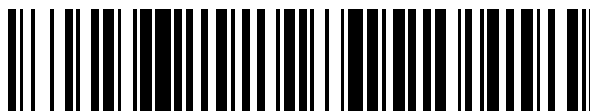


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 450 390**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/047** (2006.01)

**A61K 31/7048** (2006.01)

**A61K 31/13** (2006.01)

**A61P 17/14** (2006.01)

**A61P 17/16** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.10.2009 E 09759916 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.12.2013 EP 2352493**

54 Título: **Uso terapéutico, dietético, o cosmético de compuestos con actividad antiapoptótica frente a caspasa-3, y composiciones que contienen estos compuestos**

30 Prioridad:

**03.11.2008 EP 08425704**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**24.03.2014**

73 Titular/es:

**GIULIANI S.P.A. (100.0%)**

**Via Palagi, 2  
20129 Milano , IT**

72 Inventor/es:

**GIULIANI, GIAMMARIA;  
BENEDUSI, ANNA y  
BARONI, SERGIO**

74 Agente/Representante:

**RUO, Alessandro**

**ES 2 450 390 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

5 Uso terapéutico, dietético, o cosmético de compuestos con actividad antiapoptótica frente a caspasa-3, y composiciones que contienen estos compuestos

### Campo de la invención

10 **[0001]** La invención se refiere al uso de compuestos que se ha descubierto que son activos en la inhibición de caspasa-3, y por lo tanto útiles para controlar la apoptosis mediante la prevención de la muerte celular programada en el tratamiento de enfermedades y disfunciones caracterizadas por un defecto en la regulación de los mecanismos físicos de apoptosis y, por lo tanto, por una muerte celular prematura.

### Técnica anterior

15 **[0002]** Una de estas disfunciones es habitualmente la alopecia. El ciclo vital del folículo piloso se representa básicamente por tres fases sucesivas: anagén (crecimiento), catagén (involución) y telogén (fase de reposo). Al final de la última fase, el ciclo comienza de nuevo. La base biológica de este fenómeno reside en la capacidad de las células madre del folículo para salir, en fases alternativas, de su estado de quiescencia. Durante el crecimiento del folículo y la producción de cabello, prevalece la actividad de los factores de crecimiento que regulan la proliferación, diferenciación y supervivencia. La fase de regresión, sin embargo, se caracteriza por la activación de las rutas moleculares que inducen la apoptosis en las células del folículo.

20 **[0003]** Las distintas poblaciones celulares del folículo piloso poseen susceptibilidad diferencial a los fenómenos apoptóticos. En particular, las células epiteliales y melanocitos son las más sensibles, mientras que los fibroblastos dérmicos, algunos queratinocitos, y algunos melanocitos seleccionados para la supervivencia parecen ser más resistentes. El ciclo vital del cabello y su desarrollo depende de factores de crecimiento que regulan las señales de comunicación entre el epitelio y las células mesenquimales del folículo. Estos factores moleculares pertenecen a las siguientes familias de proteínas: BMP (Proteína Morfogénica Ósea), TGF-beta, EGF, FGF, IGF, neurotrofina, TNF, y Wnt.

30 **[0004]** La apoptosis, también denominada muerte celular programada, es un complejo proceso biológico que está regulado a nivel génico y que desempeña un papel crucial en la homeostasis tisular, en la que contrarresta la acción proliferativa (mitótica) ejercida por los factores de crecimiento. Desde un punto de vista morfológico, una célula en apoptosis experimenta una rápida reducción de volumen, acompañada por condensación y la pérdida de contacto con las células circundantes. A nivel nuclear, se observa desagregación, ruptura de la membrana, y condensación y fragmentación de la cromatina en fragmentos de aproximadamente 200 pares de bases.

35 **[0005]** Las caspasas, enzimas catalíticas, son un componente proteico esencial tanto para la activación como para la ejecución del proceso apoptótico. Se han identificado 10 caspasas en el ser humano (de hecho, se numeran del 1 al 10). Las caspasas son enzimas catalíticas que ejercen actividad y función de proteasa tanto como efectores en el desmontaje celular habitual de la apoptosis como iniciadores de este fenómeno después de la activación mediante señales pro-apoptóticas.

40 **[0006]** La caspasa-3 (también conocida como CPP32, Yama, o apopaína) es uno de los efectores principales de la apoptosis.

45 **[0007]** En condiciones de quiescencia, en la mayoría de las células, la caspasa-3 existe en forma inactiva (proenzima) que, después de estímulos pro-apoptóticos, se activa a caspasa-8 o a caspasa-9. Esto depende del tipo de estímulo apoptótico recibido por la célula. Por lo tanto, se considera que la apoptosis tiene un papel principal en la regulación de la regresión del folículo piloso (Effects of finasteride on apoptosis and regulation of the human hair cycle, Keane et al., Journal of Cutaneous Medicine and Surgery, vol. 6, Nº 1, enero de 2002).

50 **[0008]** El documento de Patente WO 96/10387 desvela el uso de rutina para el tratamiento de alopecia.

55 **[0009]** El documento de Patente WO 03/063851 desvela el uso de espermidina para el tratamiento de pérdida capilar.

60 **[0010]** El documento de Patente WO 2008/114141 desvela el uso de rutina en combinación con espermidina para la prevención de alopecia androgénica en composiciones orales.

### Sumario de la invención

65 **[0011]** Sorprendentemente, los inventores han descubierto que algunos compuestos, usados tanto solos como en combinación, pueden tener un efecto inhibitorio sobre la caspasa-3, tener una potente actividad antiapoptótica, y pueden evitar la pérdida capilar.

**[0012]** De acuerdo con la invención, de hecho, una aplicación principal de estos compuestos provistos de actividad inhibitoria específica de caspasa-3 se refiere a trastornos del cuero cabelludo caracterizados por una excesiva renovación celular, tal como alopecia inducida por quimioterapia, alopecia areata, alopecia androgénica y efluvio telogénico agudo.

5

**Descripción detallada de la invención**

**[0013]** En este sentido, la presente invención se refiere al uso de zeaxantina y/o rutina, como tales o combinadas además con espermidina, como se desvela en la reivindicación 1, como principio activo en una composición farmacéutica, dietética, o cosmética adecuada para inhibir la actividad de la enzima caspasa-3 y, por lo tanto, controlar la apoptosis mediante la prevención de la muerte celular programada, para cada indicación en la que este efecto inhibitorio es útil. Se hace referencia particular al tratamiento de la alopecia en seres humanos a través de la inhibición de la caspasa.

10

**[0014]** La invención también se refiere a una composición farmacéutica, dietética, o cosmética adecuada para inhibir la actividad de la enzima caspasa-3 y, por lo tanto, controlar la apoptosis mediante la prevención de la muerte celular programada, caracterizada por comprender zeaxantina y/o rutina, como tales o combinadas además con espermidina, como se desvela en la reivindicación 1, como principio activo formulado con cada excipiente apropiado para administración tópica o sistémica (preferentemente por vía oral).

15

20

**[0015]** El estudio experimental que se informa en el resto de la presente descripción ha demostrado sorprendentemente que en realidad es posible conseguir la inhibición de la actividad apoptótica de la caspasa-3 de forma relevante usando los compuestos de acuerdo con la presente invención.

25

**[0016]** Las indicaciones para esta composición farmacéutica, dietética, o cosmética de acuerdo con la invención son, por lo tanto, principalmente el tratamiento de trastornos del cuero cabelludo caracterizados por una renovación celular excesiva, incluyendo alopecia inducida por quimioterapia, alopecia areata, alopecia androgénica y efluvio telogénico agudo.

30

**[0017]** La invención se refiere al uso, como ingredientes activos, del compuesto zeaxantina individualmente, o emparejado con rutina o espermidina, o en combinación tanto con espermidina como con rutina.

**[0018]** En una realización diferente, la composición de la presente invención incluye zeaxantina y rutina. En una realización correspondiente, la composición de la presente invención incluye 2 mg de zeaxantina y 2,5 mg de rutina.

35

**[0019]** En una realización preferente, la composición de la presente invención incluye zeaxantina, rutina, y espermidina. En una forma correspondiente de aplicación preferente, la composición de la presente invención incluye zeaxantina, rutina, y espermidina en una relación en peso de aproximadamente 8:5:1, respectivamente. En otra forma de aplicación preferente, la composición de la presente invención incluye zeaxantina, rutina, y espermidina en una relación en peso de aproximadamente 4:5:1, respectivamente.

40

**[0020]** En una realización diferente, la composición de la presente invención incluye zeaxantina y espermidina. En una realización correspondiente, la composición de la presente invención incluye zeaxantina y espermidina en una relación en peso de aproximadamente 4:1.

45

**[0021]** En una realización, la composición de la presente invención incluye excipientes para la administración tópica en el cuero cabelludo. Se seleccionan concentraciones adecuadas entre las siguientes: 0,0005-1 % p/p de zeaxantina, 0,0005-1 % p/p de rutina, y 0,0001-1 % p/p de espermidina HCl.

50

**[0022]** En una realización diferente, la composición de la presente invención incluye excipientes para la administración sistémica, preferentemente por vía oral. En una realización preferente, una composición para uso oral, incluyendo un comprimido, incluye 2 mg de zeaxantina, 2,50 mg de rutina, y 0,50 mg de triclorhidrato de espermidina.

55

**[0023]** Los siguientes ejemplos ilustran la invención sin limitar de ningún modo su ámbito.

Ejemplo 1

**[0024]** Suplemento dietético en comprimidos para uso oral con Zeaxantina, Rutina, Espermidina, compuestos donadores de azufre (aminoácido sulfurados, metilsulfonilmetano), vitaminas y minerales.

60

**[0025]** Cada comprimido contiene:

Metionina	300 mg
Triclorhidrato de espermidina	0,5 mg

## ES 2 450 390 T3

Rutina	2,5 mg
Zeaxantina	2 mg
Pantotenato de calcio	9 mg
d-Biotina	0,05 mg
Quelato de aminoácido de cinc	37,5 mg (equivalente a 7,5 mg de Cinc)
Quelato de aminoácido de cobre	12 mg (equivalente a 1,2 mg de Cobre)
Vitamina C (ácido ascórbico)	90 mg
Clorhidrato de vitamina B6	2,421 mg (equivalente a 2 mg de Piridoxina).
Acetato de vitamina E (dl-alfa tocoferol)	15 mg
Ácido fólico	0,3 mg
Celulosa microcristalina	60-150 mg
Dihidrato de fosfato dibásico de calcio	60-150 mg
Hidroxipropil metilcelulosa	50-100 mg
Goma arábiga	2-20 mg
Estearato de magnesio	5-9 mg
Dióxido de silicio	2,50-8 mg
Óxido de hierro amarillo E172	0,1-0,3 mg
Cobre clorofila	0,4-0,8 mg
Dióxido de titanio	1,5-3,5 mg
Ácido esteárico	1-2 mg
Etilcelulosa	2-3 mg
Gelatina hidrolizada	15-17 mg

### Ejemplo 2

5 **[0026]** Suplemento dietético en cápsulas duras con Zeaxantina, Rutina, y Espermidina. Cada cápsula contiene:

Triclorhidrato de espermidina	0,5 mg
Rutina	2,5 mg
Zeaxantina	2 mg
Celulosa microcristalina	100-150 mg
Dihidrato de fosfato dibásico de calcio	100-150 mg
Estearato de magnesio	3-6 mg
Dióxido de silicio	2,5-5 mg
Gelatina natural (conjunto)	c.s.

### Ejemplo 3

10 **[0027]** Suplemento dietético en comprimidos para uso oral con Zeaxantina, Rutina, Espermidina, isoflavonas de soja, extracto seco de *Embllica officinalis*, resveratrol, vitaminas, y minerales. Cada comprimido contiene:

Isoflavonas de soja	40 mg
Pantotenato de calcio	9 mg
d-Biotina	0,5-0,15 mg
Triclorhidrato de espermidina	0,5 mg
Rutina	2,5 mg - 12 mg

## ES 2 450 390 T3

Extracto seco de <i>Emblica officinalis</i>	100 mg
Resveratrol	0,5 mg
Zeaxantina	2 mg
Quelato de aminoácido de cinc	37,5 mg (equivalente a 7,5 mg de cinc)
Quelato de aminoácido de cobre	12 mg (equivalente a 1,2 mg de Cobre)
Ácido fólico	0,2-0,3 mg
Celulosa microcristalina	60-150 mg
Dihidrato de fosfato dibásico de calcio	100-300 mg
Hidroxipropil metilcelulosa	40-120 mg
Dextrina de tapioca	40-100 mg
Goma arábica	2-20 mg
Behenato de glicerilo	5-10 mg
Dióxido de silicio	2,5-10 mg
Óxido de hierro amarillo E172	0,1-0,3 mg
Óxido de hierro rojo E172	0,1-0,3 mg
Dióxido de titanio	1,5-3,5 mg
Ácido esteárico	1-2 mg

### Ejemplo 4

5 **[0028]** Granulado extemporáneo no efervescente, con una base compuestos donadores de azufre (metilsulfonilmetano) y Zeaxantina.

**[0029]** Cada dosis contiene:

Metilsulfonilmetano	200 mg
Zeaxantina	2 mg
Maltitol en polvo	100-300 mg
Almidón glicolato sódico	100-300 mg
Goma arábica	100-500 mg
Sorbitol en polvo	5-9 mg
Acesulfamo potásico	0,5-1,5 mg
Aspartamo	0,25-1,25 mg
Fumarato de estearilo y sodio	10-30 mg
Aromatizantes	c.s.

### 10 Ejemplo 5

**[0030]** Comprimidos de suplemento dietético para uso oral con Zeaxantina, Rutina, Espermidina, L-Arginina, *Ajuga reptans*, Quercetina, vitaminas, y minerales.

15 **[0031]** Cada comprimido contiene:

Rutina	2,5 mg
Zeaxantina	2 mg
Triclorhidrato de espermidina	0,5 mg
d-Pantotenato de calcio	9 mg
d-Biotina	0,15 mg

## ES 2 450 390 T3

Quercitina	0,9 mg
Aceite de borraja (ácidos grasos poliinsaturados omega-6)	40-100 mg
Rutina	3-12 mg
Clorhidrato de L-arginina	242 mg
Extracto seco de <i>Ajuga reptans</i>	5 mg
Quelato de aminoácido de cinc	37,5 mg (equivalente a 7,5 mg de cinc)
Quelato de aminoácido de cobre	12 mg (equivalente a 1,2 mg de Cobre)
Dextrina de tapioca	40-100 mg
Celulosa microcristalina	130-200 mg
Dihidrato de fosfato dibásico de calcio	50-200 mg
Hidroxipropil metilcelulosa	40-100 mg
Mono y diglicéridos de ácidos grasos	5-10 mg
Dióxido de silicio	5-10 mg
Ácido esteárico	1-2 mg
Dióxido de titanio	1,5-3,5 mg
Óxido de hierro rojo	0,1-0,3 mg
Riboflavina (agente colorante)	0,1-0,3 mg

### Ejemplo 6

5 **[0032]** Suplemento dietético en comprimidos para uso oral con ácidos lácticos y nutrientes útiles para reequilibrar la descamación del cuero cabelludo. Cada comprimido contiene:

Rutina	2,5 mg
Zeaxantina	2 mg
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	10 <sup>9</sup> cfu/tab (1.000 millones de cfu/g)
Fibra dietética insoluble	20-40 mg
Inulina	20-40 mg
Metionina	200 mg
Vitamina B5 (Pantotenato de calcio)	9 mg
Clorhidrato de vitamina B6	2,421 mg (equivalente a 2 mg de Piridoxina).
Biotina	0,23 mg
Vitamina A	1200 mg
Vitamina B2 (Riboflavina)	1,60 mg
Extracto seco de hojas de <i>Ajuga reptans</i>	2,5 mg
Quelato de aminoácido de cinc	37,5 mg (equivalente a 7,5 mg de Cinc)
Vitamina C (ácido ascórbico)	90 mg
Acetato de vitamina E (dl-alfa tocoferol)	15 mg
Levadura de selenio	15 mg (equivalente a 30 mg de Selenio)
Fosfato tricálcico	28-32 mg
Celulosa microcristalina	100-200 mg
Hidrogenofosfato de calcio anhidro	50-100 mg
Estearato de magnesio	6-10 mg
Dióxido de silicio	4-10 mg

Ejemplo 7

**[0033]** Gel de peinado con Zeaxantina, Rutina, Espermidina.

Nombre INCI de los ingredientes	% p/p
Poliacrilato-14	0,7-2
Hidroxipropil guar	0,5-5
Hidroximetilglicinato sódico	0,1-1
Benzofenona-4	0,1-3
EDTA tetrasódico	0,1-0,8
Taurina	0,01-0,08
Pantotenato de calcio	0,01-0,05
Extracto de <i>ajuga reptans</i> con contenido de fenilpropanoides > 50 %	0,001-0,1
Zeaxantina	0,001-0,1
Rutina	0,005-0,05
Espermidina HCl	0,001-0,05
Biotina	0,0001-0,05
Agua	c.s. hasta 100

5

Ejemplo 8

**[0034]** Espuma fortalecedora sin aire con Zeaxantina, Rutina, y Espermidina.

Nombre INCI de los ingredientes	% p/p
Alcohol	9,5-20
Extracto de hoja de <i>boehmeria nipononivea</i>	1-5,5
Taurina	1-5,5
Glicerina	1-3,5
Anfoacetato de oliva sódico	0,5-2
Pantotenato de calcio	0,1-2
Tocoferoles ( $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ )	0,1-2
Policuaternio-16	0,02-1
EDTA disódico	0,02-0,08
Extracto de hoja de <i>ajuga reptans</i>	0,02-0,05
Espermidina HCl	0,01-0,05
Zeaxantina	0,1-0,5
Rutina	0,1-0,5
Metabisulfito potásico	0,01-0,05
<i>Vitis vinifera</i>	0,01-0,05
Biotina	0,002-0,05
Ácido cítrico	0,1-0,3
Agua	c.s. hasta 100

10

Ejemplo 9

**[0035]** Loción capilar fortalecedora con Zeaxantina, Rutina, y Espermidina.

## ES 2 450 390 T3

Nombre INCI de los ingredientes	% p/p
Alcohol	10,5-20
Extracto de <i>juglans regia</i>	1-4,5
Aceite de ricino hidrogenado PEG-40	0,5-3
Pantotenato de calcio	0,1-0,5
Perfume	0,1-0,5
EDTA disódico	0,05-0,1
Ácido cítrico	0,05-0,1
Extracto de hoja de <i>ajuga reptans</i>	0,05-0,1
Espermidina HCl	0,01-0,05
Zeaxantina	0,1-0,3
Rutina	0,1-0,5
Biotina	0,003-0,05
Lecitina	0,002-0,005
Polisorbato 80	0,001-0,005
Agua	c.s. hasta 100

### Ejemplo 10

**[0036]** Acondicionador reestructurante con Zeaxantina, Rutina, y Espermidina.

5

Nombre INCI de los ingredientes	% p/p
Alcohol cetearílico	1,5-5,5
Dimeticona	3-4,5
Estearato del glicerilo	4-5,5
Lactato de alquilo C12-13	1,5-3
Cloruro de cetrimonio	1-3,5
Estearato de PEG-100	1-3,5
Dimeticonol	1-2,5
Xilitol	1-2,5
Fenoxietanol	0,5-1
Propilenglicol	0,5-1
Hidroxietilcelulosa	0,5-1
Pantenol	0,5-1
Perfume	0,5-1
Trimetilsililmodimeticona	0,2-1
Metilparabeno	0,1-1
EDTA disódico	0,1-1
Butilenglicol	0,1-1
Etilparabeno	0,01-0,05
Ácido láctico	0,01-0,05
Propilparabeno	0,01-0,05
Pantotenato cálcico	0,001-0,005
Zeaxantina	0,0005-0,01



## ES 2 450 390 T3

Nombre INCI de los ingredientes	% p/p
Rutina	0,0005-0,01
Espermidina HCl	0,0001-0,005
Biotina	0,00001-0,0005
Agua	c.s. hasta 100

### Ejemplo 11

5 **[0037]** Gel máscara antipérdida del cabello con Zeaxantina, Rutina, y Espermidina.

Nombre INCI de los ingredientes	% p/p
Glicerina	1,5-4,5
"Copolímero de taurato de acrilol-dimetilo amonio/VP"	1-5,5
Ciclopentasiloxano	1-5,5
Fenoxietanol	0,1-0,8
Perfume	0,1-0,5
Silicona cuaternaria-15	0,1-0,5
Acetato de tocoferilo	0,1-0,5
Dimeticona	0,1-0,3
Metilparabeno	0,1-0,5
Glicirrizato de amonio	0,1-0,5
Metoxicinamato de etilo y hexilo	0,05-0,1
EDTA disódico	0,05-0,1
Etilparabeno	0,02-0,05
Laurato de glicerilo	0,02-0,05
Pantotenato de calcio	0,02-0,05
Propilparabeno	0,02-0,05
Zeaxantina	0,001-0,1
Rutina	0,01-0,1
Espermidina HCl	0,001-0,005
Biotina	0,0001-0,005
Agua	c.s. hasta 100

### EJEMPLO 12

10 **[0038]** Champú fortalecedor con Zeaxantina, Rutina, y Espermidina.

Nombre INCI de los ingredientes	% p/p
Laureth sulfato de magnesio	2-8,5
Lauroil sarcosinato sódico	2-5,5
Laureth sulfosuccinato disódico	1-5,5
Palmato de glicerilo hidrogenado PEG-200	1-5,5
Cocamida mipa	1-5,5
Glicerina	0,5-1
Perfume	0,5-1

## ES 2 450 390 T3

Nombre INCI de los ingredientes	% p/p
Diestearato de glicol	0,5-1
Ácido cítrico	0,5-1
Laureth-7	0,5-1
Cocoato de glicerilo PEG-7	0,5-1
Betaína	0,5-1
Lauril metil gluceth-10 cloruro de hidroxipropildimonio	0,5-1
Policuaternio-10	0,2-0,5
Hidroximetilglicinato sódico	0,2-0,5
Proteína de trigo undecilenoil potásica	0,2-0,5
EDTA tetrasódico	0,2-0,5
Pantenol	0,2-0,5
Silicona cuaternaria-15	0,1-0,5
Aminoácidos de la seda	0,1-0,5
Pareth-9 C11-C15	0,03-0,06
Anfoacetato de oliva sódico	0,03-0,06
Pantotenato de calcio	0,01-0,05
BHA	0,01-0,05
Zeaxantina	0,001-0,01
Rutina	0,001-0,01
Espermidina HCl	0,001-0,01
Biotina	0,0001-0,005
Agua	c.s. hasta 100

### EJEMPLO 13

5 **[0039]** Gel de peinado con Zeaxantina, Rutina, Espermidina, e isoflavonas de soja.

Nombre INCI de los ingredientes	% p/p
Poliacrilato-14	0,7-2
Hidroxipropil guar	0,5-5
Hidroximetilglicinato sódico	0,1-1
Benzofenona-4	0,1-3
EDTA tetrasódico	0,1-0,8
Taurina	0,01-0,08
Pantotenato de calcio	0,01-0,05
Extracto de cultivos celulares de <i>ajuga reptans</i> con contenido en fenilpropanoides > 50 %	0,001-0,1
Zeaxantina	0,001-0,1
Rutina	0,005-0,02
Espermidina HCl	0,001-0,05
Isoflavonas de soja	0,001-0,5
Biotina	0,0001-0,001
Agua	c.s. hasta 100

Ejemplo 14

**[0040]** Espuma sin aire fortalecedora con Zeaxantina, Rutina, Espermidina, e isoflavonas de soja.

Nombre INCI de los ingredientes	% p/p
Alcohol	9,5-20
Extracto de hoja de <i>boehmeria nipononivea</i>	1-5,5
Taurina	1-5,5
Glicerina	1-3,5
Anfoacetato de oliva sódico	0,5-2
Pantotenato de calcio	0,1-2
Tocoferoles ( $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ )	0,1-2
Policuaternio-16	0,02-1
EDTA disódico	0,02-0,08
Extracto de hoja de <i>ajuga reptans</i>	0,02-0,05
Espermidina HCl	0,1-1
Zeaxantina	0,1-1
Rutina	0,1-1
Metabisulfito potásico	0,01-0,05
<i>Vitis vinifera</i>	0,01-0,05
Biotina	0,002-0,05
Isoflavonas de soja	0,001-0,5
Ácido cítrico	0,1-0,3
Agua	c.s. hasta 100

5

Ejemplo 15

**[0041]** Loción capilar fortalecedora con Zeaxantina, Rutina, Espermidina, e isoflavonas de soja.

Nombre INCI de los ingredientes	% p/p
Alcohol	10,5-20
Extracto de <i>juglans regia</i>	1-4,5
Aceite de ricino hidrogenado PEG-40	0,5-3
Pantotenato de calcio	0,1-0,5
Perfume	0,1-0,5
EDTA disódico	0,05-0,1
Ácido cítrico	0,05-0,1
Extracto de hoja de <i>ajuga reptans</i>	0,05-0,1
Espermidina HCl	0,01-0,05
Zeaxantina	0,1-1
Rutina	0,1-1
Biotina	0,003-0,05
Lecitina	0,002-0,005
Polisorbato 80	0,001-0,005
Isoflavonas de soja	0,001-0,5

10

## ES 2 450 390 T3

Nombre INCI de los ingredientes	% p/p
Agua	c.s. hasta 100

### Ejemplo 16

- 5 **[0042]** Acondicionador reestructurante con Zeaxantina, Rutina, Espermidina, e isoflavonas de soja.

Nombre INCI de los ingredientes	% p/p
Alcohol cetearílico	1,5-5,5
Dimeticona	3-4,5
Estearato de glicerilo	4-5,5
Lactato de alquilo C12-13	1,5-3
Cloruro de cetrimonio	1-3,5
Estearato PEG-100	1-3,5
Dimeticonol	1-2,5
Xilitol	1-2,5
Fenoxietanol	0,5-1
Propilenglicol	0,5-1
Hidroxietilcelulosa	0,5-1
Pantenol	0,5-1
Perfume	0,5-1
Trimetilsililamodimeticona	0,2-1
Fitantriol	0,1-1
Metilparabeno	0,1-1
EDTA disódico	0,1-1
Butilenglicol	0,1-1
Etilparabeno	0,01-0,05
Ácido láctico	0,01-0,05
Propilparabeno	0,01-0,05
Diestearato de Poligliceril-3	0,01-0,05
Pantotenato de calcio	0,001-0,005
Zeaxantina	0,0005-0,001
Rutina	0,0005-0,001
Isoflavonas de soja	0,001-0,5
Espermidina HCl	0,0001-0,005
Biotina	0,00001-0,0005
Agua	c.s. hasta 100

### Ejemplo 17

- 10 **[0043]** Gel máscara antipérdida del cabello con Zeaxantina, Rutina, Espermidina, e isoflavonas de soja.

Nombre INCI de los ingredientes	% p/p
Glicerina	1,5-4,5
Copolímero de taurato de acriloil-dimetilo amonio/VP	1-5,5

## ES 2 450 390 T3

Nombre INCI de los ingredientes	% p/p
Ciclopentasiloxano	1-5,5
Fenoxietanol	0,1-0,8
Perfume	0,1-0,5
Silicona cuaternaria-15	0,1-0,5
Acetato de tocoferilo	0,1-0,5
Dimeticona	0,1-0,3
Metilparabeno	0,1-0,5
Glicirrizato de amonio	0,1-0,5
Metoxicinamato de etilo y hexilo	0,05-0,1
EDTA disódico	0,05-0,1
Etilparabeno	0,02-0,05
Laurato de glicerilo	0,02-0,05
Pantotenato de calcio	0,02-0,05
Propilparabeno	0,02-0,05
Zeaxantina	0,001-0,01
Rutina	0,01-0,1
Isoflavonas de soja	0,001-0,5
Espermidina HCl	0,0001-0,005
Biotina	0,0001-0,005
Agua	c.s. hasta 100

### Ejemplo 18

- 5 **[0044]** Champú fortalecedor con Zeaxantina, Rutina, Espermidina, e isoflavonas de soja.

Nombre INCI de los ingredientes	% p/p
Laureth sulfato de magnesio	2-8,5
Lauroil sarcosinato sódico	2-5,5
Laureth sulfosuccinato disódico	1-5,5
Palmato de glicerilo hidrogenado PEG-200	1-5,5
Cocamida mipa	1-5,5
Glicerina	0,5-1
Perfume	0,5-1
Diestearato de glicol	0,5-1
Ácido cítrico	0,5-1
Laureth-7	0,5-1
Cocoato de glicerilo PEG-7	0,5-1
Betaína	0,5-1
Lauril metil gluceth-10 cloruro de hidroxipropildimonio	0,5-1
Policuaternio-10	0,2-0,5
Hidroximetilglicinato sódico	0,2-0,5
Proteína de trigo undecilenoil potásica	0,2-0,5

## ES 2 450 390 T3

Nombre INCI de los ingredientes	% p/p
EDTA tetrasódico	0,2-0,5
Pantenol	0,2-0,5
Silicona cuaternaria-15	0,1-0,5
Aminoácidos de seda	0,1-0,5
Pantotenato de calcio	0,01-0,05
Laureth-4	0,01-0,05
BHA	0,01-0,05
Zeaxantina	0,001-0,01
Rutina	0,001-0,01
Espermidina HCl	0,001-0,01
Isoflavonas de soja	0,001-0,5
Biotina	0,0001-0,005
Agua	c.s. hasta 100

### Ejemplo 19

5 **[0045]** Champú fortalecedor con Zeaxantina, Rutina, y Espermidina.

Nombre INCI de los ingredientes	% p/p
Laureth sulfato de magnesio	2-8,5
Lauroil sarcosinato sódico	2-5,5
Laureth sulfosuccinato disódico	1-5,5
Galato de epigallocatequina-3	1-5,5
Palmato de glicerilo hidrogenado PEG-200	1-5,5
Cocamida mipa	0,5-1
Glicerina	0,5-1
Perfume	0,5-1
Diestearato de glicol	0,5-1
Ácido cítrico	0,5-1
Laureth-7	0,5-1
Cocoato de glicerilo PEG-7	0,5-1
Betaína	0,5-1
Lauril metil gluceth-10 cloruro de hidroxipropildimonio	0,2-0,5
Policuaternio-10	0,2-0,5
Hidroximetilglicinato sódico	0,2-0,5
Proteína de trigo undecilenoil potásica	0,2-0,5
EDTA tetrasódico	0,2-0,5
Pantenol	0,1-0,5
Silicona cuaternaria-15	0,1-0,5
Aminoácidos de seda	0,01-0,05
Pantotenato de calcio	0,01-0,05
Laureth-4	0,01-0,05

## ES 2 450 390 T3

Nombre INCI de los ingredientes	% p/p
BHA	0,001-0,01
Zeaxantina	0,001-0,01
Rutina	0,001-0,01
Espermidina HCl	0,001-0,05
Biotina	0,0001-0,005
Agua	c.s. hasta 100

### Ejemplo 20

- 5 **[0046]** Loción capilar fortalecedora con Zeaxantina, Rutina, y Espermidina.

Nombre INCI de los ingredientes	% p/p
Alcohol	10,5-20
Extracto de <i>juglans regia</i>	1-4,5
Galato de epigallocatequina-3	0,5-3
Aceite de ricino hidrogenado PEG-40	0,1-0,5
Pantotenato de calcio	0,1-0,5
Perfume	0,05-0,1
EDTA disódico	0,05-0,1
Ácido cítrico	0,05-0,1
Extracto de hoja de <i>ajuga reptans</i>	0,05-0,1
Espermidina HCl	0,1-0,3
Zeaxantina	0,1-0,5
Rutina	0,003-0,05
Biotina	0,002-0,05
Lecitina	0,001-0,05
Polisorbato 80	0,001-0,05
Isoflavonas de soja	0,001-0,5
Agua	c.s. hasta 100

### Ejemplo 21

- 10 **[0047]** Champú fortalecedor con Zeaxantina y Espermidina.

Nombre INCI de los ingredientes	% p/p
Laureth sulfato de magnesio	2-8,5
Lauroil sarcosinato sódico	2-5,5
Laureth sulfosuccinato disódico	1-5,5
Palmato de glicerilo hidrogenado PEG-200	1-5,5
Cocamida mipa	1-5,5
Glicerina	0,5-1
Perfume	0,5-1
Diestearato de glicol	0,5-1
Ácido cítrico	0,5-1

## ES 2 450 390 T3

Nombre INCI de los ingredientes	% p/p
Laureth-7	0,5-1
Cocoato de glicerilo PEG-7	0,5-1
Betaína	0,5-1
Lauril metil gluceth-10 cloruro de hidroxipropildimonio	0,5-1
Policuaturnio-10	0,2-0,5
Hidroximetilglicinato sódico	0,2-0,5
Proteína de trigo undecilenoil potásica	0,2-0,5
EDTA tetrasódico	0,2-0,5
Pantenol	0,2-0,5
Silicona cuaternaria-15	0,1-0,5
Aminoácidos de seda	0,1-0,5
Pantotenato de calcio	0,01-0,05
Laureth-4	0,01-0,05
BHA	0,01-0,05
Zeaxantina	0,001-0,01
Espermidina HCl	0,001-0,01
Linalool	0,001-0,01
Biotina	0,001-0,005
Agua	c.s. hasta 100

Ejemplo 22 (no forma parte de la invención)

5 **[0048]** Espuma sin aire fortalecedora con Rutina y Espermidina (sin Zeaxantina).

Nombre INCI de los ingredientes	% p/p
Alcohol	9,5-20
Extracto de hoja de <i>boehmeria nipononivea</i>	1-5,5
Taurina	1-5,5
Glicerina	1-3,5
Anfoacetato de oliva sódico	0,5-2
Pantotenato de calcio	0,1-2
Tocoferoles ( $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ )	0,1-2
Policuaturnio-16	0,02-1
EDTA disódico	0,02-0,08
Extracto de hoja de <i>ajuga reptans</i>	0,02-0,05
Espermidina HCl	0,01-0,5
Rutina	0,1-1
Metabisulfito potásico	0,1-0,5
<i>Vitis vinifera</i>	0,01-0,05
Biotina	0,002-0,05
Ácido cítrico	0,1-0,3
Agua	c.s. hasta 100



Ejemplo 23

**[0049]** Loción capilar fortalecedora con zeaxantina y rutina.

Nombre INCI de los ingredientes	% p/p
Alcohol	10,5-20
Extracto de <i>juglans regia</i>	1-4,5
Aceite de ricino hidrogenado PEG-40	0,5-3
Pantotenato de calcio	0,1-0,5
Perfume	0,1-0,5
EDTA disódico	0,05-0,1
Ácido cítrico	0,05-0,1
Extracto de hoja de <i>ajuga reptans</i>	0,05-0,1
Zeaxantina	0,01-0,5
Rutina	0,1-0,3
Biotina	0,001-0,05
Lecitina	0,002-0,005
Polisorbato 80	0,002-0,005
Isoflavonas de soja	0,001-0,5
Agua	c.s. hasta 100

5

**Breve descripción de las figuras**

**[0050]** A continuación se describe un estudio experimental de los efectos de la invención por referencia a las Figuras 1 a 4 de los diagramas anexos.

10

**[0051]** Estas muestran gráficos referentes al porcentaje de variación de la actividad apoptótica de caspasa-3 en presencia de los ingredientes activos de la invención, como se describe en detalle posteriormente.

**[0052]** Las abreviaturas de los gráficos se definen en la siguiente Tabla A.

15

**Estudio experimental**Materiales y métodos

20

Actividad de caspasa-3

**[0053]** La actividad de caspasa-3 se evaluó usando el ensayo colorimétrico Apo Target™ Caspase-3/ CPP32 con DEVD-pNA como sustrato (BioSource International, Camarillo, CA). DEVD-pNA consiste en un grupo cromóforo (p-nitroanilida (p-NA)) y un tetrapéptido sintético (DEVD-Asp-Glu-Val-Asp) que representa la secuencia de consenso para el corte proteolítico catalizado por la caspasa-3. El ensayo se llevó a cabo siguiendo las especificaciones indicadas por el fabricante al detalle, usando una cantidad igual de proteína total (200 µg) para cada muestra.

25

**[0054]** Cada muestra se ensayó por duplicado. La actividad se evaluó midiendo la absorbancia a 405 nm (en los gráficos, ABS 405 nm) con un espectrómetro automático para placas de 96 pocillos (MPT Reader DV990 BVG) que realiza una lectura doble para cada pocillo.

30

Lisis celular

**[0055]** La lisis celular es una técnica aplicada para extraer todas las proteínas de las células de cultivo que se van a analizar. Existen diversos protocolos de lisis: el que se usa en los ensayos experimentales que se describen en el presente documento consisten en el uso de un tampón altamente desnaturizante (tampón de lisis, proporcionado en el kit de ensayo de actividad de caspasa-3). Después de la incubación con los diversos ingredientes activos, el tampón de lisis se coloca en las placas celulares, y a continuación se usa un raspador directamente sobre la capa de células para ayudar a recoger la mayor cantidad posible. A continuación se mejora la extracción de proteínas con una incubación en hielo (4 °C) durante 10 minutos. Los residuos celulares se precipitan por centrifugación a 10.000 x g durante 1 minuto. Se recuperan los lisados y se congelan a -80 °C.

35

40

Ensayo de proteínas: método de Lowry-Ciocalteau

5 **[0056]** Se usa un espectrómetro para determinar la concentración de las proteínas por medida de la absorbancia de la luz monocromática de una sustancia. Este valor es una función del número de moléculas que encuentra el rayo de luz, que a su vez depende de dos factores: el espesor de la solución que la luz tiene que atravesar (se usa habitualmente una cubeta con un espesor de un centímetro) y la concentración de la sustancia a evaluar. Para llevar a cabo la determinación, se construye una curva de calibración en la que se informa la variación de la absorbancia en función de una cantidad conocida de proteína en las condiciones habituales de ensayo. Estos puntos descansarían, sin considerar el error experimental, en una línea que pasa a través del origen de coordenadas. Tomando el valor de la absorción de una muestra conocida en el eje y de esta curva estándar, es posible leer la correspondiente concentración de la muestra a evaluar en el eje x. Se usan duplicados tanto para las muestras como para la línea estándar. La línea estándar se construye usando BSA.

15 **[0057]** La lectura espectrofotométrica de la absorbancia se lleva a cabo a una longitud de onda de 605 nm del producto de reacción entre el reactivo de Folin-Ciocalteau, una solución de sales de sodio de ácidos tungstíco, molibídico, y fosfórico, y los grupos alcohol de los restos de tirosina de las proteínas en presencia de iones  $Cu^{2+}$ . La base química para la formación de color es la reducción del reactivo de Folin-Ciocalteau producida por los iones de cobre.

20 Evaluación de la actividad antiapoptótica de Zeaxantina, Rutina, y Espermidina: inhibición de la activación de la enzima caspasa-3

25 **[0058]** Se estudiaron los efectos antiapoptóticos de los ingredientes activos de la presente invención, Zeaxantina, Rutina, y Espermidina, en células HFDPC-c (PromoCell®) mantenidas en cultivo en presencia de medio de cultivo "Follicle Dermal Papilla Growth Medium", y siguiendo las indicaciones del fabricante (PromoCell®).

30 **[0059]** La actividad de caspasa-3 se evaluó usando el ensayo colorimétrico Apo Target™ Caspase-3/ CPP32, y la concentración de proteína se evaluó usando el método Lowry-Ciocalteau y un estándar de BSA, como se ha descrito anteriormente.

Resultados

35 **[0060]** La inducción de apoptosis en las células HFDPC-c, evidenciada por el aumento de la actividad de caspasa-3, se obtuvo a través de una incubación de 24 horas de las células con Estaurosporina ( $1\mu M$ ), como se muestra en la Figura 1.

40 **[0061]** La actividad de los diversos ingredientes activos de la presente invención se evaluó añadiendo los mismos, en diferentes concentraciones como se especifica en la siguiente Tabla A, al medio de cultivo celular inmediatamente después de la adición de Estaurosporina ( $1\mu M$ ). La incubación también se mantuvo durante 24 horas en este caso.

**[0062]** Al final de la incubación, las placas en las que se cultivaron las células se colocaron en un lecho de hielo, se lavaron una vez con PBS frío y se incubaron con el tampón de lisis. Después de la lisis, se llevó a cabo el ensayo de proteínas y de la actividad de caspasa-3.

Tabla A

Ingredientes activos usados en los ensayos de evaluación de la actividad de caspasa-3		
Ingrediente activo	[ $\mu M$ ]	[ $\mu g/ml$ ]
Espermidina * (S)	0,1	0,026
	1	0,264
Rutina (R)	2	1,34
	20	13,42
Zeaxantina (Z)	0,4	4,54
	4	45,44
	2	22,72
	1	11,36
* Usada como triclorhidrato de espermidina		

**[0063]** El efecto sobre la actividad de caspasa-3 se evaluó después de las incubaciones con los ingredientes activos usados individualmente, cada uno por separado como se muestra en la Figura 2, y en diversas combinaciones entre los mismos como se muestra en la Figura 3 (pares) y en la Figura 4 (tríadas).

5 **[0064]** En la Tabla B se presentan los datos del porcentaje de cambio de la actividad de caspasa-3 obtenidos para los ingredientes activos individuales y sus combinaciones, con respecto a un 100 % de actividad para Estaurosporina 1  $\mu$ M.

10 **[0065]** En la columna del ingrediente activo, R2 indica, por ejemplo, Rutina en una concentración de 2,2  $\mu$ M; R20 indica Rutina en una concentración de 22  $\mu$ M, y así sucesivamente, como se ha especificado anteriormente en la Tabla A. Por ejemplo, R2 + S1 + Z4 indica una combinación ternaria en la que la Rutina está presente en una concentración de 2,2  $\mu$ M; la Espermidina está presente en una concentración de 1  $\mu$ M; y la Zeaxantina está presente en una concentración de 80  $\mu$ M. La combinación R2 + S1 + Z4 corresponde a una cantidad de ingrediente activo puro de Rutina = 2,5 mg; una cantidad de ingrediente activo puro de Espermidina = 0,5 mg; y una cantidad de ingrediente activo puro de Zeaxantina = 4 mg, con una relación en peso relativa de R:S:Z = 5:1:8. De forma análoga, S1 + R2 + Z2 corresponde a una cantidad de ingrediente activo puro de Rutina = 2,5 mg; una cantidad de ingrediente activo puro de Espermidina = 0,5 mg; y una cantidad de ingrediente activo puro de Zeaxantina = 2 mg, con una relación en peso relativa de R:S:Z = 5:1:4.

Tabla B

Porcentaje de inhibición de la actividad de caspasa-3					
	Estaurosporina	Ingredientes activos [ $\mu$ M]	Correspondiente a mg	% de actividad de caspasa-3	% de inhibición de la actividad de caspasa
1	ST 1 $\mu$ M	//	//	100	0
2	ST 1 $\mu$ M	S0,1	0,05	78,36	21,64
3	ST 1 $\mu$ M	S1	0,5	63,10	36,90
4	ST 1 $\mu$ M	R2	2,5	67,90	32,10
5	ST 1 $\mu$ M	R20	25	53,73	46,27
6	ST 1 $\mu$ M	Z0,4	0,4	71,00	29,00
7	ST 1 $\mu$ M	Z4	4	86,80	13,20
8	ST 1 $\mu$ M	R2 + Z0,4	2,5 + 0,4	71,67	28,33
9	ST 1 $\mu$ M	R2 + S0,1	2,5 + 0,05	57,68	42,32
10	ST 1 $\mu$ M	R20 + Z0,4	25 + 0,4	65,87	34,13
11	ST 1 $\mu$ M	R20 + Z4	25+4	40,95	59,05
12	ST 1 $\mu$ M	S0,1 +Z0,4	0,05 + 0,4	64,84	35,16
13	ST 1 $\mu$ M	S0,1 +Z4	0,05 + 4	54,61	45,39
14	ST 1 $\mu$ M	S1 + R20	0,5 + 25	75,09	24,91
15	ST 1 $\mu$ M	S1 + Z0,4	0,5 + 0,4	71,67	28,33
16	ST 1 $\mu$ M	S1 +Z4	0,5 + 4	62,11	37,89
17	ST 1 $\mu$ M	R2+Z4	2,5 + 4	54,89	45,11
18	ST 1 $\mu$ M	R20 + S0,1	25 + 0,05	60,14	39,86
19	ST 1 $\mu$ M	R2 + S0,1 + Z0,4	2,5 + 0,05 + 0,4	48,25	51,75
20	ST 1 $\mu$ M	R2 + S0,1 + Z4	2,5 + 0,05+4	51,70	48,30
21	ST 1 $\mu$ M	R20 + S0,1 + Z0,4	25 + 0,05 + 0,4	49,60	50,40
22	ST 1 $\mu$ M	R20 + S0,1 + Z4	25 + 0,05 + 4	40,21	59,79

20

Porcentaje de inhibición de la actividad de caspasa-3					
	Estaurosporina	Ingredientes activos [μM]	Correspondiente a mg	% de actividad de caspasa-3	% de inhibición de la actividad de caspasa
23	ST 1 μM	R2 + S1 + Z0,4	2,5 + 0,5+0,4	44,70	55,30
24	ST 1 μM	R2 + S1 + Z4	2,5 + 0,5 + 4	46,80	53,20
25	ST 1 μM	R20 + S1 + Z0,4	25 + 0,5 + 0,4	68,53	31,47
26	ST 1 μM	R20 + S1 + Z4	25 + 0,5+4	61,53	38,47
27	ST 1 μM	R2 + S1 + Z2	2,5 + 0,5 + 2	48,40	51,60
28	ST 1 μM	R2 + S1 + Z1	2,5 + 0,5+ 1	47,30	52,70
Leyenda: ST = Estaurosporina Z = Zeaxantina R = Rutina S = Triclorhidrato de espermidina					

### Discusión

5 **[0066]** Por referencia a la Tabla B anterior y a los diagramas para una evaluación detallada de la actividad, se puede observar que:

- algunos pares de ingredientes activos (tal como por ejemplo, el par S0,1 + Z4) fueron más eficaces y superiores en su actividad antiapoptótica con respecto a los ingredientes activos individuales a la misma concentración, demostrando sinergia. Entre los pares ensayados, el valor más elevado de % de inhibición de la actividad de caspasa se observa para el par Zeaxantina + Rutina (véase R20 + Z4 que proporciona un 59,05 % de inhibición).
- En el caso de combinaciones ternarias, la actividad de la tríada R + S + Z es particularmente destacada considerando que la Zeaxantina añadida al par R + S mejora el % de inhibición de la actividad de caspasa de forma comparable incluso a una concentración baja; véase, por ejemplo, el caso de Z0,4 (50,4 % de inhibición) y Z4 (59,79 % de inhibición) en la asociación ternaria con el par R20 + S0,1.

**[0067]** Por lo tanto, se observa sinergia entre los ingredientes activos incluso con independencia de su aumento de concentración.

### 20 **Estudio clínico para la cura de alopecia androgénica y efluvio telogénico**

#### FUNDAMENTOS

25 **[0068]** A partir de los estudios anteriores, se evaluó una composición de la invención en un estudio clínico para evaluar su capacidad para controlar la senescencia y los procesos de apoptosis celular en los folículos pilosos que desencadena la pérdida del cabello en los seres humanos.

30 **[0069]** En las enfermedades tricológicas tales como alopecia androgénica, efluvio telogénico, y alopecia areata, los diversos componentes celulares que componen el folículo piloso experimentan un proceso apoptótico inducido por la alteración de los mecanismos de control celular que incluyen los sistemas para el intercambio de mensajes celulares (uniones gap) y el comienzo de la cascada de caspasa sin ADN.

35 **[0070]** Este envejecimiento prematuro de la papila dérmica del folículo provocado por estrés oxidativo se combina con diversos factores específicos, y en particular con la interacción de los receptores de andrógenos foliculares en la alopecia androgénica masculina y femenina.

#### MATERIALES Y MÉTODOS

40 **[0071]** Se realizó un ensayo clínico abierto se llevó a cabo con 50 sujetos (26 mujeres, 24 hombres) que padecían de efluvio telogénico y alopecia androgénica masculina y femenina. Se reclutaron voluntarios sanos entre 20 y 45 años de edad que padecían de alopecia androgénica y efluvio telogénico de acuerdo con los criterios estandarizados de inclusión y exclusión para este tipo de ensayo (ausencia de enfermedades internas y endocrinas, embarazo, supuesto de fármacos endocrinos o sometimiento a terapias endocrinas, terapias tricológicas sistémicas o tópicas simultáneas durante menos de seis meses).

45

[0072] El estudio se llevó a cabo de forma abierta a través de la administración de comprimidos de una composición de acuerdo con la invención que contenía R2 + S1 + Z2, que corresponde a una cantidad de ingrediente activo puro de Rutina = 2,5 mg; una cantidad de ingrediente activo puro de triclorhidrato de Espermidina = 0,5 mg; y una cantidad de ingrediente activo puro de Zeaxantina = 2 mg, con una relación en peso de R:S:Z = 5:1:4.

[0073] Cada sujeto recibió la dosificación necesaria durante 3 meses de tratamiento.

[0074] Las características de los sujetos en el momento del reclutamiento de la línea base se informan en la Tabla C.

Tabla C

Nº de sujetos	50
Edad (promedio en años)	34 ± 0,3
Edad a la que el sujeto comenzó a perder el cabello (promedio en años)	22 ± 0,5
% de sujetos con historia familiar de alopecia androgénica	28

Evaluación clínica

[0075] Se llevó a cabo la evaluación clínica dermatológica de los sujetos para determinar la diagnosis y el grado de calvicie androgénica y de efluvio telogénico, y se definió una calificación de mejora o empeoramiento partiendo del tiempo de reclutamiento, o la línea base, hasta un punto intermedio y el control final, de acuerdo con:

- T<sub>0</sub> = línea base;
- T<sub>1</sub> = control intermedio
- T<sub>2</sub> = control final

[0076] La evaluación se llevó a cabo de acuerdo con la calificación estandarizada que se usa en la mayoría de los ensayos clínicos de este tipo:

- Fuerte empeoramiento (-3)
- Fuerte mejoría (+3)
- Moderado empeoramiento (-2)
- Moderada mejoría (+2)
- Ligero empeoramiento (-1)
- Ligera mejoría (+1)
- Ningún cambio (0)

[0077] Los parámetros que se usaron para la evaluación clínica fueron: la evaluación del porcentaje de anagén a través de la dermatoscopia, el diámetro del tallo del cabello, y un ensayo de tracción para la evaluación del grado de desprendimiento de cabello del cuero cabelludo. Se evaluaron el porcentaje de folículos en la fase de anagén a través de la técnica de dermatoscopia, considerada como la más fiable y menos invasiva. El diámetro del tallo del cabello se midió en T<sub>0</sub>, T<sub>1</sub> y T<sub>2</sub>. El diámetro del tallo indica el estado clínico del desarrollo de calvicie androgénica, en la que la miniaturización es uno de los síntomas patognomónicos. El diámetro del tallo también es un índice del estado de dificultad del folículo para establecer un proceso apoptótico en la papila dérmica y los componentes epiteliales de la matriz.

[0078] Aumento en la fase de anagén: en presencia de una patología tricológica, la fase de anagén en los folículos pilosos tiende a ser más corta debido a la modificación de los mecanismos de control del Reloj del Ciclo Capilar. La disminución de anagén determina el paso rápido del folículo a las fases progresivas de muerte celular (catagén, telogén) inducido por procesos celulares apoptóticos (principalmente a través de la inducción de la cascada de caspasa).

[0079] Por esta razón, el aumento en la fase de anagén durante la terapia tricológica es un indicador evidente del efecto positivo de las sustancias usadas en la vida de las células foliculares pilosas.

[0080] Finalmente, el ensayo de tracción indica la gravedad de la pérdida de cabello, considerando el número de cabellos recogidos después de una determinada tracción realizada por el operador: se retiran los cabellos que han perdido adhesión con las capas dérmica y epidérmica. Cuanto mayor es la cantidad de cabello retirado en cada tracción, mayor es la gravedad de la pérdida de cabello. Una disminución de los cabellos arrancados por ensayo indica una reducción en la pérdida de cabello. Finalmente, se llevó a cabo una evaluación de cualquier efecto secundario cutáneo o sistémico a través de un examen dermatológico y cualquier otra investigación considerada

necesaria.

Resultados

5 **[0081]** El resumen de los datos promedio obtenidos en la línea base (T<sub>0</sub>) se presenta en la siguiente Tabla D.

Tabla D

Diámetro del tallo del cabello (promedio en mm)	0,5
Anagén (promedio)	65 %
Evaluación clínica (% de mejoría)	=
Ensayo de tracción (calificación promedio)	3

**[0082]** El resumen de los datos promedio obtenidos en el punto intermedio (T<sub>1</sub>) se presenta en la siguiente Tabla E.

Tabla E

Diámetro del tallo del cabello (promedio en mm)	0,7
Anagén (promedio)	72 %
Evaluación clínica (% de mejoría)	70 %
Aumento en el diámetro del tallo del cabello: (nº de sujetos)	35 (70 %)
Ensayo de tracción (calificación promedio)	1

10

**[0083]** El resumen de los datos promedio obtenidos en el punto final (T<sub>2</sub>) se presenta en la siguiente Tabla F.

Tabla F

Diámetro del tallo del cabello (promedio en mm)	0,8
Anagén (promedio)	84 %
Evaluación clínica (% de mejoría)	88 %
Aumento en el diámetro del tallo del cabello: (nº de sujetos)	43 (86 %)
Ensayo de tracción (calificación promedio)	0

15

**[0084]** Los datos demuestran la mejoría en todos los parámetros evaluados en los pacientes sometidos a tratamiento con la composición de la invención.

**[0085]** En particular:

20

**[0086]** El aumento del diámetro del tallo es estadísticamente significativo, pasando de un valor promedio de 0,5 mm (media) en T<sub>0</sub> a 0,8 mm (media) en T<sub>2</sub>, un índice del estímulo de la elongación de la fase de anagén de la papila dérmica (62 % de aumento en el diámetro del tallo). Este resultado se obtuvo en un 86 % de los sujetos tratados con la invención. También es interesante observar que la respuesta positiva fue suficientemente rápida: un 70 % de la evaluación de la mejoría clínica y 35 sujetos de 50 (70 %) ya en T<sub>1</sub>.

25

**[0087]** A este respecto, el valor promedio de anagén en los sujetos tratados en T<sub>0</sub> fue de un 65 %, pasando a un 72 % en T<sub>1</sub>, (+ 6,9 %), y un 84 % en T<sub>2</sub> (+ 22,6 %).

30

**[0088]** El juicio final de la evaluación clínica dermatológica refleja los resultados de los datos obtenidos. Se evalúa una mejoría global con respecto a las calificaciones definidas como fuerte mejoría y moderada mejoría en un porcentaje de un 86 % de los sujetos. Si también se considera una mejoría modesta como resultado positivo, el porcentaje de sujetos que se habrían beneficiado del tratamiento de la invención alcanzaría un 92 %. La calificación de evaluación de mejoría clínica se presenta en la Tabla G.

Tabla G

	Nº de sujetos
Fuerte mejoría	27
Moderada mejoría	16
Ligera mejoría	3
Ninguna variación	1
Ligero empeoramiento	2
Grave empeoramiento	1

**[0089]** Ensayo de tracción: los datos han mostrado una pronunciada disminución en la pérdida de cabello en 43 de los 50 sujetos ensayados (86 %). Los valores promedio de los ensayos se presentan en la siguiente Tabla H:

5

Tabla H

Ensayo de tracción	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>
Calificación	3	1	0
0 = ninguna pérdida 1 = pérdida mínima 2 = pérdida copiosa 3 = pérdida grave			

DISCUSIÓN

**[0090]** Los datos obtenidos a partir del ensayo clínico presentado anteriormente demuestran un notable aumento en los parámetros considerados significativos para la evaluación de la gravedad de una enfermedad tricológica, concretamente:

10

- \* aumento del diámetro del tallo del cabello
- \* modificación de la fase de anágén
- \* mejoría clínica dermatológica
- \* mejoría del ensayo de tracción

15

**[0091]** El aumento del diámetro del tallo del cabello fue indudablemente significativo en un 86 % de los sujetos tratados, evidencia de una mejoría del estado de los folículos y de la elongación de la fase de anágén, considerando también el aumento neto del porcentaje de folículos en anágén al final del tratamiento.

20

**[0092]** La mejoría en el ensayo de tracción fue igualmente obvia, con una reducción desde un valor de calificación promedio de 3 en T<sub>0</sub> a un valor promedio de 0 en T<sub>2</sub> en un 86 % de los sujetos evaluados en el estudio.

25

**[0093]** Finalmente, no se detectó ningún efecto secundario sistémico de los pacientes tratados.

**[0094]** Por lo tanto, la composición de la presente invención representa un medio terapéutico válido en alopecia androgénica y efluvio telogénico.

**[0095]** Para complementar los resultados clínicos que se han obtenido y descrito anteriormente, en la siguiente Tabla L se presenta la comparación de los datos que se han discutido anteriormente para la invención (R2 + S1 + Z2) con los datos correspondientes obtenidos en un estudio clínico análogo con la administración de una composición de acuerdo con la técnica anterior (documento de Patente EP 1469843 de los mismos Solicitantes) que contiene únicamente 0,5 mg/comprimido de espermidina como ingrediente activo, identificado en la Tabla L como S1.

30

35

Tabla L

	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>
	% de bulbos pilosos en fase anagén		
S1	59 %	64 %	71 %
R2 + S1+ Z2	65 %	72 %	84 %
	Calificación del ensayo de tracción		
S1	1,8	0,1	0,2
R2 + S1 + Z2	3	1	0
	Variación de anagén		
S1	=	+8 %	+20 %
R2 + S1 + Z2	=	+11 %	+29 %
	Variación del ensayo de tracción		
S1	=	-94 %	-89 %
R2 + S1+ Z2	=	-67 %	-100 %
T <sub>0</sub> = basal T <sub>1</sub> = control intermedio T <sub>2</sub> = control final			

**[0096]** Esta comparación muestra una mejoría significativa de todos los parámetros fundamentales que se han descrito anteriormente por la presente invención.



## REIVINDICACIONES

- 5 1. Zeaxantina, sola o combinada con rutina o espermidina, o tanto con rutina como con espermidina, para su uso en el tratamiento de trastornos del cuero cabelludo que incluyen alopecia inducida por quimioterapia, alopecia areata, alopecia androgénica y efluvio telogénico agudo.
- 10 2. El uso de zeaxantina, sola o combinada con rutina o espermidina, o tanto con rutina como con espermidina, para la preparación de una composición farmacéutica, dietética, o cosmética, para administración oral o tópica, adecuada para tratar trastornos del cuero cabelludo que incluyen alopecia inducida por quimioterapia, alopecia areata, alopecia androgénica y efluvio telogénico agudo.
- 15 3. El uso de acuerdo con la reivindicación 2 **caracterizado por** utilizar zeaxantina y rutina en dicha composición.
- 15 4. El uso de acuerdo con la reivindicación 3 **caracterizado por** utilizar zeaxantina en cantidades de 0,2 mg a 10 mg y rutina en cantidades de 0,5 mg a 25 mg en dicha composición.
- 20 5. El uso de acuerdo con la reivindicación 2 **caracterizado por** utilizar zeaxantina, rutina y espermidina en dicha composición.
- 20 6. El uso de acuerdo con la reivindicación 5 **caracterizado por** utilizar zeaxantina en cantidades de 0,2 mg a 10 mg, rutina en cantidades de 0,5 mg a 25 mg y espermidina en cantidades de 0,05 a 0,5 mg en dicha composición.
- 25 7. El uso de acuerdo con la reivindicación 5 **caracterizado por** utilizar zeaxantina, rutina y espermidina en una relación 4:5:1 en peso, respectivamente, en dicha composición.
- 25 8. El uso de acuerdo con la reivindicación 2 **caracterizado por** utilizar zeaxantina y espermidina en dicha composición.
- 30 9. El uso de acuerdo con la reivindicación 8 **caracterizado por** utilizar zeaxantina en cantidades de 0,2 mg a 10 mg y espermidina en cantidades de 0,05 a 0,5 mg en dicha composición.
- 35 10. Composición farmacéutica, dietética o cosmética para su uso en el tratamiento de trastornos del cuero cabelludo que incluyen alopecia inducida por quimioterapia, alopecia areata, alopecia androgénica y efluvio telogénico agudo, **caracterizada por** comprender como principio activo zeaxantina combinada con rutina o espermidina, o tanto con rutina como con espermidina, con excipientes para la administración tópica al cuero cabelludo.
- 40 11. Composición de acuerdo con la reivindicación 10 **caracterizada por** comprender un 0,0005-1 % p/p de Zeaxantina.
- 40 12. Composición de acuerdo con la reivindicación 10 **caracterizada por** comprender un 0,0005-1 % p/p de Zeaxantina y un 0,0001-1 % p/p de triclóridrato de Espermidina.
- 45 13. Composición de acuerdo con la reivindicación 10 **caracterizada por** comprender un 0,0005-1 % p/p de Zeaxantina, un 0,0005-1 % p/p de Rutina, y un 0,0001-1 % p/p de triclóridrato de Espermidina.
- 45 14. Composición farmacéutica, dietética o cosmética para administración oral o tópica, para tratar trastornos del cuero cabelludo que incluyen alopecia inducida por quimioterapia, alopecia areata, alopecia androgénica y efluvio telogénico agudo, **caracterizada por** comprender como principio activo zeaxantina combinada con espermidina, o tanto con rutina como con espermidina.
- 50 15. Composición de acuerdo con la reivindicación 14 **caracterizada por** comprender zeaxantina en cantidades de 0,2 mg a 10 mg, rutina en cantidades de 0,5 mg a 25 mg y espermidina en cantidades de 0,05 a 0,5 mg.
- 55 16. Composición de acuerdo con la reivindicación 14 **caracterizada por** comprender zeaxantina, rutina, y espermidina en una relación 4:5:1 en peso, respectivamente.
- 60 17. Composición de acuerdo con la reivindicación 14 **caracterizada por** comprender zeaxantina y espermidina.
- 60 18. Composición de acuerdo con la reivindicación 17 **caracterizada por** comprender zeaxantina en cantidades de 0,2 mg a 10 mg y espermidina en cantidades de 0,05 a 0,5 mg.
- 65 19. Composición de acuerdo con la reivindicación 14 **caracterizada por** comprender, por unidad de administración oral, 2 mg de zeaxantina, 2,5 mg de rutina, y 0,285 mg de espermidina (correspondiente a 0,5 mg de triclóridrato de Espermidina).

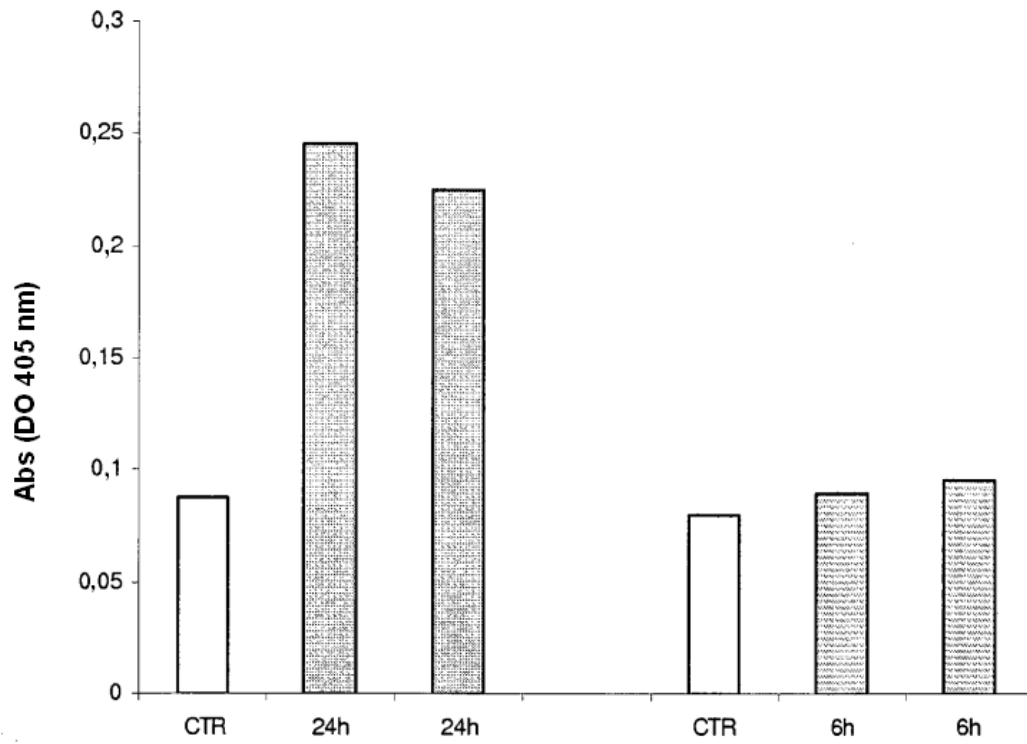


Fig. 1 - Inducción de la actividad de caspasa-3 en presencia de Estaurosporina (1  $\mu$ M)

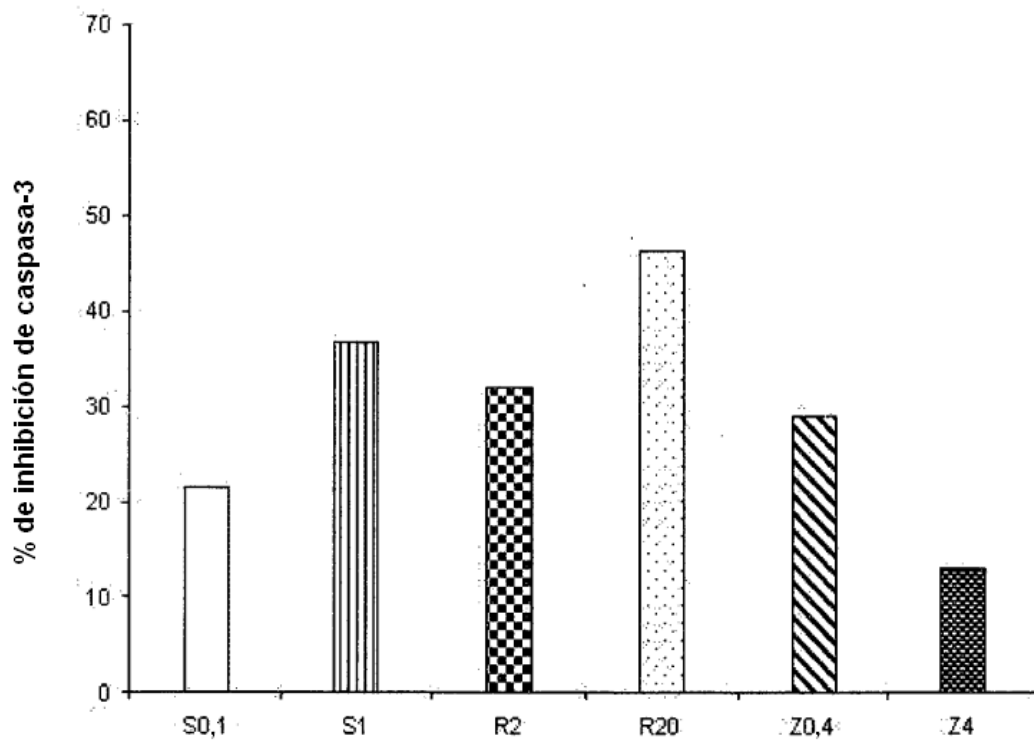


Fig. 2 - Efecto antiapoptótico de los ingredientes activos usados individualmente

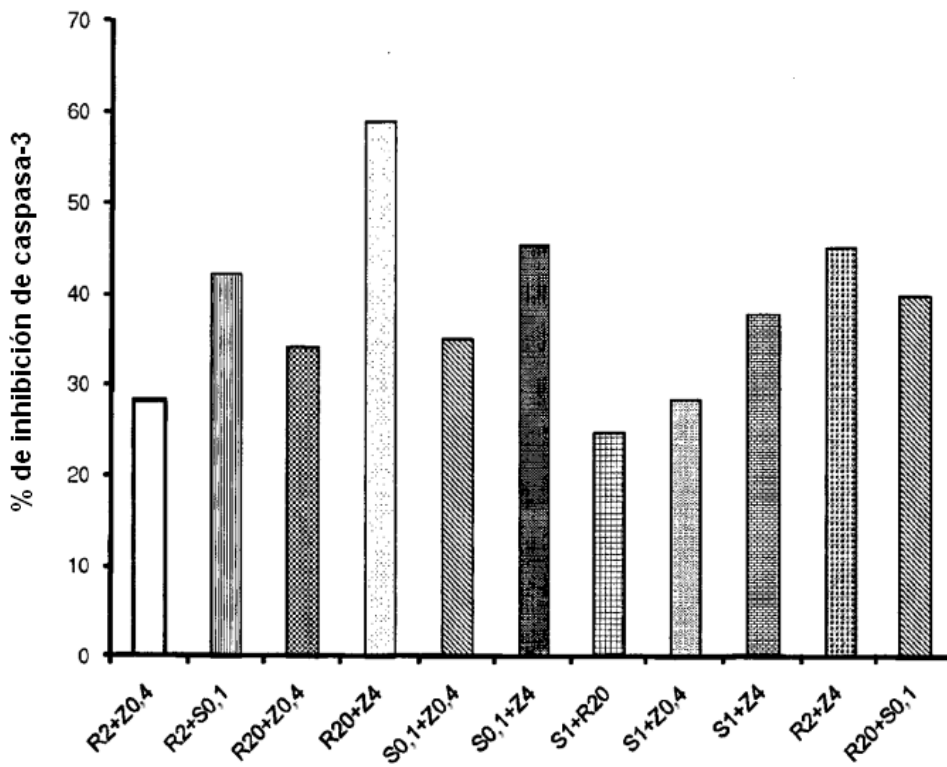


Fig. 3 - Efecto antiapoptótico de pares de ingredientes activos

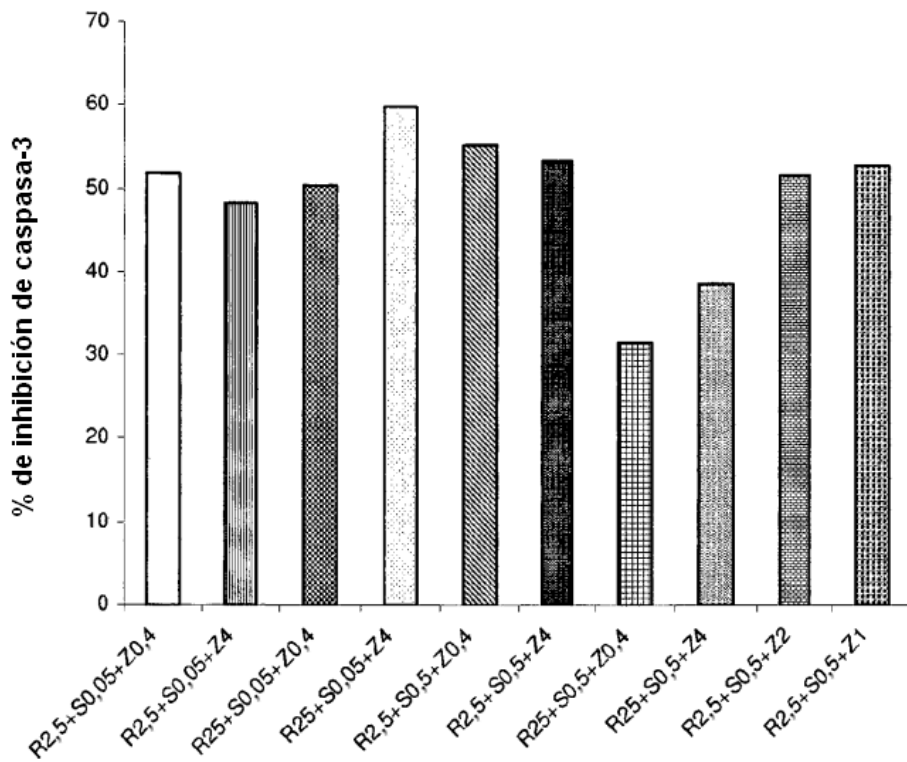


Fig. 4 - Efecto antiapoptótico de combinaciones ternarias de ingredientes activos