

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 387 717**

51 Int. Cl.:
A61Q 19/00 (2006.01)
A61K 8/97 (2006.01)
A23C 11/10 (2006.01)
A23J 3/16 (2006.01)
A23L 1/20 (2006.01)
A23L 1/211 (2006.01)
A61K 36/48 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **09075429 .2**
96 Fecha de presentación: **27.02.2002**
97 Número de publicación de la solicitud: **2127698**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **02.12.2009**

54 Título: **Composiciones que contienen productos leguminosos**

30 Prioridad:
28.02.2001 US 796054
28.02.2001 US 796293

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
28.09.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
28.09.2012

73 Titular/es:
**JOHNSON & JOHNSON CONSUMER
COMPANIES, INC.**
199 GRANDVIEW ROAD
SKILLMAN, NJ 08558, US

72 Inventor/es:
Liu, Jue-Chen;
Seiberg, Miri;
Saliou, Claude;
Miller, Jonathan D. y
Wu, Jeffrey M.

74 Agente/Representante:
Izquierdo Faces, José

ES 2 387 717 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).

DESCRIPCION

Composiciones que contienen productos leguminosos

5 **CAMPO DE LA INVENCION**

[0001] La presente invención se refiere a composiciones tópicas que contienen productos leguminosos.

10 **ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

15 [0002] Los frutos leguminosos contienen grandes niveles de proteínas, de lípidos y de hidratos de carbono. Por consiguiente, se considera que los frutos leguminosos, como las semillas de soja, y las composiciones que contienen frutos leguminosos son un gran nutriente para el uso humano. Los frutos leguminosos también contienen compuestos que inhiben la actividad proteasa. Por ejemplo, a principio de la década de 1940 se aislaron en las semillas de soja dos inhibidores de proteína proteasa, el inhibidor de tripsina de tipo Kunitz (inhibidor de tripsina de la semilla de soja, STI) y el inhibidor de proteasa Bowman-Birk (BBI). Véase, por ejemplo, Birk, Int. J. Pept. Protein Res. 25: 113-131 (1985) y Kennedy, Am. J. Clin. Neutr. 68: 1406S-1412S (1998).

20 [0003] El STI inhibe la actividad proteolítica de la tripsina por medio de la formación de un complejo estequiométrico estable. Véase, por ejemplo, Liu, K., Chemistry and Nutritional value of soybean components, en: Soybeans, chemistry, technology and utilization. pp. 32-35 (Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, Maryland, 1999). El STI consiste en 181 residuos de aminoácido con dos puentes de disulfuro y tiene una forma aproximadamente esférica. Véase, por ejemplo, Song et al., J. Mol. Biol. 275: 347-63 (1998).

25 [0004] El BBI es una proteína de 8 kDa que inhibe las proteasas tripsina y quimotripsina en ubicaciones reactivas separadas. Véase, por ejemplo, Billings et al., Pro. Natl. Acad. Sci. 89: 3120-3124 (1992). El STI y el BBI solo se encuentran en la semilla de soja, y en ninguna otra parte de la planta. Véase, por ejemplo, Birk, Int. J. Pept. Protein Res. 25: 113-131 (1985).

30 [0005] La RE2753200 divulga composiciones cosméticas y dermatológicas que comprenden productos de soja y un portador tópico.

[0006] La US5871743 divulga una composición tópica que comprende extracto de melaza de soja útil en el tratamiento y mejora de desordenes dermatológicos y para propósitos cosméticos cuando se aplica tópicamente.

35 [0007] La FR2765803 divulga una composición cosmética y dermofarmacéutica para la aplicación tópica que comprende un derivado de silicio orgánico y extracto de soja.

40 [0008] La FR2287214 divulga una composición líquida para la aplicación tópica cosmética que comprende extracto de soja y portadores cosméticos.

[0009] La DE19634206 divulga preparaciones para el cuidado de la piel que comprenden aceite de soja.

45 [0010] La US00/29842 divulga una composición para el cuidado de la piel para la administración tópica de un producto de soja que comprende un producto de soja no desnaturalizado y un sistema estabilizante.

50 [0011] Sin embargo, debido a su origen natural, los frutos leguminosos, como semillas de soja, llevan niveles elevados de microorganismos en el exterior. Por consiguiente, se pueden utilizar los procedimientos de descontaminación como el calor, la extracción de disolvente orgánico/acuoso, y la purificación con cizalladura elevada para reducir dichas concentraciones de microorganismos para permitir que sean seguros para el uso humano, por ejemplo, para aplicaciones de cuidados cutáneos. Sin embargo, los solicitantes han descubierto que estos procedimientos, que desnaturalizan con frecuencia los compuestos activos en la soja, tienen como resultado una eficacia biológica puesta en peligro (por ejemplo, una reducción en la actividad inhibidora de la proteasa) que es importante para los usos cosméticos y terapéuticos de la piel, el cabello y las uñas. Además, dichos procedimientos pueden llevar a la inestabilidad del producto de soja, al igual que a un olor y a una generación de color no deseables. Por lo tanto, existe la necesidad comercial de desarrollar un medio para reducir los niveles de microbios en los productos de soja sin poner en peligro los beneficios biológicos de dichos productos.

60 [0012] El objeto de la presente invención es el proporcionar una composición para el cuidado de la piel, pelo, o uñas que contiene un producto de soja que tiene contenido microbiano reducido pero mantiene su actividad inhibidora de la proteasa, opcionalmente con otros agentes activos.

65 [0013] La presente invención se refiere a composiciones cosméticas que comprenden productos leguminosos que contiene un contenido microbiano reducido que mantiene las actividades biológicas beneficiosas de las legumbres.

RESUMEN DE LA INVENCION

5 [0014] La presente invención presenta productos leguminosos que tienen una actividad inhibidora de la tripsina y un contenido reducido microbiano, específicamente, composiciones que contienen los mencionados productos de soja como se menciona en las reivindicaciones. El producto leguminoso es un producto de soja.

10 [0015] La presente invención se refiere a la aplicación tópica de productos leguminosos o composiciones que contienen dichos productos leguminosos para el uso en el mantenimiento de piel, uñas y pelo sanos así como para la prevención o tratamiento de desordenes de piel, uñas y pelos, incluyendo, pero no limitado a: regular la firmeza de la piel, pelo o uñas; limpieza de la piel, pelo o uñas; reducir y/o retrasar el crecimiento del pelo o las uñas; el alisamiento y/o aclarado del pelo; tratamiento y/o prevención del acné; regular el tono de la piel, pelo, o uñas; regular la textura de la piel, pelo, o uñas; regular las arrugas en la piel; tratamiento de agresiones externas en la piel, pelo, o uñas; y embellecer la piel, pelo o uñas.

15 [0016] Serán evidentes otras características y ventajas de la presente invención a partir de la descripción detallada de la invención y de las reivindicaciones.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

20 [0017] Se cree que un experto en la técnica puede, en base a la descripción del presente documento, utilizar la presente invención hasta su máximo alcance. Se deben interpretar las siguientes realizaciones específicas meramente como ilustrativas, y no limitativas del resto de la revelación de ninguna forma en absoluto.

25 [0018] A no ser que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende habitualmente una persona con un nivel normal de dominio de la técnica al que pertenece la invención. Además, todas las publicaciones, las solicitudes de patente, las patentes y otras referencias.

30 [0019] Según se utiliza en el presente documento, "actividad inhibidora de la tripsina" significa la capacidad del producto leguminoso a una concentración de 0,1% (p/p) de inhibir la actividad de la proteasa tripsina, según es medida por el ensayo que se expone a continuación en el Ejemplo 2. En una realización, los productos leguminosos de la presente invención tienen una actividad inhibidora de la tripsina de al menos aproximadamente el 15%. En una realización adicional, los productos leguminosos de la presente invención tienen una actividad inhibidora de la tripsina de al menos aproximadamente el 25%, tal como al menos aproximadamente el 50%.

35 [0020] Según se utiliza en el presente documento, "actividad de retención de tiol" significa la capacidad del producto leguminoso a una concentración de un 1% (p/v) para inhibir la pérdida de tioles inducida por humo, según es medida por el ensayo que se expone a continuación en el Ejemplo 3. En una realización, los productos leguminosos de la presente invención tienen una actividad de retención de tiol de al menos aproximadamente el 75%. En una realización adicional, los productos leguminosos de la presente invención tienen una actividad de retención de tiol de al menos aproximadamente el 90%, tal como al menos aproximadamente el 95%.

40 [0021] Según se utiliza en el presente documento, "contenido microbiano" significa la cantidad de bacterias, de hongos y de levadura presente en el producto leguminoso. Los ejemplos de los medios para medir el contenido microbiano incluyen el procedimiento AOAC 986.23 como se expone en "Official Methods of Analysis of AOAC International", editado por Patricia Cunniff, decimosexta edición, 5ª revisión, 1999 (AOAC International) o el procedimiento USP como se expone en "Official Compendia of Standards, USP 24 USP/NF 19", United States Pharmacopeial Convention, Inc., 2000 (Board of Trustees, United States Pharmacopeial Convention, Inc.), pero no están limitados a los mismos.

45 [0022] "Contenido microbiano objetable" significa la cantidad de bacterias, de hongos y de levadura presente en el producto leguminoso que es perjudicial a los seres humanos, incluyendo, pero sin limitación, los coliformes, E. coli, Salmonella, esporas termófilas, bacilo, enterococos, estafilococos, estreptococos fecales y aquellos enumerados en "Disinfection, sterilization, and preservation", 4ª edición, Seymour S. Block, pp. 887-888 (1991, Lea & Febiger, Malvern, Pensilvania, EE. UU.).

50 [0023] Como se usa en la presente "aplicación tópica" significa imponer directamente o esparcir en la piel exterior usando, por ejemplo, el uso de las manos o un aplicador como una toallita, soplo, rodillo, o espray.

55 [0024] Como se usa en la presente, "cosméticamente aceptable" significa que el(los) producto(s) o compuesto(s) que el término describe son adecuados para el uso en contacto con tejidos (por ejemplo, la piel) sin toxicidad, incompatibilidad, inestabilidad, irritación, respuesta alérgica y similares indebidas.

60 [0025] Como se usa en la presente, "portador tópico" significa uno o más diluyentes de relleno sólidos o líquidos compatibles que son adecuados para la administración tópica a mamífero. Ejemplos de portadores tópicos incluyen,

65

pero no están limitados a, agua, ceras, aceites, emolientes, emulsificadores, agentes espesantes, agentes gelificantes, y mezclas de los mismos.

5 **[0026]** Como se usa en la presente, "regular la firmeza" significa la mejora de la firmeza o elasticidad, evitando la pérdida de firmeza o elasticidad, o evitando o tratando la piel, pelo o uñas flácidas, laxas y sueltas. La firmeza o elasticidad de la piel puede ser medida con el uso de un cutómetro. Ver Handbook of Non-Invasive Methods and the Skin, eds. J. Serup & G. Jemec, Capítulo 14.3 (1995). La pérdida de de la elasticidad o firmeza de la piel puede resultar de un número de factores, incluyendo, pero no limitado a, el envejecimiento, agresiones externas, o el resultado de una aplicación de un cosmético a la piel, pelo, o uñas.

10 **[0027]** Como se usa en la presente, "regular el tono" significa el aclarado y/o oscurecimiento de la apariencia de la piel, pelo o uñas (por ejemplo aclarar lesiones pigmentadas, oscurecer la palidez de la piel, y/o igualar el color de la piel).

15 **[0028]** Como se usa en la presente, "retrasar o reducir el crecimiento de las uñas" significa retrasar o reducir la tasa de crecimiento de las uñas.

20 **[0029]** Como se usa en la presente, "retrasar o reducir el crecimiento del pelo" significa retrasar o reducir la tasa de crecimiento del pelo y/o la anchura del tallo del pelo, incluyendo, pero no limitado a , reducir la visibilidad o apariencia del pelo (por ejemplo, pelo en los brazos, piernas, y cara).

[0030] Como se usa en la presente "limpieza" significa la retirada de suciedad y/o aceite de la superficie de la piel, del pelo, o de las uñas.

25 **[0031]** Como se usa en la presente, "regular la textura" significa el suavizado de la superficie de la piel, pelo, o uñas para retirar o bultos o grietas en la superficie, incluyendo, pero no limitado a, suavizar o igualar la apariencia de la piel.

30 **[0032]** Como se usa en la presente, "regular arrugas en la piel" significa evitar, retardar, detener o revertir el proceso de arrugas o la formación de líneas finas en la piel, incluyendo, pero no limitado a, reducir la visibilidad o apariencia de las arrugas.

35 **[0033]** Como se usa en la presente, "tratamiento de agresiones externas" significa la reducción o prevención del daño por agresiones externas en la piel, pelo, o uñas. Ejemplos de agresiones externas incluyen, pero no están limitados a, daño a la piel, pelo y uñas por el uso de limpiadores (por ejemplo, limpiadores de piel y pelo que contienen surfactantes), maquillaje, y afeitado y corte, así como daño ambiental como por la luz UV (por ejemplo daño solar de la luz del sol o fuentes no naturales como lámparas UV y simuladores solares), ozono, gases de escape, contaminación, cloro y compuestos que contienen cloro, y humo de cigarrillos. Los efectos de las agresiones externas en la piel, uñas y piel incluyen, pero no están limitados a, daño oxidativo y/o nitrosativo y modificaciones en lípidos, carbohidratos, péptidos, proteínas, ácidos nucleicos, y vitaminas. Los efectos de las agresiones externas también incluyen, pero no están limitados a, pérdida de viabilidad celular, pérdida o alteración de las funciones celulares, y cambios en la expresión de genes y/o proteínas.

45 **[0034]** Como se usa en la presente, "cantidad segura y efectiva" significa una cantidad de compuesto o composición (por ejemplo el producto leguminoso) suficiente para inducir una modificación positiva en la condición a ser regulada o tratada, pero lo suficientemente baja para evitar efectos secundarios serios. La cantidad segura y efectiva del compuesto o composición variará con la condición particular que está siendo tratada, la edad y condición física del usuario final, la severidad de la condición siendo tratada/evitada, la duración del tratamiento, la naturaleza de otros tratamientos, el compuesto o producto/composición específico empleado, el portador cosméticamente aceptable particular utilizado, y factores similares.

Producto Leguminoso

55 **[0035]** Lo que "producto leguminoso" significa es una sustancia derivada de un fruto leguminoso. Una legumbre es una planta de la familia Leguminosae, que tiene un fruto dehiscente como una judía, un guisante o una lenteja. Ejemplos de legumbres incluyen, pero sin limitación, judías como semillas de soja, lentejas, guisantes y cacahuets.

60 **[0036]** El producto leguminoso puede contener el fruto leguminoso completo (por ejemplo, el fruto leguminoso molido en polvo) o únicamente una porción de la legumbre (por ejemplo, un extracto de la legumbre). El producto leguminoso puede tener forma fluida (por ejemplo, una mezcla del fruto leguminoso y de agua) o sólida (por ejemplo, polvos de frutos leguminosos). Cuando se encuentra en forma fluida, la expresión "producto leguminoso" hace referencia a los constituyentes sólidos del fluido derivados de las legumbres.

65 **[0037]** Las composiciones de la presente invención comprenden una cantidad segura y efectiva del producto leguminoso (por ejemplo, el producto de soja). En una realización, la composición contiene desde aproximadamente

el 0,001% hasta aproximadamente el 50%, desde aproximadamente el 1% hasta aproximadamente el 30%, del producto leguminoso (por ejemplo, producto de soja).

Producto de Soja

5 **[0038]** “Producto de soja” significa una sustancia derivada de la semilla de soja. El producto de soja puede contener únicamente una porción de la semilla de soja (por ejemplo, un extracto de la semilla de soja, como una semilla de soja en polvo con una cantidad reducida de lípidos, o leche de soja filtrada) o puede contener la semilla de soja completa (por ejemplo, un polvo molido de la legumbre). El producto de soja puede tener forma fluida (por ejemplo, leche de soja) o sólida (por ejemplo, semilla de soja en polvo o leche de soja en polvo). Cuando se encuentra en forma fluida, la expresión “producto de soja” hace referencia a los constituyentes sólidos del fluido que están derivados de la semilla de soja.

10
15 **[0039]** En una realización, el producto de soja es semilla de soja en polvo. La semilla de soja en polvo puede fabricarse al moler semillas de soja secas. En una realización, la semilla de soja en polvo tiene un tamaño medio de partícula menor que aproximadamente 10 micrómetros, tal como menor que aproximadamente 1 micrómetro. En una realización, la semilla de soja en polvo tiene un contenido de humedad menor que aproximadamente un 10%, tal como menor que aproximadamente un 5%. En una realización, la semilla de soja en polvo está liofilizada.

20 **[0040]** En una realización, el producto de soja es leche de soja o leche de soja en polvo. La leche de soja es una combinación de sólidos derivados de las semillas de soja y de agua, mezcla que tiene algunos o todos los constituyentes insolubles filtrados. La leche de soja en polvo es leche de soja evaporada, que en una realización, está en forma liofilizada o deshidratada por aspersion. Los procedimientos para fabricar leche de soja incluyen, pero no están limitados a, los siguientes tres procedimientos. En primer lugar, se puede fabricar leche de soja al colocar semillas de soja en agua para permitir que absorban el agua. Entonces, se muelen las semillas hinchadas y se añade entonces agua adicional. Entonces, se puede filtrar la mezcla para eliminar cualquier residuo insoluble. En segundo lugar, la leche de soja también se puede preparar a partir de semilla de soja en polvo. Se mezcla perfectamente la semilla de soja en polvo con agua (por ejemplo, durante al menos una hora), que puede ser seguido de un procedimiento de filtrado para eliminar residuos insolubles. En tercer lugar, la leche de soja también se puede reconstituir a partir de leche de soja en polvo al añadir agua. En una realización, la leche de soja comprende desde entre aproximadamente el 1% hasta aproximadamente el 50%, en peso (por ejemplo, desde aproximadamente el 5% hasta aproximadamente el 20%, en peso) de sólidos de la semilla de soja.

35 Tratamiento Antimicrobiano del Producto Leguminoso

[0041] Como se ha expuesto anteriormente, la superficie de los frutos leguminosos contienen habitualmente niveles elevados de microorganismos. Por lo tanto, antes de su uso por seres humanos, el producto leguminoso necesita ser tratado para reducir o eliminar dichos microorganismos.

40 **[0042]** En una realización, los productos leguminosos de la presente invención tienen un contenido total microbiano de menos de aproximadamente 10.000 unidades de la formación de colonias (“cfu”) por gramo. En una realización adicional, los productos de soja de la presente invención tienen un contenido microbiano menor que aproximadamente 1.000 cfu por gramo (como menor que aproximadamente 100 cfu por gramo) del producto leguminoso.

45 **[0043]** En una realización, los productos leguminosos de la presente invención tienen un contenido microbiano objetable total menor que 300 cfu por gramo, tal como menor que 150 cfu por gramo. En una realización adicional, los productos leguminosos de la presente invención tienen una cantidad indetectable de cualquier microbio objetable para al menos un gramo (por ejemplo, al menos diez gramos) del producto leguminoso.

50 **[0044]** En una realización, el producto leguminoso está expuesto a irradiación gamma. En una realización adicional, el producto leguminoso está expuesto a entre aproximadamente 2 y aproximadamente 30 kGy de irradiación gamma, tal como entre aproximadamente 5 y aproximadamente 10 kGy de irradiación gamma. Los solicitantes han descubierto de forma inesperada que dicho tratamiento reduce el contenido microbiano del producto leguminoso, mientras que mantiene su actividad biológica (por ejemplo, la actividad inhibidora de la serina proteasa). Los solicitantes también han descubierto que el tratamiento de los productos leguminosos con irradiación gamma mantiene la elegancia cosmética del producto leguminoso, tal como que mantuvo sus colores naturales y no indujo malos olores significativos.

55 **[0045]** Otros procedimientos antimicrobianos que también mantienen la actividad inhibidora de la proteasa del producto leguminoso que pueden ser puestos en práctica solos o en combinación con la irradiación gamma incluyen, pero no están limitados a, la exposición a los rayos X, a haces de electrones o de protones de alta energía, a radiación ultravioleta, a presión hidrostática, y a la adición de agentes químicos que poseen actividad antimicrobiana, y combinaciones de los mismos. Se expone una lista completa de los procedimientos para la reducción del contenido

microbiano en "Disinfection, sterilization, and preservation", 4ª edición, Seymour S. Block, pp. 887-888 (1991, Lea & Febiger, Malvern, Pensilvania, EE. UU.).

5 [0046] Los solicitantes han descubierto que los procedimientos que utilizan el tratamiento térmico pueden tener como resultado una pérdida sustancial en la actividad inhibidora de la proteasa y, por lo tanto, deberían ser utilizados con cautela. Por ejemplo, los solicitantes han descubierto que calentar la leche de soja hasta 100°C durante únicamente 10 minutos redujo la actividad inhibidora de la tripsina de la leche de soja desde el 86% (cuando se mantiene a 4°C) hasta el 46%. Los solicitantes han descubierto que calentar la leche de soja también puede tener como resultado un cambio en el color o en el olor del producto de semilla de soja.

10 Composiciones tópicas

15 [0047] Las composiciones tópicas útiles en la presente invención implican formulaciones adecuadas para la aplicación tópica a la piel. En una realización, la composición comprende el producto de soja y un portador tópico cosméticamente aceptable. En una realización, el portador tópico cosméticamente aceptable es de un 50% a un 99,99% por peso, de la composición (por ejemplo, de un 80% a un 95%, por peso, de la composición).

20 [0048] Las composiciones pueden ser hechas en una amplia variedad de tipos de productos que incluyen, pero no están limitadas a, lociones, cremas, geles, barras, espráis, cremas de afeitado, pomadas, enjuagues líquidos y barras sólidas de limpieza, champús, pastas, polvos, espumas, cremas de afeitado, toallitas, parches, esmaltes de uñas, apósitos para heridas y vendas adhesivas, hidrogeles, películas y maquillaje como maquillaje de fondo, máscaras y lápices de labios. Estos tipos de productos pueden comprender varios tipos de portadores tópicos cosméticamente aceptables incluyendo, pero no limitado a, soluciones, emulsiones (por ejemplo, microemulsiones y nanoemulsiones), geles, sólidos y liposomas. Lo siguiente son ejemplos no limitativos de dichos portadores. Otros portadores pueden ser formulados por aquellos con un conocimiento ordinario de la técnica.

25 [0049] Las composiciones tópicas útiles en la presente invención pueden ser formuladas como soluciones. Las soluciones típicamente incluyen un solvente acuoso (por ejemplo de un 50% a un 99,99% ó de un 90% a un 99% de un solvente acuoso cosméticamente aceptable).

30 [0050] Las composiciones tópicas útiles en la presente invención pueden ser formuladas como una solución que comprende un emoliente. Dichas composiciones preferiblemente contienen de un 2% a un 50% de un emoliente(s). Como se usa en la presente, "emoliente" se refiere a materiales usados para la prevención o alivio de la sequedad, así como para la protección de la piel. Son conocidos una amplia variedad de emolientes adecuados y pueden ser usados en la presente. Sagarin, Cosmetics, Science and Technology, 2ª Edición, Vol. 1, pp. 32-43 (1972) y el International Cosmetic Ingredient Dictionary and Handbook, eds. Wenninger and McEwnn, pp. 1656-61, 1626, y 1654-55 (The Cosmetic, Toiletry, and Fragrance Assoc., Washington, D.C. 7ª Edición, 1997) (en lo sucesivo "ICI Handbook") contiene numerosos ejemplos de materiales adecuados.

35 [0051] Se puede hacer una loción de dicha solución. Las lociones típicamente comprenden de un 1% a un 20% (por ejemplo de un 5% a un 10%) de un emoliente(s) y de un 50% a un 90% (por ejemplo de un 60% a un 80% de agua).

40 [0052] Otro tipo de producto que puede ser formulado de una solución es una crema. Una crema típicamente comprende de un 5% a un 50% (por ejemplo de un 10% a un 20%) de un emoliente(s) y de un 45% a un 85% (por ejemplo de un 50% a un 75%) de agua.

45 [0053] Todavía otro tipo de producto que puede ser formulado de una solución es una pomada. Una pomada puede comprender una base simple de aceites animales o vegetales o hidrocarburos semisólidos. Una pomada puede comprender de un 2% a un 10% de un emoliente(s) más de un 0,1% a un 2% de agente(s) espesante(s). Una divulgación más completa de agentes espesantes o agentes que aumentan la viscosidad útiles en la presente se pueden encontrar en Sagarin, Cosmetics, Science and Technology, 2ª Edición, Vol. 1, pp. 72-73 (1972) y el ICI Handbook pp. 1693-1697.

50 [0054] Las composiciones tópicas útiles en la presente invención formuladas como emulsiones. Si el portador es una emulsión, de alrededor de un 1% a alrededor de un 10% (por ejemplo, de un 2% a un 5%) del portador comprende un emulsificador(s). Los emulsificadores pueden ser no iónicos, aniónicos, o catiónicos. Emulsificadores adecuados se divulgan en , por ejemplo, la Patente U.S. Nº 3.755.560, la Patente U.S. Nº 4.421.769, McCutcheon's Detergents and Emulsifiers, Edición Norte Americana, pp. 317-324 (1986) y el ICI Handbook, pp. 1673-1686.

55 [0055] Las lociones y las cremas pueden ser formuladas como emulsiones. Típicamente dichas lociones comprenden de un 0,5% a un 5% de un emulsificador(s). Dichas cremas comprenderán típicamente de un 1% a un 20% (por ejemplo de un 5% a un 10%) de un emoliente(s); de un 20% a un 80% (por ejemplo, de un 30% a un 70%) de agua; y de un 1% a un 10% (por ejemplo de un 2% a un 5%) de un emulsificador(es).

60 [0056] Las preparaciones para el cuidado de la piel de emulsión única, como las lociones y las cremas, del tipo aceite en agua y del tipo agua en aceite son bien conocidas en la técnica cosmética y son útiles en la presente

invención. Las composiciones de emulsión multifase, como el tipo agua en aceite en agua, como se divulga en la Patente U.S N° 4.254.105 y 4.960.764, son también útiles en la presente invención. En general, dichas emulsiones únicas o multifase contienen aguas, emolientes, y emulsificadores como ingredientes esenciales.

5 **[0057]** Las composiciones tópicas de esta invención pueden también ser formuladas como un gel (por ejemplo, un gel acuoso usando un agente(s) gelificante adecuado). Los agentes gelificantes adecuados para los geles acuoso incluyen, pero no están limitados a, gomas naturales, ácido acrílico y polímeros de acrilato y polímeros, y derivados de la celulosa (por ejemplo, hidroximetil celulosa e hidroxipropil celulosa). Los agentes gelificantes adecuados para aceites (como aceites minerales) incluyen, pero no están limitados a, copolímero de butileno/etileno/estireno hidrogenado y copolímero de etileno/propileno/estireno hidrogenado. Dichos geles típicamente comprenden entre un 10 0,1% y un 5% por peso, de dichos agentes gelificantes.

15 **[0058]** Las composiciones tópicas de la presente invención pueden ser también formuladas en una formulación sólida (por ejemplo, una barra con base de cera, composición de pastilla de jabón, polvo, o una toallita que contiene polvo).

20 **[0059]** Las formulaciones liposómicas también son composiciones útiles de la presente invención. Ejemplos de liposomas son los liposomas unilaminares, multilaminares, y paucilaminares, que pueden contener fosfolípidos o no. Dichas composiciones pueden ser preparadas combinando primero hesperitina con un fosfolípido, como una colina dipalmitoilfosfatidil, colesterol y agua de acuerdo al método descrito en Mezei & Gulasekharan, "Liposomes - A Selective Drug Delivery System for the Topical Route of Administration; Gel Dosage Form", Journal of Pharmaceutics and Pharmacology, Vol. 34 (1982), pp. 473-474, o una modificación del mismo. Los lípidos epidérmicos de composición adecuada para formar liposomas pueden ser sustituidos por el fosfolípido. La preparación del liposoma puede entonces ser incorporada en uno de los portadores anteriores (por ejemplo, un gel o una emulsión de aceite en agua) para producir la formulación liposómica. Otras composiciones y usos farmacéuticos de los liposomas aplicados tópicamente se describen en Mezei, M., "Liposomes as a Skin Drug Delivery System", Topics in Pharmaceutical Sciences (D. D. Breimer and P. Speiser, eds.), Elsevier Science Publishers B. V., Nueva York, N.Y. 1985, pp. 345-358 Solicitud de PCT N° WO96/31194 y la Patente U.S. N° 5.260.065.

30 **[0060]** Las composiciones tópicas útiles en la presente invención pueden contener, además de los componentes anteriormente mencionados, una amplia variedad de materiales solubles en aceite adicionales y/o materiales solubles en agua usados convenientemente en composiciones para el uso en la piel, el pelo, y las uñas en sus niveles establecidos en la técnica.

35 Agentes Cosméricamente Activos Adicionales

40 **[0061]** En una realización, la composición tópica además comprende otro agente cosméricamente activo además del producto leguminoso. Lo que se entiende por un "agente cosméricamente activo" es un compuesto que tiene un efecto cosmérico o terapéutico en la piel, el pelo o las uñas, por ejemplo, agentes aclarantes, agentes oscurecedores como agentes auto bronceadores, agentes antiacné, agentes de control del brillo, agentes antimicrobianos, agentes antiinflamatorios, agentes antimicóticos, agentes antiparásitos, analgésicos externos, protectores solares, fotoprotectores, antioxidantes, agentes queratolíticos, detergentes/surfactantes, humificadores, nutrientes, vitaminas, potenciadores de energía, agentes antitranspiración, astringentes, desodorantes, eliminadores de pelo, agentes endurecedores, agentes anticalllos, y agentes para el acondicionamiento del pelo, uñas y/o piel.

45 **[0062]** En una realización, el agente es seleccionado de, pero no limitado a, el grupo consistente de hidroxiácidos, peróxido de benzolío, resorcinol de sulfuro, ácido ascórbico, D-pantenol, hidroquinona, octil metoxicinimato, dióxido de titanio, salicilato de octilo, homosalato, avobenzona, polifenoles, carotenoides, eliminadores de radicales libres, compuestos atrapadores, retinoides como el retinol y el palmitato retinil, ceramidas, ácidos grasos poliinsaturados, ácidos grasos esenciales, enzimas, inhibidores de enzimas, minerales, hormonas como los estrógenos, esteroides como la hidrocortisona, 2-dimetilaminoetanol, sales de cobre como el cloruro de cobre, péptidos que contiene cobre como Cu:Gly-His-Lys, coenzima Q10, péptidos como los divulgados en la Solicitud de PCT WO00/15188, ácido lipoico, aminoácidos como la prolina y la tirosina, vitaminas, ácido lactobiónico, acetyl-coenzima A, niacina, riboflavina, tiamina, ribosa, transportadores de electrones como el NADH y el FADH2, y otros extractos botánicos como el aloe vera, y derivados y mezclas de los mismos. El agente cosméricamente activo estará presente típicamente en la composición de la invención en una cantidad de 0,0001% al 20% por peso de la composición, por ejemplo de un 0,01% a un 10% como de un 0,1% a un 5%.

60 **[0063]** Los ejemplos de vitaminas incluyen, pero no están limitados a, vitamina A, vitaminas B, como la vitamina B3, la vitamina B5, y la vitamina B12, vitamina C, vitamina K, y vitamina E y derivados de las mismas.

[0064] Ejemplos de los ácidos hidroxil incluyen, pero no están limitados a, ácido glicólico, ácido láctico, ácido málico, ácido salicílico, ácido cítrico, y ácido tartárico. Ver, por ejemplo, la Solicitud de Patente Europea N° 273.202.

65 **[0065]** Ejemplos de antioxidantes incluyen, pero no están limitados a, antioxidantes solubles en agua como compuestos de sulfhidrilo y sus derivados (por ejemplo, metabisulfito de sodio y N-acetil-cistena), ácido lipoico, y

ácido dihidrolipoico, resveratrol, lactoferrina, y ácido ascórbico y derivados de ácido ascórbico (por ejemplo, palmitato de ascorbilo y polipéptido de ascorbilo). Los antioxidantes solubles en aceite adecuados para el uso en las composiciones de esta invención incluyen, pero no están limitados a, hidroxitolueno butilado, retinoides (por ejemplo, retinol y palmitato retinil), tocoferoles (por ejemplo, acetato de tocoferol) tocotrienoles, y ubiquinona. Los extractos naturales que contiene antioxidantes adecuados para el uso en las composiciones de esta invención, incluyen, pero no están limitados a, extractos que contienen flavonoides e isoflavonoides y sus derivados (por ejemplo, genisteína y diadzeína), extractos que contienen resveratrol y similares. Ejemplos de dichos extractos naturales incluyen semillas de uva, te verde, corteza de pino y propolis. Otros ejemplos de antioxidantes se pueden encontrar en las páginas 1612-13 del ICI Handbook.

Otros materiales

[0066] Pueden estar presentes en las composiciones útiles en la presente invención varios otros materiales. Estos incluyen humectantes, proteínas y polipéptidos, conservantes y un agente alcalino. Los ejemplos de dichos agentes están divulgados en el ICI Handbook, pp. 1650-1667. Las composiciones de la presente invención pueden también comprender agentes quelantes (por ejemplo, EDTA) y conservantes (por ejemplo, parabenos). Los ejemplos de los conservantes y agentes quelantes adecuados están enumerados en las pp. 1626 y 1654-55 del ICI Handbook. Además, las composiciones tópicas útiles en la presente pueden contener adyuvantes cosméticos adicionales, como tintes, opacificantes (por ejemplo dióxido de titanio), pigmentos, y fragancias.

Agua Mineral

[0067] El producto leguminoso (por ejemplo, leche de soja) y las composiciones de la presente invención se pueden preparar utilizando agua mineral. En una realización, el agua mineral tiene una mineralización de al menos 200 mg/L (por ejemplo, desde aproximadamente 300 mg/L hasta aproximadamente 1000 mg/L). En una realización, el agua mineral comprende al menos aproximadamente 10 mg/L de calcio y/o al menos aproximadamente 5 mg/L de magnesio.

[0068] La composición y formulaciones que contienen dichas composiciones de la presente invención pueden ser preparadas usando metodología que es bien conocida por un técnico con conocimientos comunes.

Ejemplo 1: Irradiación Gamma del producto leguminoso

[0069] Los solicitantes han descubierto que la leche de soja en polvo antes de ningún tratamiento antimicrobiano como la irradiación gamma tiene niveles elevados de contenido microbiano, que varía hasta 50.000 cfu por gramo. También se descubrió que dichos productos tienen niveles detectables de contenido microbiano objetable, como estreptococos fecales, a niveles de hasta 20.000 cfu por gramo.

[0070] Los solicitantes han expuesto diversas cantidades (por ejemplo, desde aproximadamente 1 g hasta aproximadamente 200 kg) de leche de soja en polvo a irradiación gamma que varían desde 1 kGy hasta 16 kGy. Se descubrió que la dosis o irradiación gamma necesaria para una reducción de un contenido total microbiano hasta menos de aproximadamente 100 cfu por gramo era de aproximadamente 10 kGy. Se descubrió que la dosis para una reducción logarítmica de estreptococos fecales se determina que es aproximadamente 3 kGy y se descubrió que una dosis de aproximadamente 5 kGy reducía sistemáticamente este contenido microbiano en una muestra de 10 g de leche de soja en polvo hasta niveles indetectables. Sin embargo, la cantidad de irradiación gamma utilizada sobre el producto leguminoso será determinada en última instancia por el contenido microbiano y el tamaño del producto de soja que vaya a ser tratado.

Ejemplo 2: Actividad Inhibidora de la TRipsina del Producto Leguminoso

[0071] Se midió la inhibición de la escisión inducida por tripsina de un péptido caseína fluorescente utilizando el kit EnzChek™ de ensayo de proteasa, siguiendo las instrucciones del fabricante (EnzCheck™ Protease Assay Kits Product Information, revisado el 15/3/99; Molecular Probes, Eugene, Oregón, EE. UU.). En resumen, se diluyeron primero diversas preparaciones de soja en un tampón de digestión 1x (proporcionado en el kit) y se incubaron a distintas concentraciones con 1000 unidades de tripsina (Sigma, St. Louis, Misuri, EE. UU.) disueltas en tampón de digestión 1x. Se utilizó un inhibidor de serina proteasa pura (inhibidor de tripsina de la semilla de soja, de Sigma, St. Louis, Misuri, EE. UU.) como un control positivo a 0,1, 0,01% y 0,001% p/v. Entonces, se preparó una solución madre de caseína BODIPY FL a 1,0 mg/ml al añadir 0,2 mL de agua desionizada a los viales suministrados con este sustrato (proporcionado en el kit), luego llevada a una concentración final de trabajo de 10 microgramos/ml en tampón de digestión. Después de la incubación de la tripsina, con o sin el material de prueba, con el sustrato de caseína fluorescente BODTPY a temperatura ambiente durante una hora, se midió la fluorescencia (excitación a 485 nm/emisión a 530 nm) en un lector de placa de microtitración SpectraMax® Gemini (Molecular Devices Corporation, Sunnyvale, California, EE. UU.) utilizando un programa informático Softmax® Pro 3.0 (Molecular Devices Corporation). Se llevó a cabo cada experimento en tres réplicas y se repitió dos veces.

[0072] Se llevó a cabo este ensayo sobre los productos de soja procesados de siete formas distintas. El Ejemplo A fueron semillas de soja molidas en polvo (Sunlight Foods Corporation, condado de Taipéi, Taiwán, República de China). El Ejemplo B fue semilla de soja en polvo del Ejemplo A expuesto a una irradiación gamma de aproximadamente 8-15 kGy. El Ejemplo C fue semilla de soja en polvo en el que se separó mediante extracción el aceite en la semilla de soja en polvo (Soyafuff® 200W de Central Soya Company, Inc., Fort Wayne, Indiana, EE. UU.). El Ejemplo D fue leche de soja en polvo fabricada con semillas descascaradas de soja y agua que fue subsiguientemente filtrada y calentada y deshidratada por aspersión (Devansoy Farms, Carrol, Iowa, EE. UU.) y expuesta a una irradiación gamma entre aproximadamente 7-9 kGy. El Ejemplo E fue leche de soja en polvo obtenida al mezclar semillas de soja con agua, calentando la mezcla durante la noche, y añadiendo 1,3-butilenglicol a la mezcla (Flavosterone SB de Ichimaru Pharcos Co., Ltd, Gifu, Japón). El Ejemplo F fue leche de soja en polvo obtenida al mezclar semillas de soja y agua, calentando la mezcla durante la noche, y añadiendo subsiguientemente etanol a la mezcla (Flavosterone SE de Ichimaru Pharcos Co., Ltd, Gifu, Japón). El Ejemplo G fue un extracto de proteínas de soja (Vegeseryl HGP LS 8572 de Laboratories Serobiologiques S.A., Pulnoy, Francia). Se compararon estos productos de soja con el Inhibidor de tripsina de la semilla de soja (STI) (Sigma).

[0073] Se calculó el porcentaje de inhibición de la escisión por tripsina del sustrato con las distintas preparaciones de soja utilizando Microsoft Excel™ y se documenta en la **Tabla 1**.

| Producto probado | Concentración | % de inhibición de tripsina |
|------------------|---------------|-----------------------------|
| STI | 0,01 | 43,0 |
| STI | 0,1 | 76,1 |
| Ejemplo A | 0,01 | 32,8 |
| Ejemplo A | 0,1 | 67,1 |
| Ejemplo B | 0,01 | 31,5 |
| Ejemplo B | 0,1 | 67,2 |
| Ejemplo C | 0,01 | 22,7 |
| Ejemplo C | 0,1 | 36,2 |
| Ejemplo D | 0,01 | 8,92 |
| Ejemplo D | 0,1 | 17,4 |
| Ejemplo E | 0,01 | 7,83 |
| Ejemplo E | 0,1 | 10,8 |
| Ejemplo F | 0,01 | 4,87 |
| Ejemplo F | 0,1 | 5,99 |
| Ejemplo G | 0,1 | 6,85 |

[0074] Como se muestra en la Tabla 1, el STI puede inhibir la escisión inducida por la tripsina en forma de respuesta a la dosis. El Ejemplo A, que es semilla de soja en polvo, también inhibió de forma significativa la actividad de la tripsina. Una irradiación gamma adicional de la semilla de soja en polvo (es decir, el Ejemplo B), aunque redujo el contenido microbiano de la semilla de soja en polvo, de forma imprevista, no tuvo un impacto de forma significativa la actividad de inhibición de la tripsina de la semilla de soja en polvo. Sin embargo, el tratamiento de calor y/o de extracción de los Ejemplos C-G redujo de forma significativa la actividad inhibidora de la tripsina de la semilla de soja en polvo.

Ejemplo 3: Actividad de Retención de Tioles del Producto Leguminoso

[0075] Se evaluó la capacidad de la soja en polvo para evitar la pérdida inducida por humo de tioles en fibroblastos dérmicos humanos normales (Clonetics, San Diego, California, EE. UU.). Los tioles, principalmente la glutatona, son parte del sistema de defensa antioxidante celular endógeno. La glutatona sirve de tampón redox, manteniendo, de ese modo, el equilibrio entre oxidantes y antioxidantes. La glutatona es también el sustrato preferente para diversas enzimas como las glutatona peroxidadas (peróxidos en descomposición) y las glutatona-S-transferasas (un grupo principal de enzimas de detoxificación). Véase, A. Meister, Cancer Res. 54: 1969s-1975s (1994).

[0076] Los antioxidantes cutáneos (tanto enzimáticos como no enzimáticos), incluyendo la glutatona, se reducen después de una exposición a rayos UV o al ozono. Véanse, M. J. Connor y L. A. Wheeler, Photochem. Photobiol. 46:

239-246 (1987) y R. M. Tyrrell y M. Pidoux, Photochem. Photobiol. 47: 405-412 (1988). En los modelos de cultivo celular, los niveles bajos de glutatona intracelular (GSH) llevan a una mayor sensibilidad a la radiación UV. La aplicación tópica de los derivados de la cisteína sobre la piel de rata ha demostrado que protege contra el daño actínico inducido por radiación UV; este beneficio se correlacionó con un aumento en la síntesis de GSH. Véanse, L. T. van den Broeke y G. M. J. Beijersbergen van Henegouwen, J. Photochem. Photobiol. B Biol. 27: 61-65 (1995); K. Hanada, et al., J. Invest. Dermatol. 108: 727-730 (1997); y D. P. T. Steenvoorden, et al., Photochem. Photobiol. 67: 651-656 (1998). Por consiguiente, la glutatona es un antioxidante endógeno importante, muy sensible a retos medioambientales, capaz de regular el tono y el arrugamiento de la piel, al igual que tratar la agresión externa.

5
10
15
20
25
[0077] En este experimento, se incubaron fibroblastos dérmicos neonatales humanos normales sembrados en insertos Transwell de 24 pocillos (Corning Costar, Cambridge, Massachusetts, EE. UU.) con medios que contenían diversas concentraciones de leche de soja en polvo (irradiación gamma a aproximadamente 5 kGy) durante 24 horas antes de su exposición, bien a placebo (simulacro) o a humo de tabaco (1 cigarrillo, cigarrillos BASIC Full Flavor 100's, Philip Morris, Richmond, Virginia, EE. UU.) durante 10 minutos. Antes de la exposición al humo, se apartó el medio que había sobre los insertos que contenían el producto de soja, y se lavaron las células 3 veces con solución salina de Dulbecco tamponada con fosfato (Life Technologies, Gaithersburg, Maryland, EE. UU.) antes de ser expuestas al humo únicamente con medios bajo los insertos. Inmediatamente después de la exposición, se incubaron las células durante otro periodo de 24 horas con el anterior medio. Se volvieron a lavar las células, 5 veces con solución salina de Dulbecco tamponada con fosfato, y entonces se midieron los tioles intracelulares al añadir 60 μ M de monobromobimano (Molecular Probes, Eugene, Oregón, EE. UU.) a las células e incubando a 37°C durante 30 minutos antes de la lectura de la fluorescencia. En la presencia de tioles, el monobromobimano se vuelve fluorescente. Se midió esta fluorescencia utilizando un lector de placa de fluorescencia CytoFluor® (PerSeptive Biosystems, Framingham, Massachusetts, EE. UU.) configurado con la siguiente combinación de filtro: excitación a 360 nm y emisión a 460 nm.

[0078] En la Tabla 2 se exponen los resultados de este experimento.

30
35
40
45
50
Tabla 2

| | Concentración de leche de soja en polvo (% en peso) | Tioles (porcentaje de tioles contenidos en el grupo sin humo; media \pm E.E.M.) |
|----------------|---|---|
| Sin humo | 0 | 100 \pm 6,71 |
| Humo (10 min.) | 0 | 65,38 \pm 7,16 |
| | 0,5 | 91,24 \pm 14,25 |
| | 1 | 95,39 \pm 4,52 |
| | 2 | 106,92 \pm 17,06 |

[0079] Estos resultados indican que la leche de soja en polvo irradiada con rayos gamma proporcionó de forma sorprendente una protección contra la pérdida de tioles inducida por humo (los datos representan la media \pm error estándar de la media de réplicas de 3 experimentos independientes).

REIVINDICACIONES

1. Una composición para la aplicación tópica que comprende:

- 5 a) un producto de soja que ha sido expuesto a de 2 a 30kGy de irradiación gamma; y
 b) un portador tópico cosméticamente aceptable;

en donde dicho producto de soja tiene una actividad de retención de tiol de la menos alrededor un 75%, medido por el ensayo enunciado en el Ejemplo 3.

10 2. Una composición como se reivindica en la reivindicación 1, en donde dicho producto de soja tiene una actividad inhibidora de la tripsina de al menos alrededor de un 15%, medido por el ensayo enunciado en el Ejemplo 2, y un contenido microbiano menos de 1000 cfu por gramo.

15 3. Una composición de la reivindicación 2, dicho producto de soja teniendo un contenido microbiano de menos de 100 cfu por gramo.

20 4. Una composición como se reivindica en la reivindicación 1, en donde dicho producto de soja tiene una actividad inhibidora de la tripsina de al menos alrededor de un 50%, medido por el ensayo enunciado en el Ejemplo 2, y un contenido microbiano menor de 10.000 cfu por gramo.

 5. Una composición de la reivindicación 2 o la reivindicación 4, dicho producto de soja teniendo un recuento microbiano objetable menor de 150 cfu por gramo.

25 6. Una composición de la reivindicación 4, dicho producto de soja teniendo un contenido microbiano de menos de 1000 cfu por gramo.

30 7. Una composición de la reivindicación 4, dicho producto de soja teniendo un contenido microbiano objetable no detectable por gramo.

 8. Una composición de la reivindicación 1, la reivindicación 2 o la reivindicación 4 en donde dicho producto de soja es polvo de leche de soja.

35 9. Una composición de la reivindicación 1, la reivindicación 2 o la reivindicación 4 en donde dicho producto de soja es polvo de semilla de soja.

 10. Una composición de la reivindicación 1, la reivindicación 2 o la reivindicación 4 en donde dicha composición además comprende vitamina A, vitamina B3, vitamina B5, vitamina B12, vitamina C, vitamina K, vitamina E, y derivados de las mismas.

40 11. Una composición de la reivindicación 1, la reivindicación 2 o la reivindicación 4 en donde dicha composición además comprende 2-dimetilaminoetanol.

45 12. Una composición de la reivindicación 1, la reivindicación 2 o la reivindicación 4 en donde dicha composición además comprende ácido salicílico, ácido láctico o ácido glicólico.

 13. Una composición de la reivindicación 1, la reivindicación 2 o la reivindicación 4 en donde dicha composición además comprende N-acetil-cisteína.