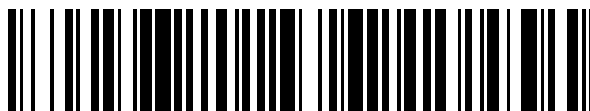


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 589 683**

51 Int. Cl.:

A61Q 7/00 (2006.01)

A61Q 19/08 (2006.01)

A61Q 19/10 (2006.01)

A61K 8/64 (2006.01)

A61K 8/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.10.2009 E 12161209 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.06.2016 EP 2510980**

54 Título: **Un procedimiento para el tratamiento dermocosmético de la piel por aplicación de composiciones que contienen NGF**

30 Prioridad:

23.10.2008 IT MI20081877

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

15.11.2016

73 Titular/es:

**DE CARLI, EDDA (100.0%)
Via Calatafimi, 19
37069 Villafranca di Verona (VR), IT**

72 Inventor/es:

**DE CARLI, EDDA y
BRUNETTA, FABIO**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 589 683 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

Un procedimiento para el tratamiento dermocosmético de la piel por aplicación de composiciones que contienen NGF

Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere al campo de la industria de la cosmética y, en particular, se refiere a procedimientos para el tratamiento dermocosmético de la piel humana que proporcionan la aplicación de composiciones que contienen el factor de crecimiento nervioso (NGF).

Antecedentes de la invención

- 10 Los estudios inmunohistoquímicos han demostrado que los receptores para el factor de crecimiento nervioso (NGF), a saber, el receptor de baja afinidad p75 y el receptor de alta afinidad TrKA, se expresan en los queratinocitos basales de la piel humana normal. También se han detectado ARN mensajeros de los receptores de alta y baja afinidad para NGF en queratinocitos humanos cultivados (Pincelli C. *et al*, "Expression and function of nerve growth factor receptor on cultured keratinocytes", J. Invest. Dermatol. 1994, 103:13-8).

- 15 El NGF puede inducir la proliferación de queratinocitos en un grado mayor que otro factor de crecimiento presente en la piel, a saber, el factor de crecimiento epidérmico (EGF).

Por otra parte, la piel es un tejido que se encuentra en el límite entre el cuerpo y el entorno externo y es una zona periférica caracterizada por un potencial reactivo extraordinario debido a la existencia de un sistema neuro-inmuno-cutáneo basado en la interacción morfofuncional entre el sistema nervioso, el sistema inmunitario y la piel.

- 20 Dentro de la piel, existe un gran número de contactos ultraestructurales entre las fibras nerviosas, células dérmicas y epidérmicas y células inmunitarias y, entre estas, las primeras pueden liberar localmente numerosos neuromediadores, de los que muchos también se secretan por células dérmicas/epidérmicas.

- 25 El hecho de que las células de la piel (no sólo los queratinocitos, sino también otras células, incluyendo células de Langerhans, mastocitos, las células endoteliales de los microvasos dérmicos) expresen receptores de NGF, crea la base para una red delicada a través de la que el sistema nervioso periférico controla procesos cutáneos extremadamente importantes, tales como la proliferación y la diferenciación celulares, la producción de citocinas y la presentación de antígenos.

- 30 Se ha demostrado además que el NGF favorece la reparación tisular por medio de la proliferación de células residentes, tales como, por ejemplo, los queratinocitos. Más recientemente se ha demostrado que los queratinocitos que se originan en individuos diabéticos presentan un contenido en NGF que es mucho menor de lo normal, una anomalía que puede estar asociada no sólo con fibras sensitivas cutáneas disfuncionales sino también con las dificultades de cicatrización típicas de la diabetes.

- 35 Los fibroblastos, que son particularmente abundantes en la dermis, producen y liberan cantidades considerables de NGF, que ejerce sus propios efectos en los queratinocitos, o sobre células inmunitarias dérmicas tales como macrófagos, en las que el NGF estimula la fagocitosis, la expresión del receptor y la producción y liberación de citocinas, tales como IL-1 β .

Con una edad avanzada y, para las mujeres, después de la menopausia, se observa una reducción en la inervación cutánea, cuyas consecuencias incluyen una reducción en la entrada de neuromediadores y factores de crecimiento, en particular NGF, en la piel, lo que da como resultado una reducción de la proliferación de células epidérmicas, con el consiguiente debilitamiento de la piel, que lleva a un aspecto cada vez más seco y áspero.

- 40 Para superar esto, la solicitud de patente EP 1 262 169 propuso la aplicación tópica de una composición que comprende al menos una sustancia que tiene una actividad sobre la troficidad del nervio cutáneo y/o un neuroestimulante y/o un neuroactivador y/o un neuromediador. En particular, se sugirió el NGF como una sustancia que tiene una actividad sobre la troficidad del nervio cutáneo.

- 45 En realidad, ninguno de los ejemplos mostrados en la solicitud de patente en cuestión se refiere a una composición que contiene NGF, sino en cambio a composiciones que contienen capsaicina, extractos de pimienta, PEG o ácido hialurónico. Esto se debe probablemente al hecho de que la absorción y la biodisponibilidad de NGF después de aplicar las composiciones cosméticas convencionales a la piel son extremadamente bajas, por no decir cero.

También se ha sugerido el uso de NGF para la aplicación tópica en las patentes US 5 427 778 y US 6 063 757, pero restringido al tratamiento de heridas cutáneas o corneales por medio de formulaciones en gel que lo contienen.

- 50 La aplicación tópica de NGF, en particular de β NGF obtenido a partir de células de insecto recombinantes que contienen un determinado baculovirus recombinante, también se sugiere en la solicitud de patente EP 0 444 638, pero restringida a su uso terapéutico.

De manera similar, la solicitud WO 2007/034266 menciona composiciones farmacéuticas para aplicación tópica en el caso de úlceras cutáneas o corneales, que contienen NGF humano recombinante (rhNGF beta) pero no se hace mención de su uso para fines cosméticos.

5 El documento WO 2007/070850 divulga una composición para el cuidado de la piel que contiene un agente de cuidado de la piel, un vehículo y un agente de penetración elegido de potenciadores de penetración folicular, potenciadores de penetración química y potenciadores de penetración activa; para potenciar adicionalmente la penetración cutánea se enumeran técnicas adicionales como iontoforesis, ultrasonido, electroporación, abrasión con esparadrapo, cañones de genes, púas o microagujas; ninguna cita de NGF está presente en el documento.

10 El documento US 2005/0153873 describe un sistema de administración para la administración transdérmica de un agente biológicamente activo a un sujeto, que comprende un elemento de microproyección que tiene una pluralidad de microproyecciones de perforación de estrato córneo, una formulación que contiene un agente biológicamente activo y un dispositivo de inducción de oscilación que coopera con los elementos de microproyección para producir oscilaciones de alta frecuencia. Ninguna prueba de eficacia está presente en este documento que nombra cientos de posibles agentes activos, sin mencionar NGF.

15 El documento US 2003/0161870 divulga una composición potenciadora de la penetración para incrementar la permeabilidad cutánea para administrar por vía tópica o transdérmica agentes activos e indica la electroforesis, por ejemplo, iontoforesis, como un medio físico para incrementar la penetración cutánea.

Breve descripción de la invención

20 El problema subyacente de la presente invención era el de proporcionar un procedimiento dermocosmético para reducir los efectos del envejecimiento de la piel, para regenerar las estrías gravídicas (estrías), cicatrices, por medio de un incremento en la entrada de NGF en la piel.

La palabra "piel" pretende indicar la piel de todo el cuerpo (tronco, extremidades superiores, extremidades inferiores, membranas mucosas externas), incluyendo el cuero cabelludo.

25 Con referencia particular al cuero cabelludo, uno de los objetivos de la invención también es el de proporcionar un procedimiento cosmético para revitalizar los bulbos pilosos y favorecer el crecimiento del cabello.

De acuerdo con un aspecto de la presente invención, el problema técnico establecido anteriormente se ha resuelto por un procedimiento que comprende las etapas de:

a) proporcionar una composición que contiene una cantidad cosméticamente eficaz de NGF;

30 b) aplicar la composición establecida anteriormente en zonas de la piel que necesitan tratamiento cosmético, provocando la absorción de NGF en la piel aplicando medios apropiados adecuados para favorecer la penetración de NGF en la piel, seleccionados del grupo que consiste en herramientas adecuadas para provocar la escarificación de la epidermis, que se aplican antes de aplicar la composición que contiene NGF, y agujas para tatuajes o máquinas con agujas para tatuajes.

35 Las herramientas adecuadas para provocar la escarificación de la epidermis pueden comprender, por ejemplo, agujas estériles, cucharillas de raspado

El NGF utilizable en el procedimiento de acuerdo con la invención puede ser de cualquier origen murino o humano recombinante, siendo preferente este último.

40 El NGF está contenido en la composición cosmética usada en el procedimiento de acuerdo con la presente invención en cantidades comprendidas entre un 10^{-8} % y un 5 % en peso del peso total de la composición, preferentemente en una cantidad comprendida entre un 10^{-5} % y un 0,5 % en peso del peso total de la composición.

45 La composición cosmética usada en el procedimiento de acuerdo con la presente invención contiene un vehículo cosméticamente aceptable y puede contener otras sustancias cosméticamente activas, tales como, por ejemplo, vitaminas, ácidos grasos esenciales, ceramidas, proteínas o hidrolizados de proteínas, aminoácidos, polioles, extractos de plantas e hidroxiácidos, antioxidantes, retinol, palmitato de retinol, células madre y meristemáticas vegetales.

Entre las vitaminas, se pueden mencionar en particular la vitamina E, vitamina C, vitamina PP y otras vitaminas del grupo B y los derivados de las mismas.

50 Un dispositivo que se puede usar convenientemente para la ionforesis transcutánea es el dispositivo mostrado en la patente del presente solicitante IT 1 315 196, que proporciona el uso de una malla de microelectrodos soportados sobre discos de caucho o caucho de silicona eléctricamente conductores, provistos de una esponja de ionforesis, que se disponen en las áreas de la piel a tratar con una almohadilla húmeda interpuesta, por ejemplo de gasa, como se muestra en las figuras adjuntas 1 y 2.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se ilustrará ahora adicionalmente con referencia a algunos ejemplos que se describirán a continuación de una manera puramente ilustrativa, no limitativa.

Ejemplo 1

- 5 De acuerdo con un modo de realización del procedimiento de acuerdo con la presente invención, se proporciona una composición cosmética que contiene, en porcentajes peso/peso:

NGF-7S liofilizado (Sigma-Aldrich)	0,0008
Solución salina fisiológica tamponada a pH 7,2 con tampón fosfato 0,15 M	c.s. hasta 100

- 10 La solución descrita anteriormente se aplica a la dermis de la piel o al cuero cabelludo por medio de una máquina de agujas para tatuajes. En general, se introduce un volumen de 0,1 ml por cm² de piel por medio de las agujas, o usando una técnica lineal para arrugas profundas.

Ejemplo 2

(no de acuerdo con la invención)

Polímero reticulado acrílico (Carbopol Ultrez 21, Noveon)	0,6
Solución de hidróxido de sodio	c.s. hasta pH 7
NGF-7S liofilizado (Sigma-Aldrich)	0,0001
NaCl	0,6
Parahidroxibenzoato de metilo	0,15
Agua purificada estéril	c.s. hasta 100

- 15 Usando los componentes enumerados anteriormente, se preparó de manera convencional un gel transparente hidrófilo con una viscosidad a 10 rpm y 25 °C de 3.100 mPa·s (viscosímetro Brookfield RTV DVII, adaptador de muestra pequeño, impulsor n.º 29).

- 20 La zona de la piel que se va a tratar se somete en primer lugar (después de la limpieza) a una exfoliación profunda aplicando una composición ácida durante un tiempo suficiente para lograr el ablandamiento de la capa córnea. A continuación, se aclara la piel preferentemente con agua o se limpia con una solución alcalina de tal modo que se ajuste el pH hacia la neutralidad, después de esto se extiende uniformemente el gel describe anteriormente, de acuerdo con la polaridad correspondiente al electrodo, sobre la piel previamente sometida a exfoliación y después se aplica una malla de seis microelectrodos en caucho de silicona, provista de una esponja de ionoforesis, como se muestra en la Fig. 1, con una pieza interpuesta de gasa húmeda desechable. A continuación, se aplica un voltaje convenientemente calibrado (por ejemplo, 0,5 mA/cm²) usando una corriente unidireccional de frecuencia media, durante el tiempo necesario para garantizar que el tratamiento ionóforo permite la penetración transcutánea de la composición y la absorción de la sustancia activa. En general, este tiempo está entre 20 y 30 minutos.

Se usó un aparato de iontoforesis modelo "FIRING" de "COSMOGAMMA by emildue".

Ejemplo 3

Lecitina purificada (Phospholipon 80 Natterman)	2,0
NGF-7S liofilizado (Sigma-Aldrich)	0.001
Colesterol, USP	1,0
Tampón citrato	c.s. hasta pH 7
Parahidroxibenzoato de metilo	0,15
Agua purificada estéril	c.s. hasta 100

Los valores mostrados anteriormente son partes en peso por cien partes en peso de la formulación total.

5 Usando los ingredientes enumerados anteriormente, se preparó una suspensión liposómica dispersando el colesterol y la lecitina en una cantidad igual de etanol y vertiendo la dispersión resultante en agua a 90 °C con una turbina en funcionamiento. Después de evaporar el etanol (por medio de una bomba de vacío), se reduce la temperatura a 50 °C. Se añaden el parahidroxibenzoato de metilo y el tampón citrato. Se reduce adicionalmente la temperatura a 5 °C, después de esto se dispersa el NGF liofilizado.

Antes de aplicar la suspensión liposómica, se escarificó suavemente la zona de la piel que se va a tratar por medio de agujas esterilizadas, después de esto se extendió uniformemente la suspensión con fricción suave para favorecer la absorción de la misma.

Ejemplo 4

10 (no de acuerdo con la invención)

Goma xantana (Rodicolare T, Rhodia)	1,0
NGF liofilizado	0,0005
NaCl	0,6
Parahidroxibenzoato de metilo	0,15
Tampón fosfato 0,15 µM	c.s. hasta pH 7
Agua purificada estéril	c.s. hasta 100

Se aplica el gel en cuestión usando el mismo procedimiento que para el gel de acuerdo con el ejemplo 2.

Ejemplo 5

NGF liofilizado	0,01
Aceite de ricino hidrogenado (Cutina HR Cognis)	10,0
Palmitato de octilo	c.s. hasta 100

15 Usando los ingredientes establecidos anteriormente, se preparó un gel lipófilo tixotrópico, del que se puede modificar su viscosidad variando la concentración de aceite de ricino hidrogenado. La preparación se lleva a cabo calentando el palmitato de octilo a 85 °C, a continuación disolviendo el aceite de ricino hidrogenado hasta que se obtiene un aceite transparente y, a continuación, enfriando con agitación. Una vez frío, el NGF se dispersa a continuación con agitación.

Ejemplo 6

NGF liofilizado	0,001
Ciclopentasiloxano	c.s. hasta 100

20 El NGF se dispersa frío, posiblemente por medio de un emulsionante Silverson. Esta preparación hace posible aplicar NGF en suspensión en un aceite de silicona volátil sobre la piel. Una vez que se ha evaporado la silicona, que dura aprox. 30 minutos, el NGF puro permanece sobre la superficie de la piel.

25 El efecto de la aplicación tópica de NGF de acuerdo con el procedimiento de la presente invención se puede confirmar por ejemplo, usando sistemas de cultivo celular *in vitro*. Es posible usar, por ejemplo, un sistema de cultivo flotante organotípico, que permite el estudio del control del crecimiento epidérmico (proliferación y diferenciación de los queratinocitos) en condiciones altamente similares a las condiciones *in vivo*, tales como las descritas por Steude J. *et al.*, The Journal of Investigative Dermatology, vol. 119, n.º 6, diciembre 2002, pp. 1254-1260.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para el tratamiento dermocosmético no terapéutico de la piel, que comprende las etapas de:
 - proporcionar una composición que contiene una cantidad cosméticamente eficaz de NGF de un 10^{-8} % a un 5 % en peso del peso total de la composición;
- 5 - aplicar dicha composición en zonas de la piel que necesitan tratamiento cosmético, provocando la absorción de NGF en la piel aplicando medios adecuados para favorecer la penetración de NGF en la piel, seleccionados del grupo que consiste en herramientas adecuadas para provocar la escarificación de la epidermis, que se aplican antes de aplicar dicha composición, y agujas para tatuajes o máquinas con agujas para tatuajes.
- 10 2. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dichas herramientas son agujas o cucharillas de raspado estériles.
3. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el NGF es NGF recombinante humano.
- 15 4. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el NGF está contenido en dicha composición en cantidades comprendidas entre un 10^{-5} % y un 0,5 % del peso total de la composición.
- 20 5. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicha composición cosmética comprende un vehículo cosméticamente aceptable y opcionalmente otras sustancias cosméticamente activas, seleccionadas del grupo que comprende vitaminas, ácidos grasos esenciales, ceramidas, proteínas o hidrolizados de proteínas, aminoácidos, polioles, extractos vegetales e hidroxiácidos, antioxidantes, retinol y palmitato de retinol, células madre y meristemáticas vegetales.

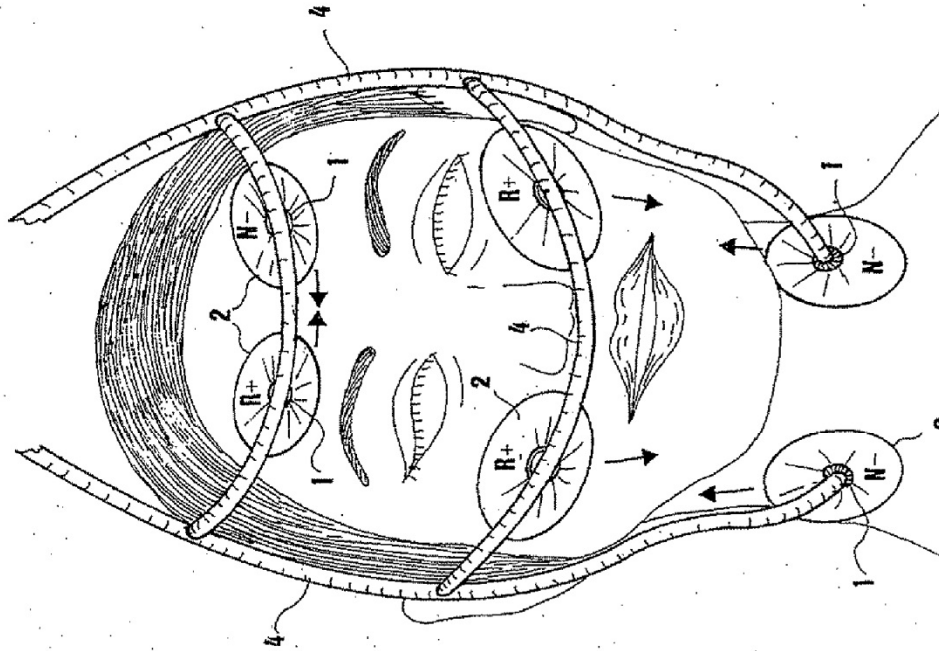


fig.2

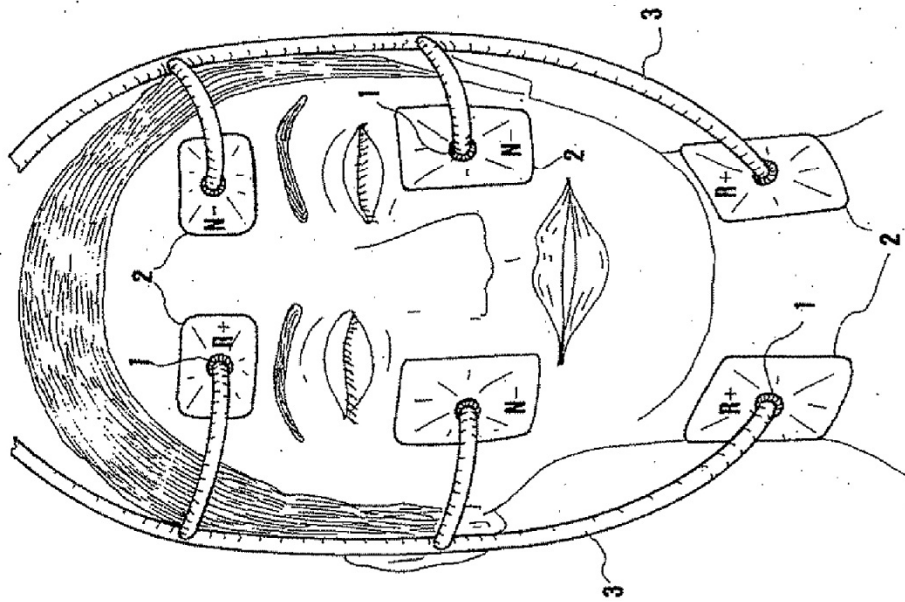


fig.1