dermatiti, eczemi, eritemi, psoriasi, eccetera e potranno essere scelti anche tra quelli noti per il
30 trattamento dell'invecchiamento cutaneo e degli effetti ad esso associati.

I principi attivi potranno essere anche attivi scelti tra quelli idonei al trattamento di danni cutanei quali ferite, cicatrici, ustioni ed altri.

In una forma di realizzazione mirata al trattamento dell'invecchiamento cutaneo e degli effetti ad esso associati, gli uno o più principi attivi potranno essere scelti tra ormoni, immunostimolanti, antiossidanti, antinfiammatori, antibatterici, antifungini, cicatrizzanti, vitamine, oligominerali in un esempio non limitativo, gli ormoni potranno essere scelti nel gruppo comprendente: melatonina e fitoestrogeni ecc; gli immunostimolanti potranno essere scelti nel gruppo comprendente: ectoina, beta-glucano, carbossimetibetaglucano, gluconato, lattato e picolinato di zinco, acidi grassi polinsaturi (PUFA) gli antiossidanti potranno essere scelti nel gruppo comprendente: carotenoidi, polifenoli, acido lipoico, vitamine A, C, E, tocotrienoli, coenzima Q10 e creatina; gli antinfiammatori potranno essere scelti nel gruppo comprendente nicotinammide, l'acido glicirretico, la fitosfingosina, PUFA, corticosteroidi ecc; detti antifungini sono scelti nel gruppo dello zinco piritione e piritione olamina, ketoconazolo ecc.; detti battericidi sono scelti tra fitosfingosina, cloressidina gluconato, glicina, benzoil perossido, ecc.

I carotenoidi potranno ad esempio essere scelti nel gruppo comprendente: beta-carotene, luteina, zeaxantina, licopene, proantocianine, flavonoidi.

In una specifica forma di realizzazione dell'invenzione per il trattamento dell'invecchiamento cutaneo e degli effetti ad esso associati, i principi attivi presenti nei complessi potranno essere, ad esempio, melatonina, Vitamina E e beta-glucano. In una ulteriore forma di realizzazione, la molecola a carica negativa potrà essere una di quelle indicate e in particolare acido ialuronico.

L'invenzione fornisce anche un metodo di preparazione di composizioni farmaceutiche o cosmetiche o kit farmaceutici o cosmetici contenenti i complessi dell'invenzione, comprendente una fase in cui il precipitato dei complessi formati al punto c del metodo sopra descritto, è inserito in un opportuno eccipiente (come ad esempio uno di quelli descritti sotto nella parte riguardante le composizioni) e la miscela così ottenuta è opzionalmente raffinata.

Quando necessario, i complessi potranno essere anche ulteriormente lavati e/o

raffinati per ridurne le dimensioni da micro a nano e/o sterilizzati, ad esempio, mediante filtrazione attraverso un filtro che trattenga i batteri o mediante associazione con agenti sterilizzanti.

Le varie formulazioni ottenibili con il metodo qui descritto sono esemplificate
5 sotto.

I principi attivi idonei al metodo qui descritto sono quelli indicati nella presente descrizione in riferimento ai complessi dell'invenzione.

Esempi di eccipienti e additivi idonei alle varie formulazioni sono riportati sotto in relazione alle formulazioni stesse.

10 Sono ovviamente parte di questa invenzione tutti i prodotti ottenibili attraverso i metodi qui descritti.

Secondo l'invenzione, quindi, i complessi qui descritti potranno essere formulati in una composizione farmaceutica che li comprende unitamente ad almeno un eccipiente farmaceuticamente accettabile e, opzionalmente, uno o più tra adiuvanti e/o
15 additivi farmaceuticamente accettabili.

Alternativamente, i complessi qui descritti potranno essere formulati in una composizione cosmetica che li comprende, unitamente ad almeno un eccipiente cosmeticamente accettabile e, opzionalmente, ad uno o più tra adiuvanti e/o additivi cosmeticamente accettabili.

20 La composizione, farmaceutica o cosmetica, potrà essere formulata, per esempio, per somministrazione topica, orale, rettale, vaginale, sottocutanea e intradermica.

Nel caso in cui le condizioni da trattare riguardino condizioni delle mucose vaginale, rettale o del basso intestino, il termine "somministrazione topica" potrà indicare una somministrazione vaginale, rettale, nasale o oculare. In alcune forme di
25 realizzazione, invece, quando la condizione da trattare riguardi la pelle e non mucose interne, la somministrazione orale potrà essere sostituita dalla somministrazione rettale, anche nella modalità e nel kit di somministrazione combinata, concomitante o sequenziale.

Le composizioni potranno essere realizzate in forme liquide, semiliquide,
30 semisolide, solide o vaporizzabili che potranno essere idonee ad una somministrazione

orale e/o ad una somministrazione topica e potranno contenere diluenti e/o eccipienti comunemente utilizzati nello stato della tecnica.

Formulazioni liquide. Le forme liquide per somministrazione orale potranno includere, oltre ai complessi dell'invenzione, un idoneo veicolo acquoso o non acquoso
5 con tamponi, agenti sospendenti e disperdenti, emulsionanti, solventi, coloranti, aromi e simili.

Ad esempio, potranno includere acqua o altri solventi, agenti solubilizzanti ed emulsionanti quali alcol etilico, alcol isopropilico, etil carbonato, etil acetato, alcol benzilico, benzil benzoato, propilenglicole, 1,3-butilenglicole, dimetilformammide, oli (in
10 particolare oli di semi di cotone, di arachidi, di mais, di germe di grano, di olive e di sesamo), glicerolo, alcol tetraidrofurfurilico, polietilenglicoli ed esteri di acidi grassi di sorbitano e loro miscele. Oltre a diluenti inerti, le composizioni orali potranno includere anche adiuvanti come agenti umettanti, agenti emulsionanti e sospendenti, agenti leganti e dolcificanti, aromatizzanti e profumanti.

15 Formulazioni semiliquide (cerose). Le composizioni per somministrazione rettale o vaginale potranno essere ad esempio supposte che possono essere preparate miscelando i complessi di questa invenzione con eccipienti o veicolanti non irritanti idonei quali burro di cacao, polietilene glicole o una cera per supposte solida a temperatura ambiente ma liquida a temperatura corporea e che si scioglie quindi nel
20 retto o nella cavità vaginale rilasciando il composto attivo.

Formulazioni solide. Forme di dosaggio solido per somministrazione orale includono capsule dure o morbide, liofilizzati, compresse, pasticche, pillole polveri e granuli. In tali forme solide i complessi dell'invenzione sono miscelati con almeno un eccipiente o veicolante inerte farmaceuticamente accettabile come, ad esempio citrato
25 di sodio o di calcio fosfato e/o riempitivi o estensivi (quali amidi, lattosio, saccarosio, glucosio, mannitolo, e acido silicico) leganti; (quali, ad esempio, carbossimetilcellulosa, alginati, gelatina, polivinilpirrolidone, saccarosio); agenti disintegranti (quali agar-agar, carbonato di calcio, amido di patate o tapioca, acido alginico, certi silicati e carbonato di sodio); agenti ritardanti (es. paraffina) acceleratori di assorbimento (quali composti
30 di ammonio quaternario); agenti umidificanti (quali, ad esempio, acido cetilico e

monostearato di glicerolo); assorbenti (quali caolino e argilla di bentonite); lubrificanti (quali talco, stearato di calcio, stearato di magnesio, polietilenglicoli solidi, sodio laurilsolfato) e loro miscele.

Nel caso di capsule, compresse e pillole, la forma di dosaggio potrà
5 comprendere anche agenti tamponanti.

Le composizioni solide come sopra indicate potranno essere anche impiegate per riempire capsule di gelatina rigida o morbida utilizzando eccipienti come lattosio o zucchero di latte come anche polietilenglicoli di alto peso molecolare e simili. Le forme a dosaggio solido di compresse, confetti, capsule, pillole, e granuli si potranno
10 preparare con rivestimenti quali rivestimenti enterici ed altri agenti di rivestimento noti nella tecnica delle formulazioni farmaceutiche. Le formulazioni qui descritte potranno opzionalmente essere realizzate in modo da rilasciare i complessi dell'invenzione solamente o preferenzialmente in certe parti del tratto intestinale, opzionalmente in maniera ritardata.

15 Inoltre, le composizioni dell'invenzione potranno essere formulate per somministrazione topica in forma di unguenti, paste, lozioni, gel, polveri, soluzioni, spray, inalanti, gocce oftalmiche nasali o auricolari, tessuti non tessuti e tessuti high tech, film o cerotti. Nel caso dei tessuti e dei non tessuti le composizioni dell'invenzione potranno essere mescolate nelle opportune dosi con le usuali miscele
20 di chitosano, gelatina, PVA, cellulosa, ecc che vengono normalmente utilizzate per realizzare le fibre mediante electrospinning. Nel caso di film le composizioni potranno essere mescolate con soluzioni di chitosano in adatti solventi che per evaporazione danno luogo a formazione di film elastici e resistenti alla trazione. La componente attiva (o le componenti) è mescolata, preferibilmente in condizioni sterili, con un
25 veicolante farmaceuticamente accettabile e qualsiasi conservante o tampone idoneo secondo la necessità.

I cerotti transdermici potranno essere utilizzati per fornire un rilascio controllato. Potranno anche essere utilizzati esaltatori di assorbimento per aumentare il flusso del composto attraverso la pelle. La velocità di rilascio potrà essere controllata fornendo

una membrana a controllo di velocità o disperdendo il composto in una matrice polimerica o in un gel.

Data la particolare efficacia della somministrazione combinata, la presente invenzione riguarda anche un Kit di parti comprendente una o più aliquote della
5 composizione per la somministrazione orale come qui descritta ed una o più aliquote della composizione per la somministrazione topica come qui descritta intese per uso in associazione.

Le aliquote potranno essere suddivise in modo da permettere la somministrazione del dosaggio unitario sotto forma di una o più dosi giornaliere. Il kit
10 potrà anche comprendere opportuni dispositivi di misurazione della formulazione per uso topico e/o orale, ad esempio siringhe graduate, misurini o simili, potrà fornire sia la formulazione orale sia quella per uso topico in confezioni per singola somministrazione separate individualmente.

Opportunamente, i quantitativi, orale e topico, idonei ad una singola
15 somministrazione, potranno essere confezionati in involucri appaiati (orale+topico) in modo da facilitare la corretta somministrazione delle formulazioni qui descritte.

La presente invenzione riguarda anche l'uso dei complessi, delle composizioni o dei kit come qui descritti, per uso medico.

In una forma di realizzazione tale uso medico potrà essere per il trattamento di
20 condizioni patologiche e/o di alterazioni della pelle e/o degli annessi cutanei (unghie e capelli).

Queste alterazioni potranno essere ad esempio il crono invecchiamento cutaneo, il foto invecchiamento cutaneo, cambiamenti temporanei o definitivi della pelle, quali, pelle grassa o secca, cheratosi, rosacea, sensibilità alla luce, macchie
25 cutanee, depigmentazione, infiammazione; reazioni allergiche o autoimmuni quali dermatosi e fotodermatosi; cicatrizzazioni anomale quali distrofia cutanea e formazioni di cheloidi, atrofia della pelle; perdita di elasticità della pelle, rughe, linee sottili, smagliature o cellulite.

I complessi, le composizioni o il kit dell'invenzione potranno essere
30 opportunamente utilizzati anche nel trattamento di patologie cutanee delle mucose o

del cuoio capelluto come ad esempio di cheratinizzazione errata, acne, eczema, infiammazione e atrofia della pelle o delle mucose, infezioni, micosi, batteriosi, lupus eritematosus, dermatite atopica, psoriasi, eczema, dermatite allergica, reazioni da ipersensibilità, ustioni, secchezza oculare, cataratta, degenerazione maculare, secchezza vaginale e cancro, alle mucose, cancro alla pelle, melanoma cutaneo, tumore colo rettale, tumore della vagina, nel trattamento del cuoio capelluto le composizioni o il kit dell'invenzione potranno essere utilizzati per il controllo dell'alopecia androgenetica o nelle diverse forme di alopecia sia maschile che femminile o nelle varie forme di irsutismo in un paziente che lo necessiti, in cui detti complessi sono somministrati a detto paziente in dosi terapeuticamente efficaci.

I principi attivi potranno essere formulati seguendo posologie e dosaggi terapeuticamente efficaci, come ad esempio quelli attualmente utilizzati in altre preparazioni per il trattamento desiderato oppure con dosaggi minori, anche fino al 50% o meno di quelli descritti in letteratura.

La somministrazione di detti principi attivi potrà essere per via orale, per via topica o per via orale + via topica in concomitanza, per via vaginale, per via rettale, nasale e oculare.

Per dose terapeuticamente efficace s'intende una dose che consenta l'ottenimento dell'effetto terapeutico desiderato nel paziente trattato. Nel caso specifico, una dose terapeuticamente efficace sarà una dose (somministrata in uno o più dosaggi unitari nell'arco del tempo) che porti ad una riduzione parziale o totale del problema di interesse nel paziente trattato.

La dose terapeuticamente efficace potrà essere, come indicato sopra, somministrata in uno o più dosaggi unitari per via orale e/o topica (dove orale o topica possono essere sostituite da vaginale o rettale come sopra indicato) e la somministrazione potrà essere associata per via orale e topica, in via concomitante o sequenziale.

Il termine "forma di dosaggio unitario" "dose unitaria" o "dosaggio unitario" si riferisce ad un'unità fisica discreta idonea a dosaggi unitari per soggetti umani o animali, ciascuna dose unitaria contenendo una quantità di materiale attivo

predeterminata calcolata per produrre l'effetto terapeutico desiderato, in associazione con un eccipiente farmaceutico idoneo.

Il tecnico del settore potrà utilizzare come riferimento, quando sono utilizzati principi attivi noti, l'attuale dosaggio unitario per tali principi attivi e potrà facilmente
5 adattarlo alle formulazioni della presente invenzione.

Nella particolare forma di realizzazione in cui le formulazioni sono somministrate in modo concomitante per via topica e per via orale, il dosaggio unitario complessivo sarà all'incirca equivalente a quello per la sola somministrazione topica o orale, e le formulazioni saranno quindi opportunamente preparate in modo da
10 permettere la somministrazione di un mezzo del dosaggio unitario per via topica e di un mezzo del dosaggio unitario per via orale circa.

La proporzione tra quanto somministrato per via orale e per via topica potrà variare ad esempio tra 10:90 a 90:10 delle due somministrazioni. Per esempio, il 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 o 90% del dosaggio unitario potrà essere somministrato per
15 via orale e, rispettivamente, circa il 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20 o 10% del dosaggio unitario per via topica, in modo da somministrare comunque in concomitanza, circa il 100% di detto dosaggio unitario.

A titolo di esempio, ogni dose unitaria per via orale nella formulazione comprendente melatonina, vitamina E e beta glugano, potrà comprendere circa da 1 a
20 2 mg di ciascun principio attivo, ad esempio circa 1; 1,1; 1,2; 1,3; 1,4; 1,5; 1,6; 1,7; 1,8; 1,9; 2 mg di ciascun principio attivo complessato individualmente con circa 1,2-1,6 mg, ad esempio 1,2; 1,3; 1,4; 1,5; 1,6 mg di nano fibrille di chitina/acido ialuronico.

La composizione topica potrà avere concentrazioni finali degli ingredienti desiderati note, ad esempio potrà contenere da circa 0,5 microgrammi a 500
25 microgrammi/ml a seconda che si tratti di una composizione intesa per applicazioni intensive concentrate, o per applicazioni più estese come ad esempio per il viso, per il corpo o per parti del corpo localizzate.

Nella presente descrizione i termini "comprendente", "comprende" e "comprendono" potranno essere opzionalmente limitati mediante l'uso dei termini
30 "consistente in", "consiste in" e "consistono in" rispettivamente, .

I seguenti esempi ed esperimenti hanno lo scopo di illustrare l'invenzione ed i suoi effetti in una delle possibile forme di realizzazione e non sono da intendersi per nessun motivo come limitativi della stessa.

5 **SEZIONE SPERIMENTALE**

Nei seguenti esperimenti esemplificativi sono stati realizzati complessi di nano chitina comprendenti, come molecola caricata negativamente, acido ialuronico e, come principi attivi, melatonina, vitamina E e beta glucano. I complessi sono stati formulati in composizioni per somministrazione topica e per somministrazione orale e sono stati
10 saggiati in vivo su pazienti sani informati che presentavano segni di invecchiamento della pelle.

Le composizioni sono state saggiate clinicamente per il loro effetto sull'idratazione della pelle, sulla presenza di lipidi superficiali sulla pelle, sulla per ossidazione dei lipidi cutanei, e sull'elasticità della pelle.

15 Le composizioni sono state somministrate in gruppi separati per via topica, per via orale e in via combinata topica + orale. Gli effetti delle diverse vie di somministrazione sono stati paragonati tra di loro e rispetto a un gruppo di controllo cui era somministrato un placebo.

E' stata paragonata anche l'efficacia dei complessi rispetto ad una miscela
20 degli stessi principi attivi non complessata con nano fibrille di chitina secondo il metodo qui descritto.

I saggi sotto riportati mostrano come i complessi dell'invenzione aumentano in maniera rimarchevole non solo l'efficacia degli ingredienti attivi ma come questi ne migliorano la penetrazione attraverso la pelle.

25 La maggiore efficacia e la migliore capacità di penetrazione sono da ascrivere alla struttura dei complessi qui descritti e sono quindi trasferibili per analogia a principi attivi, formulati nei complessi dell'invenzione, diversi da quelli qui esemplificati.

1. Materiali e metodi

E' stato realizzato un test clinico di dodici settimane paragonando, come detto
30 sopra, composizioni (orale e topica) comprendenti complessi dell'invenzione

comprendente i principi attivi melatonina, vitamina E e beta glucano, complessati con nano fibrille di chitina e acido ialuronico (indicati, come le composizioni che li comprendono, anche come CN-MEB), una miscela degli stessi principi attivi non complessati (indicati, come le composizioni che li comprendono, anche come MEB) e
 5 una composizione placebo identica alle composizioni sopra ma priva dei complessi CN-MEB o dei principi attivi MEB). Sono stati valutati clinicamente, secondo parametri biofisici non invasivi, gli effetti di MEB (non complessati) e CN-MEB (complessati) somministrati per via orale, topica, orale + topica. L'applicazione topica era effettuata sul volto e/o sul braccio destro di soggetti volontari informati. Sono state controllate
 10 settanta donne sane di età compresa tra i 22 e i 45 anni. Tutti i soggetti mostravano effetti di foto invecchiamento ed hanno firmato un consenso informato e il protocollo per lo studio è stato approvato dai comitati etici appropriati. I test effettuati, controllati da dermatologi per verificare le condizioni delle pelle, sono mostrati sotto in Tabella 1.

15 **Tab I** Modalità di somministrazione esemplificativa per 2 giorni

	ORALE		TOPICO	
1 PLACEBO	Placebo	2 x giorni	Placebo	2 x giorni
2 MEB TOPICO	Placebo	2 x giorni	MEB	2 x giorni
3 MEB ORALE	MEB	2 x giorni	Placebo	2 x giorni
4 MEB COMBINATO ?	MEB	2 x giorni	MEB	2 x giorni
5 CN-MEB TOPICO	Placebo	2 x giorni	CN-MEB	2 x giorni
6 CN-MEB ORALE	CN-MEB	2 x giorni	Placebo	2 x giorni
7CN-MEB COMBINATO	CN-MEB	2 x giorni	CN-MEB	2 x giorni

MEB = melatonina, Vit. E, betaglucano;

CN-MEB = complessi di nanofibrille di chitina, acido ialuronico, melatonina, Vit. E, betaglucano

20 Nella prima colonna sono indicate le analisi effettuate (modalità di somministrazione utilizzata e prodotto saggiato), le colonne "orale" e "topico" indicano quale formulazione è stata somministrata in ciascun caso. Ad esempio, colonna 1 riga 3, la somministrazione valutata era MEB orale, per questa valutazione è stato somministrato il MEB mentre oralmente è stato somministrato un placebo.

25 **2. Prodotti saggiati**

Sono stati impiegati melatonina, Vit. E, betaglucano non complessati e complessati con nano fibrille di chitina e acido ialuronico in forma di capsule orali dure e come nano emulsione topica realizzata da MAVI SUD (Aprilia, Italia).

I complessi CN sono stati ottenuti secondo il protocollo qui descritto nella sezione
5 dettagliata. Ciascuna capsula attiva conteneva una miscela dei complessi con nano fibrille di chitina (anche indicate come CN nella descrizione) in quantità di 1,6 mg per ciascun ingrediente attivo (in questo caso melatonina, Vit. E, betaglucano) individualmente complessato con 1,4 mg di nano fibrille di chitina/acido ialuronico dispersi in butilen glicole.

10 L'emulsione attiva utilizzata conteneva MEB o i complessi CN-MEB in modo da ottenere una concentrazione finale di 2 microgrammi/ml di ciascun ingrediente attivo.

I soggetti analizzati hanno ingerito una capsula due volte al giorno (mattino e sera) per la somministrazione orale, insieme ai pasti. La somministrazione topica è stata realizzata mediante applicazione dei prodotti su volto, collo e braccio destro dopo
15 pulizia delle aree di pelle interessate con un latte detergente.

La somministrazione combinata era uguale ma con la metà del dosaggio per ciascun tipo di somministrazione.

3. Misurazione dell'idratazione della pelle e dei lipidi superficiali della pelle.

20 L'idratazione della pelle e i lipidi superficiali della pelle sono stati valutati utilizzando la metodologia 3C system descritta da Cardillo e Morganti "A fast non invasive method for skin hydration control" J. Appl. Cosmetol 12 11-13 1994. Questo strumento (Dermotech Italia Srl) ha una sonda separata per i parametri da saggiare. Le sonde su questo strumento computerizzato raccolgono fino a 15 letture separate su un periodo
25 di campionatura di 25 secondi. Nei giorni in cui sono stati iniziati gli esperimenti, la pelle è stata pulita al mattino prima di prendere le misure e lasciata indisturbata fino al completamento delle misure. Il prodotto saggiato mediante somministrazione topica era applicato solo a misure terminate. Le letture effettuate su ciascun individuo sono state prese nella zona tra il naso e la guancia ed è stata effettuata una media delle
30 misure automaticamente per ogni soggetto valutato. Il valore medio risultante è stato

registrato dopo standardizzazione per le condizioni ambientali (umidità relativa 50%, temperatura 22 gradi centigradi). La sonda impiegata nel sistema 3C per le misure di idratazione della pelle attribuisce in modo specifico la capacitance totale dell'epidermide. I valori, espressi in unità arbitraria dal sistema controllato da
5 calcolatore, sono riportati automaticamente come aumento di percentuale rispetto a valori di partenza misurati nei 15 giorni precedenti lo studio. Tutte le misure di idratazione della pelle sono state prese in condizioni standardizzate secondo quanto descritto in Pinnagoda J. Standardization of measurements. (1994) In: Elsner P, Berardesca E, and Maibach H, eds. Bioengineering and the skin: water and stratum
10 corneum. Boca Raton: CRC Press; 59-65.

La sonda impiegata nel sistema 3C per misurare i lipidi superficiali della pelle utilizza una superficie di foglio di plastica opaca di un centimetro quadrato che diventa trasparente in modo direttamente proporzionale alla quantità di lipidi presenti sulla pelle. Il cambiamento nella trasmissione della luce del foglio è registrato
15 automaticamente dal sistema 3C e convertito in milligrammi di lipidi per centimetro quadrato di superficie di pelle. Questi valori convertiti sono riportati automaticamente come aumento in percentuale dei lipidi superficiali della pelle da valori di partenza misurati nei 15 giorni precedenti l'inizio dello studio dal sistema controllato da calcolatore.

20

4. Elasticità della pelle

L'elasticità della pelle è stata controllata sull'avambraccio destro utilizzando uno strumento Dermaflex A instrument (Cortex Technology, Hadsund, Denmark) secondo il metodo descritto in Gniadecka M, Serup J. (1995) (Suction chamber method for
25 measurement of skin mechanical properties: the Dermaflex. In: Serup J, Jemec G, eds. Handbook of non-invasive methods and the skin. Boca Raton: CRC Press; 329-334). Questo strumento misura l'estensione della pelle in risposta ad una suzione sotto vuoto indotta sopra il sito di pelle da saggiare con un vuoto di 300 millibar con una esposizione di 20 secondi e 5 cicli di misurazione. La ritrazione elastica relativa (RER)
30 è stata calcolata mediante l'equazione descritta nel lavoro di Gniadecka et al citato

sopra. I valori ottenuti sono stati calcolati come aumento in percentuale rispetto ai valori iniziali misurati nei 15 giorni precedenti l'inizio dello studio.

5. Perossidazione dei lipidi della pelle

5 I valori relativi al grado di ossidazione dei lipidi della pelle sono stati determinati mediante il metodo descritto in Ohkido M, Yoshino K, Matsuo I (1980) (Lipid peroxide of human skin. Curr Probl Dermatol 10:269-78). La quantità di perossidi lipidi presenti nella pelle è stata misurata in termini di quantità di malondialdeide (MDA) generata nei lipidi della pelle dopo irradiazione del sito con effettuata mediante una esposizione
10 misurata (5.6 erg/cm²/min per 2 minuti) emessa da una fonte di luce UV ad alta pressione (Lampada Osram 300 Watt nella regione di lunghezza d'onda tra 240 e 320 nm) equipaggiata con un monocrometro e foto rilevatore (Modello IL700 International Light, Newbury, Massachussets, USA). Dieci minuti dopo l'irraggiamento, i lipidi cutanei sono stati estratti dalla superficie della pelle del braccio mediante il metodo
15 della tazza utilizzando due estrazioni con acetone per un volume totale di 10 ml. La procedura di estrazione e la quantificazione di MDA sono descritti in Ohkido 1980. In sostanza, si aggiunge un'aliquota dei lipidi estratti con sodio dodecil solfato in acqua distillata, si porta a pH 4 con acido acetico al 20%. Si aggiunge quindi a questo mezzo acido tiobarbiturico e si riscalda l'intera miscela a 95 °C per 60 minuti. Dopo
20 raffreddamento a temperatura ambiente si aggiunge n-butanolo e si centrifuga il campione. Si misura quindi l'assorbimento dello strato di n-butanolo con uno spettrofotometro a 532nm. La quantità dei lipidi cutanei ossidati è riportata in ng di MDA per 100 mg di lipide.

6. Valutazioni statistiche

25 Tutti i risultati (riportati nelle figure) sono presentati come il valore medio +1 deviazione standard. I valori di deviazione standard ottenuti in questo studio erano simili a quelli ottenuti in Palombo P, Fabrizi G, Ruocco V, Ruocco, Flühr J, Roberts R, and Morganti P. (2007) (Beneficial long-term effects of combined oral/topical antioxidant treatment with carotenoids lutein and zeaxanthin on human skin: A double-blinded, placebo-
30 controlled study in humans Skin. Pharmacol Physiol, 20:199-210). I valori di partenza

sono stati impiegati nelle valutazioni statistiche se idonee. Le valutazioni statistiche sono state effettuate con il programma GraphPad Prism® 4 (GraphPad Software Inc., San Diego, California, USA). Tutte le valutazioni statistiche sono state condotte come analisi a due code ad un intervallo minimo di confidenza del 95% A ($p < 0.05$) utilizzando misure ripetute ANOVA e un post test Tukey per determinare le differenze statisticamente significative nei risultati. I paragoni statistici impiegati tra ciascuno dei tre trattamenti MEB e CN-MEB (orale, topico, combinato), ed il trattamento placebo sono stati effettuati alle stesse settimane di valutazione 4,8,12 al fine di dimostrare anche un paragone sull'effetto continuativo dei trattamenti di MEB rispetto a CN-MEB.

7. Valutazione clinica

Attibuzione del foto invecchiamento.

Secondo un precedente studio in Morganti P, Fabrizi G (1999) safety evaluation of phytosphingosine and ceramides of pharmaceutical grade. J. Appl. Cosmetol 17: 1-9, sono state effettuate valutazioni cliniche al giorno 1 (valore di partenza) e alle settimane 4, 8 e 12 (fine del trattamento). L'esame della pelle per quanto riguarda il foto invecchiamento è stato valutato utilizzando una scala analogica di punteggio visivo su: grado e comparsa di rughe sottili nell'area laterale periorbitale, secchezza senile, atrofia della pelle (assottigliamento), macchie scure e teleangectasia sull'intero viso dei soggetti. I misurati punteggi della scala erano: 0 pelle normale, 1-3 presenza di rughe sottili, 4-6 moderata presenza di raggrinzimenti con alcune macchie scure, 7-9 elevata presenza di rughe, macchie scure con telangectasia.

10. Risultati e commenti

La somministrazione di MEB soli o complessati con le nanofibrille di chitina (CN-MEB), ha posto in evidenza cambiamenti risultati statisticamente significativi in tutti i parametri valutati ($p < 0.05$) mostrando il cambiamento maggiore con il trattamento combinato topico + orale ($p < 0.005$). Inoltre, i trattamenti orale, topico e combinato con MEB-CN risultavano sempre statisticamente significativi in tutti i parametri saggiati non solo rispetto al placebo ($p < 0.005$), ma anche rispetto a tutte le

combinazioni MEB. Le figure 1 e 2 mostrano che, mentre l'idratazione topica della pelle e i lipidi di superficie della pelle risultavano statisticamente maggiori ($p < 0.05$) rispetto ai trattamenti con somministrazione orale sia con MEB che con CN-MEB, tutti i valori ottenuti con CN-MEB risultavano superiori rispetto alla somministrazione orale o topica del solo MEB, con un aumento maggiore alla settimana 12, data la supposta maggiore stabilità dei complessi dell'invenzione rispetto ai principi attivi non complessati. I dati sull'elasticità della pelle in figura 3 mostrano come i valori di CN-MEB topici ed orali risultavano statisticamente superiori ($p < 0.05$) rispetto ai valori corrispondenti per le somministrazioni orale, topica e combinata di MEB. Tuttavia, i risultati ottenuti per ciascuna delle settimane valutate non erano significativamente differenti tra loro ad esclusione della settimana 12 ($p < 0.05$).

Sono stati ottenuti gli stessi risultati statisticamente significativi per la riduzione nella perossidazione dei lipidi della pelle, misurati come quantitativo di MDA formandosi nel periodo di studio rispetto al placebo. Il trattamento combinato orale + topico ha mostrato la maggiore diminuzione continua nella perossidazione dei lipidi, in particolare con i complessi CN-MEB, risultata statisticamente significativa settimanali per tutte le settimane valutate ($p < 0.05$). In accordo con i risultati ottenuti con le misure biofisiche, la valutazione clinica (fig.5) ha confermato la maggiore efficacia della somministrazione combinata orale + topica ($p < 0.05$), che è ulteriormente aumentata quando i principi attivi MEB sono stati complessati con CN ($p < 0.05$). Inoltre, a differenza dei saggi effettuati con le determinazioni biofisiche, l'efficacia clinica aumenta in continuazione dalla settimana 4 alla settimana 12.

Di conseguenza, gli studi sopra riportati indicano che la somministrazione di principi attivi complessati con nano fibrille di chitina (CN) legata a sua volta ad un polimero idoneo a carica negativa come qui descritto, e in particolare somministrati in combinazione per via topica e orale, forniscono molteplici effetti vantaggiosi nei trattamenti della pelle o di epitelii trattabili analogamente per via topica.

BIBLIOGRAFIA

- Cardillo A, Morganti P. (1994) A fast non-invasive method for skin hydration control. *J. Appl Cosmetol* 12:11-13.
- Gniadecka M, Serup J. (1995) Suction chamber method for measurement of skin mechanical properties: the Dermaflex. In: Serup J, Jemec G, eds. *Handbook of non-invasive methods and the skin*. Boca Raton: CRC Press; 329-334.
- 5 -Morganti P, Fabrizi G (1999) safety evaluation of phytosphingosine and ceramides of pharmaceutical grade. *J. Appl. Cosmetol* 17: 1-9
- Ohkido M, Yoshino K, Matsuo I (1980) Lipid peroxide of human skin. *Curr Probl Dermatol* 10:269-78.
- 10 -Palombo P, Fabrizi G, Ruocco V, Ruocco, Flühr J, Roberts R, and Morganti P. (2007) Beneficial long-term effects of combined oral/topical antioxidant treatment with carotenoids lutein and zeaxanthin on human skin: A double-blinded, placebo-controlled study in humans *Skin. Pharmacol Physiol*, 20:199-210
- Pinnagoda J. Standardization of measurements. (1994) In: Elsner P, Berardesca E, and Maibach H, eds. *Bioengineering and the skin: water and stratum corneum*. Boca Raton: CRC Press; 59-65.
- 15

RIVENDICAZIONI

- 1 Complessi di nano fibrille di chitina in associazione con almeno un polimero a carica negativa scelto nel gruppo comprendente: acido ialuronico, collagene, fosfolipidi, peptidi naturali o sintetici scelti nel gruppo comprendente peptidi polifenolici, poliglucosidi, polimeri o oligomeri siliconici e uno o più principi attivi.
- 5
- 2 Complessi di nano fibrille di chitina secondo la rivendicazione 1 in cui detti uno o più principi attivi sono scelti tra ormoni, immunostimolanti, antiossidanti, antinfiammatori, antibatterici, antifungini, cicatrizzanti, vitamine, oligominerali.
- 10
3. Complessi secondo la rivendicazione 2 in cui detti ormoni sono scelti nel gruppo comprendente: melatonina e fitoestrogeni; detti immunostimolanti sono scelti nel gruppo comprendente: ectoina, beta-glucano, carbossimetilbetaglucano, gluconato, lattato picolinato di zinco, acidi grassi polinsaturi PUFA; detti antiossidanti sono scelti nel gruppo comprendente: carotenoidi, polifenoli, acido lipoico, vitamine A, C, E, tocotrienoli, coenzima Q10 e creatina; detti antinfiammatori sono scelti nel gruppo comprendente nicotinammide, acido glicirretico, fitosfingosina, acidi grassi polinsaturi PUFA, corticosteroidi; detti antifungini sono scelti nel gruppo dello zinco piritione e piritione olamina, ketoconazolo e detti battericidi sono scelti nel gruppo comprendente fitosfingosina, cloressidina gluconato, glicina, benzoil perossido.
- 15
- 20
4. Complessi secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 3 in cui detti uno o più principi attivi sono melatonina, Vitamina E e beta-glucano e detta molecola a carica negativa è acido ialuronico.
- 25
5. Complessi secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 4 per uso in un trattamento medico.
6. Complessi secondo la rivendicazione 5 per uso in trattamenti di patologie cutanee.
- 30

7. Complessi secondo la rivendicazione 5 o 6 in cui detti trattamenti sono per somministrazione topica, orale, intradermica sottocutanea, vaginale, oculare, nasale, rettale o loro combinazioni

5

8. Complessi secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 7 per uso nel trattamento del crono invecchiamento cutaneo, del foto invecchiamento cutaneo, di cambiamenti temporanei o definitivi della pelle, quali acne, pelle grassa o secca, cheratosi, rosacea, sensibilità alla luce, macchie cutanee da depigmentazioni o iperpigmentazioni, processi di xerosi e/o infiammazione cutanea; da reazioni allergiche o autoimmuni quali dermatosi e fotodermatosi; forme anormali di cicatrizzazione cutanea quali la formazione di cicatrici ipertrofiche o cheloidi; stati di atrofia della pelle; perdita di elasticità; e/o nel trattamento per ridurre la comparsa di rughe, linee sottili, smagliature o cellulite; nel trattamento di forme di ipercheratosi cutanee, quali acne, eczema, lupus eritematosus, dermatite atopica, psoriasi, dermatite allergica e/o da contatto, reazioni da ipersensibilità, cancro alla pelle, melanoma cutaneo, secchezza delle mucose vaginali e/o oculari, forme di cataratta e degenerazione della macula oculare in un paziente che lo necessita, in cui detti complessi sono somministrati a detto paziente in dosi terapeuticamente efficaci.

20

9. Composizione comprendente i complessi secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 8, un idoneo eccipiente e opzionalmente idonei adiuvanti e/o additivi.

25 10. Composizione secondo la rivendicazione 9 in cui detta composizione è una composizione farmaceutica o cosmetica..

11. Composizione secondo la rivendicazione 9 o 10 per somministrazione topica, orale, intradermica sottocutanea, vaginale, oculare, nasale, rettale o loro combinazioni.

30

12. Composizione secondo la rivendicazione 11 in forma di soluzione, soluzione colloidale, lozione, crema, macro-micro o nano emulsione, dispersione, gel, spray, schiuma, film, maschera facciale, tessuti o non tessuti bioattivi, compressa, capsula dura o morbida, polvere, granuli, liofilizzato, sciroppo, elisir.

5

13. Kit per somministrazione concomitante o in sequenza comprendente una o più aliquote della composizione secondo la rivendicazione 10 per somministrazione orale e una o più aliquote della composizione secondo la rivendicazione 10 per somministrazione topica.

10

14. Uso della composizione secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 9 a 12 o del kit secondo la rivendicazione 13 in un metodo per il trattamento del crono invecchiamento cutaneo, del foto invecchiamento cutaneo, di cambiamenti temporanei o definitivi della pelle, quali sensibilità alla luce, macchie cutanee dovute a iper o ipopigmentazioni, forme di xerosi e infiammazione; reazioni allergiche o autoimmuni quali dermatosi e fotodermatosi; forme di atrofia e/o perdita di elasticità della pelle quali le cicatrici ipertrofiche o i cheloidi; e/o nel trattamento della pelle grassa o secca o che necessiti una riduzione della comparsa di rughe, linee sottili, smagliature o cellulite nel trattamento di patologie cutanee legate a cheratinizzazione errata quali
15 acne, eczema, lupus eritematosus, dermatite atopica, psoriasi, dermatite allergica, reazioni da ipersensibilità, cancro alla pelle, melanoma cutaneo, secchezza della mucosa vaginale, oculare o orale con comparsa di vaginiti, cataratta o degenerazione della macula oculare, stomatiti e forme infiammatorie della lingua in un paziente che lo
20 necessiti, in cui detti complessi sono somministrati a detto paziente in dosi
25 terapeutivamente efficaci.

15. Uso secondo la rivendicazione 14 in cui detta composizione è somministrata al paziente per via topica, per via orale, oculare, nasale, per via rettale, per via vaginale e/o in concomitanza o in sequenza per via topica e per via orale in cui detta via topica
30 comprende somministrazione attraverso bio-tessuti o non-tessuti, o film.

16. Metodo di preparazione di complessi di nano fibrille di chitina in associazione con almeno un polimero a carica negativa scelto nel gruppo comprendente: acido ialuronico, collagene, fosfolipidi poliglucosidi, peptidi naturali, sintetici scelti nel gruppo
5 comprendente, polipeptidi, peptidi polifenolici, polimeri o oligomeri siliconici e uno o più principi attivi comprendente i seguenti passaggi:

a) si prepara una prima componente agitando da 5 min a 2 hr una miscela in mezzo acquoso di nanofibrille di chitina dal 0,1% a 10% (peso/volume) ed uno o più di detti principi attivi;

10 b) si prepara una seconda componente sospendendo in mezzo acquoso da 0,1% a 10% di almeno uno di detti polimeri a carica negativa e opzionalmente uno o più di detti principi attivi;;

c) si miscelano la prima e la seconda componente per circa 1 ora con ottenimento di un precipitato dei complessi e un surnatante.

15

17. Metodo secondo la rivendicazione 16 in cui il precipitato ottenuto al passaggio (c) è separato dal surnatante.

18. Metodo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 16 o 17 in cui la miscela o il
20 precipitato ottenuti al passaggio c) sono sottoposti ad ulteriori passaggi sotto pressione attraverso una turbina, cilindri, ottenendo quindi particelle di dimensioni micrometriche o nanometriche

19. Metodo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 16 a 18 in cui detti uno o più principi attivi sono scelti tra ormoni, immunostimolanti, antiossidanti,
25 antinfiammatori, antibatterici, antifungini, cicatrizzanti, vitamine, oligominerali.

20. Metodo secondo la rivendicazione 19 in cui detti ormoni sono scelti nel gruppo comprendente: melatonina e fitoestrogeni; detti immunostimolanti sono scelti nel gruppo comprendente: ectoina, beta-glucano, carbossimetibetaglucano, gluconato,
30 lattato picolinato di zinco, acidi grassi polinsaturi PUFA; detti antiossidanti sono scelti

nel gruppo comprendente: carotenoidi, polifenoli, acido lipoico, vitamine A, C, E, tocotrienoli, coenzima Q10 e creatina; detti antinfiammatori sono scelti nel gruppo comprendente nicotinammide, acido glicirretico, fitosfingosina, acidi grassi polinsaturi PUFA, corticosteroidi; detti antifungini sono scelti nel gruppo dello zinco
5 piritione olamina, ketoconazolo e detti battericidi sono scelti nel gruppo comprendente fitosfingosina, cloressidina gluconato, glicina, benzoil perossido.

21. Metodo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 16 a 20 in cui almeno un principio attivo è liposolubile e in cui la componente che lo contiene comprende un
10 tensioattivo.

22 Metodo di preparazione di composizioni farmaceutiche o cosmetiche contenenti complessi di nano fibrille di chitina in associazione con almeno un polimero a carica negativa scelto nel gruppo comprendente: acido ialuronico, collagene, fosfolipidi e/o
15 peptidi naturali e/o sintetici scelti nel gruppo comprendente peptidi polifenolici, poliglucosidi, polimeri o oligomeri siliconici e uno o più principi attivi, comprendente una fase in cui il precipitato dei complessi secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 5 è inserito in un opportuno eccipiente e la miscela così ottenuta è opzionalmente ulteriormente raffinata.

20

23. Metodo secondo la rivendicazione 22 in cui detti uno o più principi attivi sono scelti tra sono scelti tra ormoni, immunostimolanti, antiossidanti, antinfiammatori, antibatterici, antifungini, cicatrizzanti, vitamine, oligominerali.

24. Metodo secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 22 o 23, in cui la
25 composizione è una composizione per uso mediante via topica, orale, oculare, nasale, rettale, vaginale e/o in concomitanza o in sequenza per via topica e per via orale in cui detta via topica comprende somministrazione attraverso bio-tessuti o non-tessuti, o film.

30

WHAT IS CLAIMED IS

CLAIMS

- 5 1 Chitin nanofibrils complexes in association with at least one negatively charged polymer selected from the group comprising: hyaluronic acid, collagen, phospholipids, natural or synthetic peptides selected from the group comprising: polyphenol peptides, polyglucosides, silicone polymers or oligomers and one or more active principles
- 10 2 Chitin nanofibrils complexes according to claim 1, wherein said one or more active principles are selected from hormones, antioxidants, immunostimulants, anti-inflammatories, cicatrizants, antibacterials, antifungals, vitamins, oligominerals.
- 15 3. Complexes according to claim 2, wherein said hormones are selected from the group comprising: melatonin, phytoestrogens; said immunostimulants are selected from the group comprising: ectoin, beta-glucan, carboxymethylbetaglukan, gluconate, lactate, zinc picolinate, polyunsaturated acids PUFA; said antioxidants are selected from the group comprising: carotenoids, polyphenols, lipoic acid, vitamin A, C, E, tocotrienols coenzyme Q10 and creatine, said anti-inflammatories are selected from
- 20 the group comprising nicotinamide, glycyrrhetic acid, phytosphingosine, polyunsaturated acids PUFA, corticosteroids said antifungals are selected from the group comprising zinc pyrithion, pyrithion olamine or ketolonazole, and said antibacterials are selected from phytosphingosine, chlorexidine, gluconate, glycine, benzoyl peroxyde.
- 25 4. Complexes according to any one of claims 1-3, wherein said one or more active principles are melatonin, Vitamin E and beta-glucan and said negatively charged molecule is hyaluronic acid.
- 30 5. Complexes according to any one of claims 1-4 for use in a medical treatment.
6. Complexes according to claim 5 for use in treatments of cutaneous diseases.

7. Complexes according to claim 5 or 6, wherein said treatments are for topic, oral, intradermal, subcutaneous, vaginal, ocular, nasal, rectal administration or combinations thereof.

5

8. Complexes according to any one of claims 1-7 for use in the treatment of cutaneous chrono-aging, cutaneous photo-aging, temporary or permanent changes of skin, such as acne, oily or dry skin, keratosis, rosacea, light sensitivity, cutaneous stains from depigmentation or hyper-pigmentation, cutaneous xerosis and/or inflammation processes; from allergic or autoimmune reactions such as dermatosis and photo-dermatosis; abnormal cutaneous healing forms such as formation of hypertrophic scars or keloids; atrophy skin states; loss of elasticity; and/or in the treatment for reducing wrinkles, fine lines, stretch marks or cellulite appearance; in the treatment of hyperkeratosis cutaneous forms such as acne, eczema, lupus
10 eritematosus, atopic dermatitis, psoriasis, allergic and/or contact dermatitis, hypersensitivity reactions, skin cancer, cutaneous melanoma, vaginal and/or eye mucosal dryness, cataract forms and degeneration of ocular macula in a patient that needs it, wherein said complexes are administered to said patient in effective therapeutically amounts.

20

9. A composition comprising the complexes according to any one of claims 1-8, a suitable excipient and optionally suitable adjuvants and/or additives.

10. The composition according to claim 9, wherein said composition is a
25 pharmaceutical or a cosmetic composition.

11. The composition according to claim 9 or 10 for topical, oral, intradermal, subcutaneous, vaginal, nasal, rectal administration or combinations thereof.

30 12. The composition according to claim 11 in form of solution, colloidal solution,

lotion, cream, macro-macro or nano emulsion, dispersion, gel, spray, foam, film, face mask, bioactive material or no material, tablet, hard or soft capsule, powder, granules, freeze-dried, syrup, elixir.

5 13. Kit for concomitant or sequential administration comprising one or more aliquots of the composition according to claim 10 for oral administration and one or more aliquots of the composition according to claim 10 for topic administration.

14. Use of the composition according to any one of claims 9-12 or of the kit
10 according to claim 13 in a method for the treatment of cutaneous chrono-aging, cutaneous photo-aging, temporary or permanent changes of skin, such as acne, fat or dry skin, keratosis, rosacea, light sensitivity, cutaneous stains due to hyper or hypopigmentation, xerosis and inflammation forms; allergic or autoimmune reactions such as dermatosis and photo-dermatosis; atrophy forms and/or loss of elasticity of skin
15 such as hypertrophic scars or keloids; and/or in the treatment of oily or dry skin or in needing reduction of wrinkles, fine lines, stretch marks or cellulite appearance; in the treatment of cutaneous diseases related to a wrong keratinisation such as acne, eczema, lupus eritematosus, atopic dermatitis, psoriasis, allergic and/or contact dermatitis, hypersensitivity reactions, skin cancer, cutaneous melanoma, vaginal, oral
20 or eye mucosal dryness with the appearance of vaginitis, cataract or degeneration of ocular macula, stomatitis and lingual inflammatory forms in a patient that needs it, wherein said complexes are administered to said patient in therapeutically effective amounts.

25 15. Use according to claim 14, wherein said composition is administered to the patient by topic, oral, ocular, nasal, rectal, vaginal route and/or in concomitance or in sequence by topic and oral route wherein said topic route also comprises administration by means of bio-materials or no-material, or film.

30 16. A method for the manufacture of chitin nanofibrils complexes in association

with at least a negatively charged polymer selected from the group comprising: hyaluronic acid, collagen, phospholipids, natural or synthetic peptides selected from the group comprising: polyphenol polypeptides or peptides, silicone polymers or oligomers and one or more active principles comprising the following steps:

- 5 a) preparing a first component by stirring from 2 minutes to 2hr a mixture in a aqueous medium of chitin nanofibrils from 0.1% to 10% (weight/volume) and one or more of said active principles;
- b) preparing a second component by suspending in aqueous medium from 0.1% to 10% of at least one of said negatively charged polymers and
10 optionally one or more of said active principles;
- c) mixing the first and the second component for about 1hr by obtaining a precipitate of the complexes and a supernatant.

17. The method according to claim 16, wherein the precipitate obtained in step (c)
15 is separated from the supernatant.

18. The method according to any one of claims 16 or 17, wherein the mixture or the precipitate obtained in step c) are subjected to further steps under pressure through a turbine, cylinders, thus obtaining particles of nanometer or micrometer
20 dimensions.

19. The method according to any one of claims 16-18, wherein said one or more active principles are selected from hormones, antioxidants, immunostimulants, anti-inflammatory, cicatrizants, antibacterials, antifungals, vitamins, oligominerals.

25

20. The method according to claim 19, wherein said hormones are selected from the group comprising: melatonin, phytoestrogens; said immunostimulants are selected from the group comprising: ectoin, beta-glucan, carboxymethylbetaglukan, gluconate, lactate, zinc picolinate, polyunsaturated acids PUFA; said antioxidants are selected
30 from the group comprising: carotenoids, polyphenols, lipoic acid, vitamin A, C, E,

tocotrienols coenzyme Q10 and creatine, said anti-inflammatories are selected from the group comprising nicotinamide, glycyrrhetic acid, phytosphingosine, polyunsaturated acids PUFA, corticosteroids said antifungals are selected from the group comprising zinc pyrithion, pyrithion olamine or ketolonazole, and said antibacterials are selected
5 form phytosphingosine, chlorexidine, gluconate, glycine, benzoyl peroxyde.

21. The method according to any one of claims 16-20, wherein at least one active principle is liposoluble and wherein the component which includes it comprises a surfactant.

10

22 A method for the manufacture of pharmaceutical or cosmetic compositions comprising chitin nanofibrils complexes in association with at least a negatively charged polymer selected from the group comprising. hyaluronic acid, collagen, phospholipids and/or natural and/or synthetic peptides selected from the group
15 comprising polyphenol peptides, polyglucosides, silicone polymers or oligomers and one or more active principles, comprising a phase wherein the complex precipitate according to any one of claims 1-5 is put into a suitable excipient and the mixture thus obtained is optionally further refined.

20 23. The method according to claim 22, wherein said one or more active principles are selected from hormones, immunostimulants, antioxidants, anti-inflammatories, cicatrizants antibacterials, antifungals, vitamins, oligominerals.

24. The method according to claim 22 or 23, wherein the composition is a
25 composition for use by topic, oral, ocular, nasal, rectal, vaginal route and/or in concomitant or in sequential by topic route and oral route wherein said topic route comprises administration by means of bio-materials or no-materials, or film.

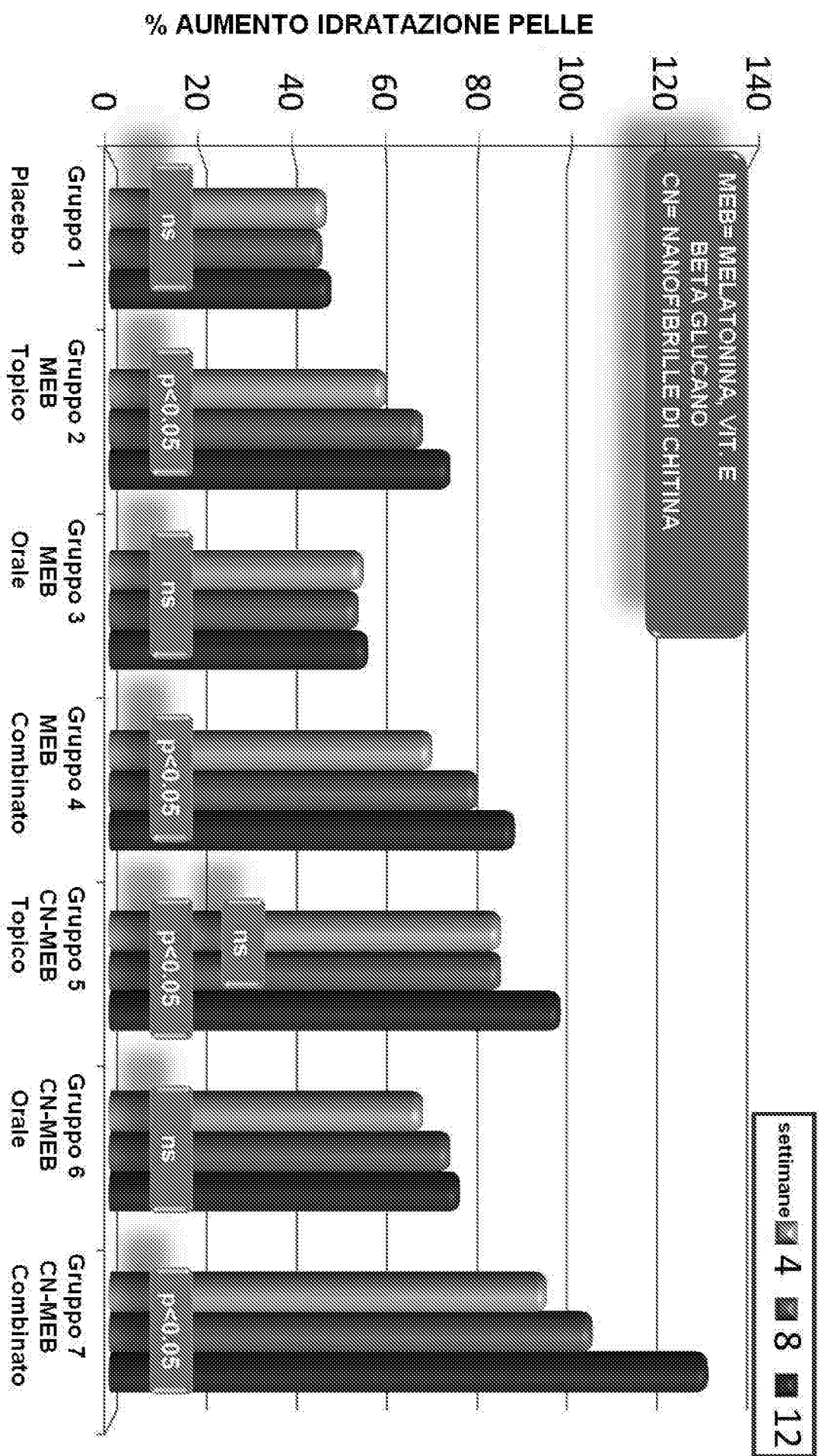


FIG. 1

% Aumento lipidi superficiali della pelle

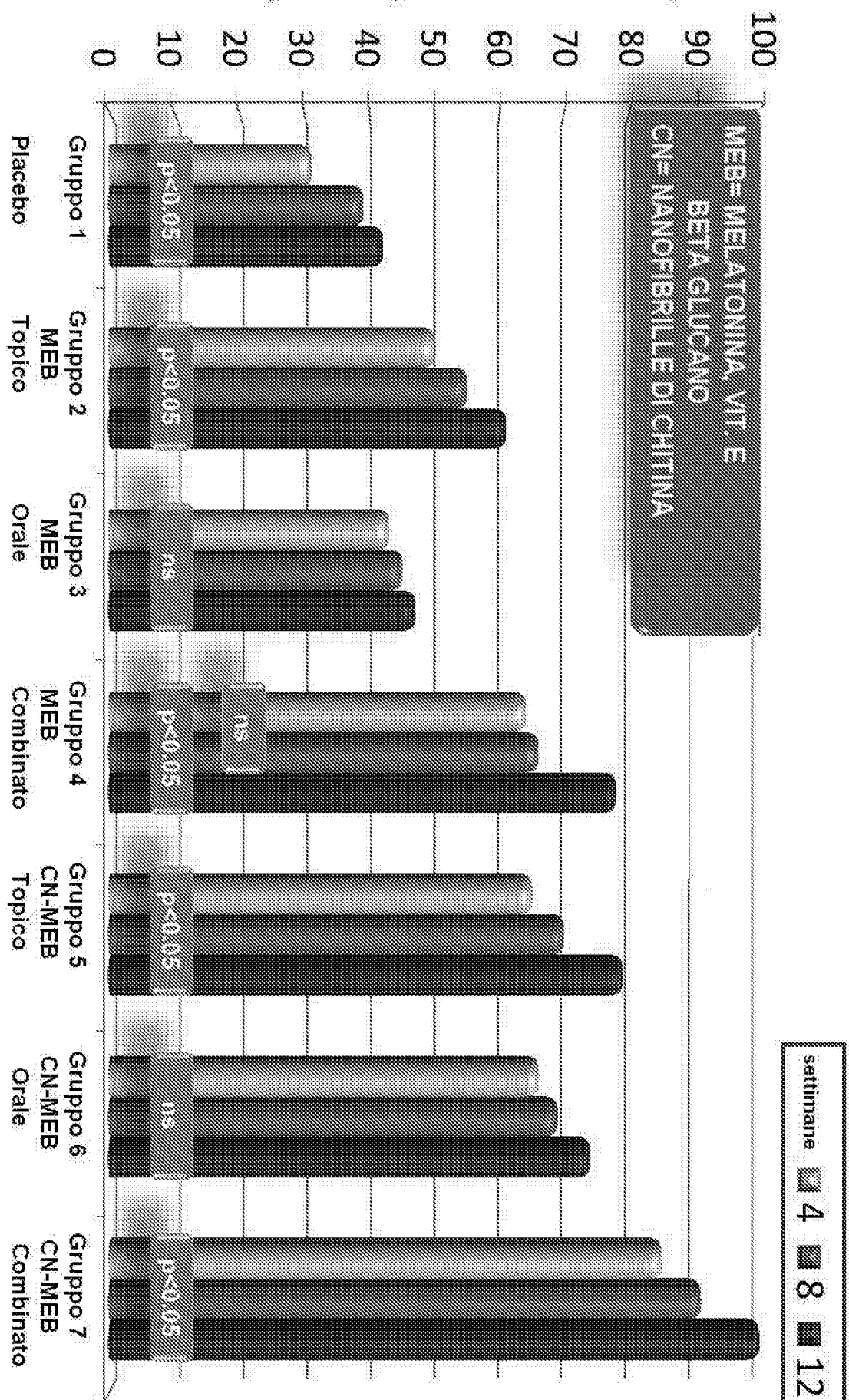


Fig.2

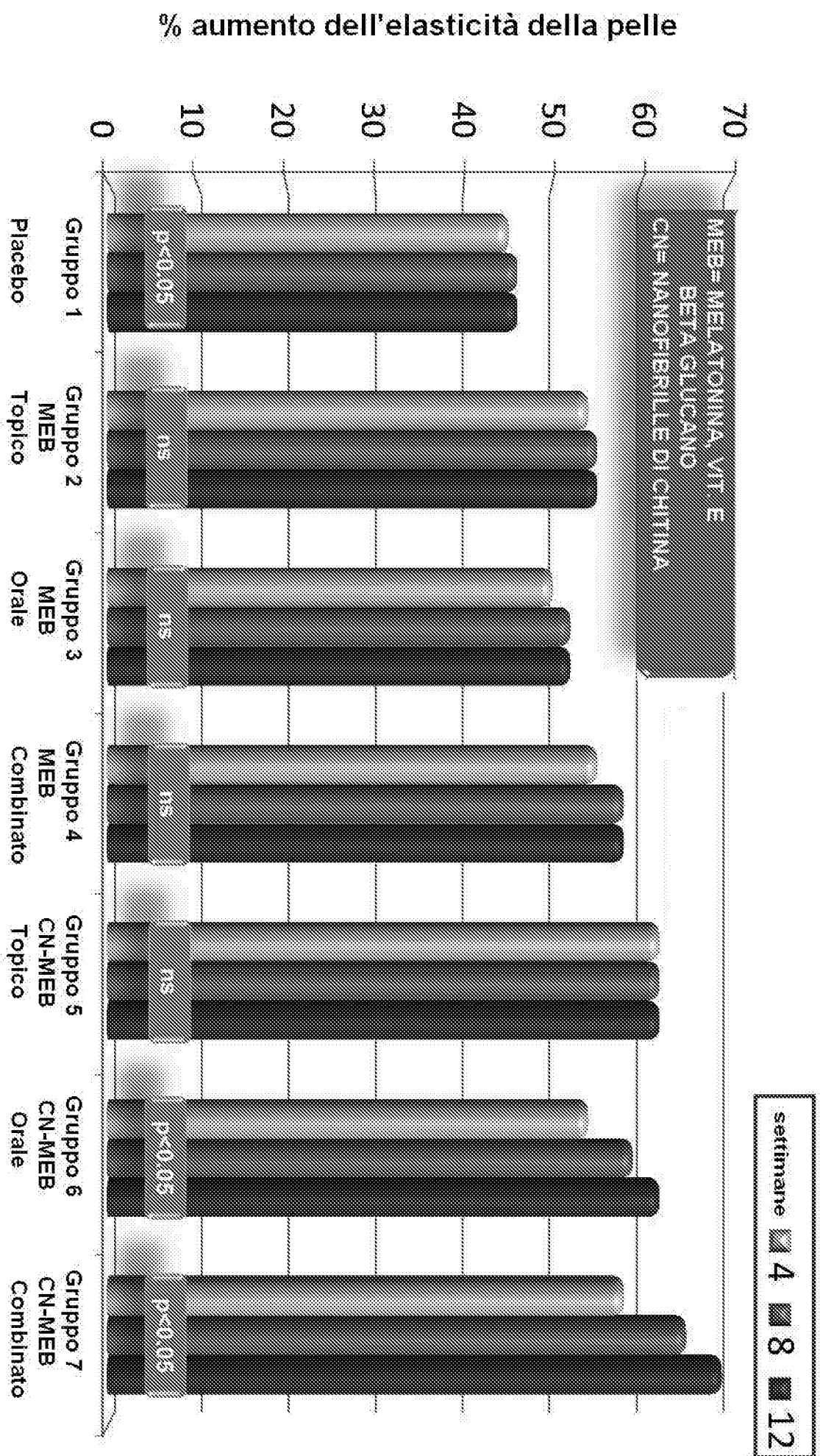


Fig.3

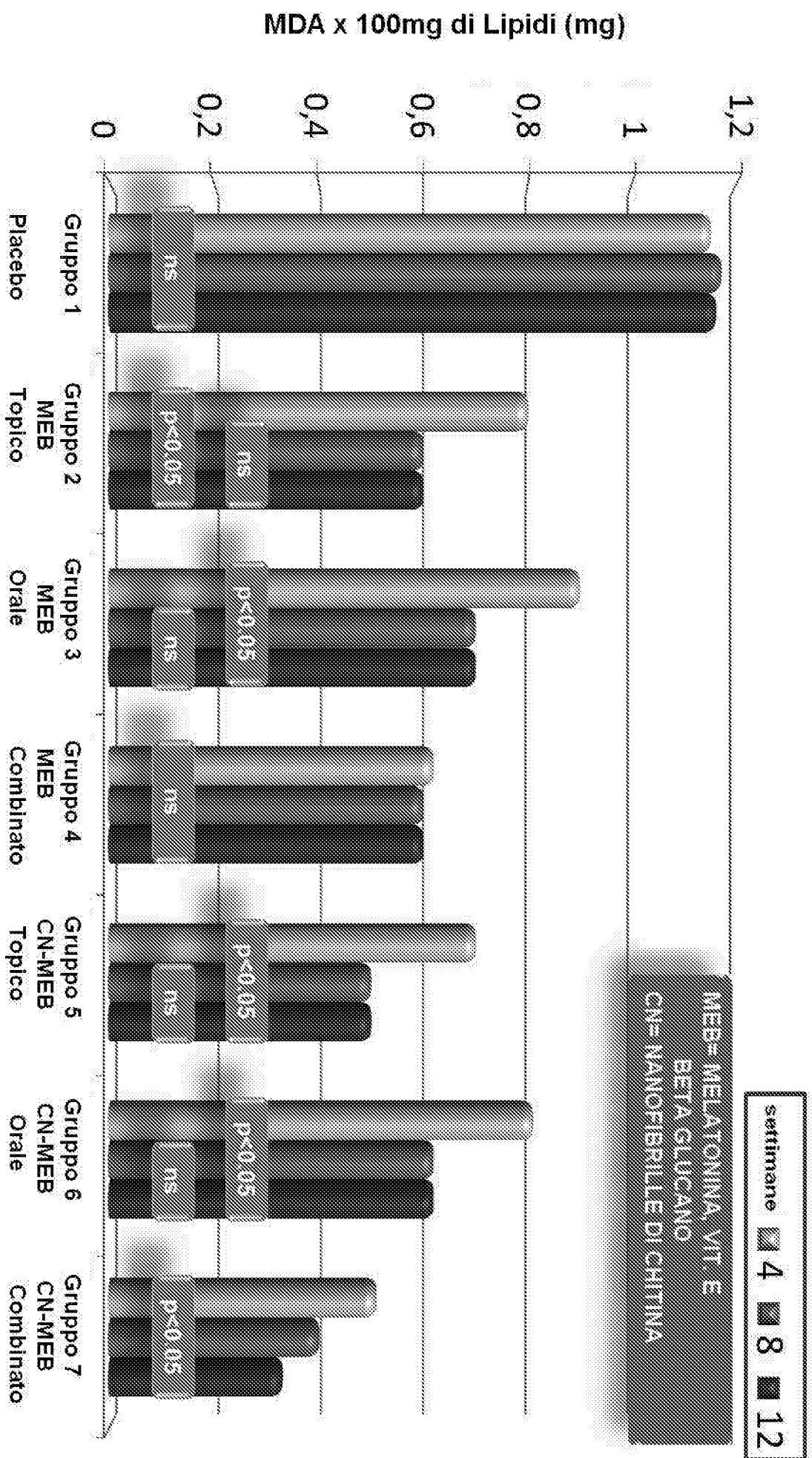


Fig.4

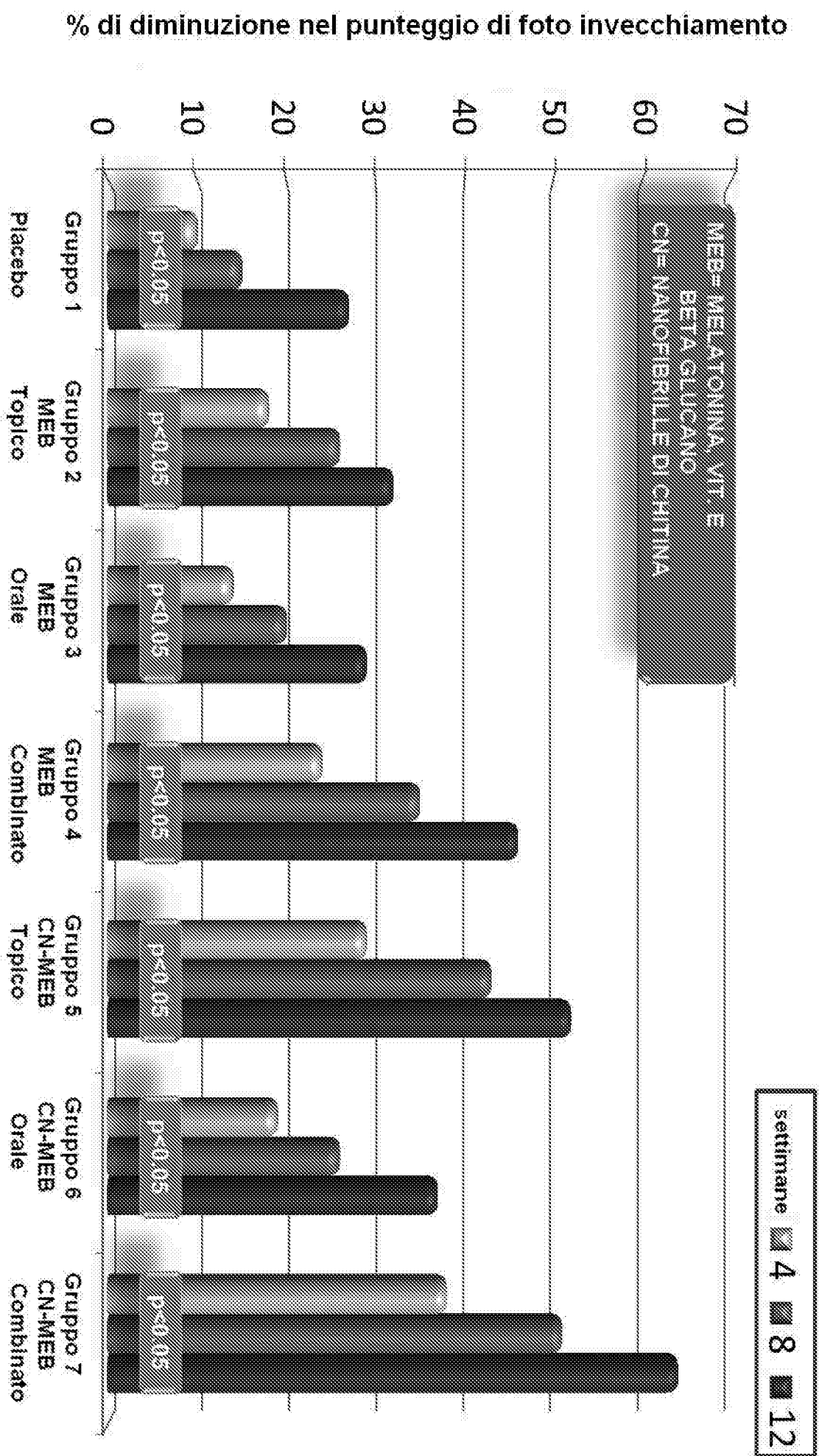


Fig.5