

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 602 707**

51 Int. Cl.:

A61Q 19/02 (2006.01)

A61K 8/66 (2006.01)

A61K 8/99 (2006.01)

A61K 36/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.12.2006 PCT/US2006/062641**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.08.2007 WO07097827**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.12.2006 E 06850364 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.08.2016 EP 1978924**

54 Título: **Extractos de Exhophiala Mansonii para el blanqueamiento de la piel**

30 Prioridad:

29.12.2005 US 322014

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

22.02.2017

73 Titular/es:

**ELC MANAGEMENT LLC (100.0%)
767 FIFTH AVENUE
NEW YORK, NY 10153, US**

72 Inventor/es:

**MAMMONE, THOMAS;
SCHNITTGER, STEVEN F y
MUIZZUDDIN, NEELAM**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 602 707 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

Extractos de *Exophiala Mansonii* para el blanqueamiento de la piel

Campo de la invención

5 La invención se refiere al campo de los cosméticos. Concretamente, la invención se refiere a composiciones blanqueadoras que comprenden un extracto enzimático de levadura negra seleccionado entre el extracto enzimático de *Exophiala mansonii*. El extracto enzimático, cuando se aplica tópicamente, degrada la melanina en las superficies de la piel, uñas o cabello.

10 La piel humana es de diversos colores, mostrando variaciones individuales incluso en grupos raciales. La apariencia de la piel está determinada principalmente por melanina, un pigmento fabricado por melanocitos que se encuentran entre las células basales de la epidermis.

15 La melanina es un polímero insoluble en agua de diversos compuestos derivados del aminoácido tirosina. Es uno de los dos pigmentos que se encuentran en la piel humana y el cabello y produce el pigmento pardo que da color a la piel; el otro pigmento es caroteno que contribuye a la coloración amarilla. La síntesis de las reacciones de melanina es catalizada por la enzima tirosinasa. La tirosinasa se encuentra en un único tipo especializado de célula, el melanocito, y en este, la célula de melanina se encuentra en cuerpos unidos a la membrana llamados melanosomas. Las diversas tonalidades y grados de pigmentación encontrados en la piel de los seres humanos se relacionan directamente con el número, tamaño, y distribución de los melanosomas en los melanocitos y otras células. Aparte de su papel en la pigmentación, la melanina, que absorbe la luz ultravioleta, desempeña un papel protector cuando la piel se expone a los rayos dañinos del sol. La melanina, producida en respuesta a los estímulos producidos por la luz UV, es responsable del bronceado de la piel. Las funciones del moreno protegen la piel de los efectos nocivos de la luz UV.

20 Aunque la distribución heterogénea de la melanina en la piel, por ejemplo, en forma de pecas o lunares, es considerada por algunos como una característica definitoria de una piel hermosa, para otros, en cambio, puede considerarse que dichos "lunares atractivos" son poco atractivos y por ello tratan de aclarar estas áreas oscuras de la piel. Incluso en casos en los que la piel es homogéneamente oscura, a menudo se desea en general aclarar la piel. Para estos fines se utilizan normalmente agentes blanqueadores. Se conocen varias clases de agentes blanqueadores con diferentes procedimientos para aclarar la apariencia de la piel.

25 Los inhibidores de la tirosinasa, tales como ácido kójico, interfieren con la síntesis de melanina en los melanocitos de la piel. La melanina se sintetiza mediante la transformación del precursor de tirosina en el precursor de dopa, y además en el precursor de dopaquinona por la acción enzimática de la tirosinasa. Así pues, se produce la oxidación a indol-5, 6-dihidroquinona, antes de la polimerización en melanina. La inhibición de cualquiera de los precursores producida a través de la tirosinasa en la vía sintética evita que la melanina se produzca y puede lograr un efecto despigmentante o blanqueador en la piel. Aún así, los inhibidores de la tirosinasa no serán eficaces en la melanina ya formada.

30 Otros agentes blanqueadores incluyen agentes decolorantes, por ejemplo, peróxido de hidrógeno, hidroquinona, 4-isopropilcatecol y monobencil éter de hidroquinona. Estos agentes tienen la desventaja de requerir aplicaciones reiteradas a medida que la capa superior de la piel se desprende. Los agentes decolorantes tienen una desventaja adicional ya que pueden ser irritantes debido a su fuerza. Adicionalmente, dichos agentes pueden causar vitiligo (leucoderma).

35 El ácido ascórbico, el ácido salicílico y el ácido láctico también se han utilizado como agentes blanqueadores. Estos ácidos provocan que la capa superior de la piel se desprenda. Este procedimiento requiere aplicaciones reiteradas y el uso a largo plazo para producir un efecto blanqueador.

40 Otro procedimiento de blanqueamiento de la piel implica la descomposición de la melanina ya formada utilizando un extracto enzimático de *Basidiomycetes* o cualquier hongo de pudrición con potencia para descomponer la melanina. Este procedimiento se describe, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos n.º 5.578.296. No obstante, la descomposición de la melanina en la superficie cutánea no impide el desarrollo de nuevas manchas oscuras en la piel, y, por lo tanto, requiere la aplicación reiterada al igual que otros procedimientos de blanqueamiento. Este procedimiento no interfiere con la producción de melanina y su efecto protector contra los rayos UV. Adicionalmente, un extracto enzimático que degrada la melanina derivado de *Aspergillus fumigatus* se describe en la patente de Estados Unidos n.º 6.514.506.

45 Se han descrito composiciones cosméticas para aclarar la piel mediante una acción de descomposición de melanina o por una función de supresión de melanina que comprende un extracto de levadura o una levadura viva perteneciente al género *Saccharomyces*. Véanse, por ejemplo, los documentos JP 09-124438, JP 07-274977, JP 07-010734, la patente de Estados Unidos n.º 5.643.587, y la patente de Estados Unidos n.º 6.337.320.

55 Actualmente, se ha descubierto de manera sorprendente que un extracto enzimático derivado de una levadura negra seleccionado entre un extracto enzimático de *Exophiala mansonii* en una composición cosmética o dermatológica

puede resultar útil como agente blanqueador para la piel y las uñas y como agente aclarador para el color del cabello.

De acuerdo con la presente invención, se proporciona una composición blanqueadora que puede producir un efecto blanqueador tras la aplicación a la piel y a las uñas y un efecto aclarador en el cabello sin las desventajas anteriormente mencionadas de otros procedimientos, y sin la necesidad de combinarse con otros tipos de tratamiento blanqueador.

Sumario de la invención

La presente invención divulga una composición cosmética o dermatológica tópica para su aplicación a la piel y a las uñas que comprende una cantidad eficaz blanqueadora de un extracto enzimático derivado de *Exophiala mansonii*.
 10 La presente invención divulga igualmente una composición cosmética o dermatológica tópica para su aplicación al cabello que comprende una cantidad eficaz aclaradora de un extracto enzimático derivado de *Exophiala mansonii*. El extracto enzimático que degrada la melanina se deriva de *Exophiala mansonii* (*Exophiala castellanii*). El extracto enzimático crudo se purifica antes de añadirse a la composición cosmética o dermatológica.

La presente invención divulga asimismo el procedimiento de blanqueamiento de la piel mediante la aplicación tópica a la piel de las composiciones que contienen el extracto enzimático de *Exophiala mansonii*. Se discute también un procedimiento para aclarar el color del cabello mediante la aplicación tópica al cabello de las composiciones que contienen el extracto enzimático de *Exophiala mansonii*. Se describe adicionalmente el procedimiento para degradar la melanina en la piel, y el procedimiento para inhibir un moreno inducido por rayos UV-B mediante la aplicación tópica de las composiciones de la presente invención.

Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 es una gráfica que demuestra la capacidad de los fermentos de *Exophiala mansonii* para degradar la melanina sintética según se mide por el porcentaje de recuperación de [³H] en los días 1, 5, 7, 8, 9, 12 y 15.

La Fig. 2 es una gráfica que demuestra la capacidad del fermento de *Exophiala mansonii* en el día 15 para degradar la melanina sintética según se mide por el porcentaje de recuperación de [³H] en el día 15.

La Fig. 3 es una gráfica que demuestra la degradación de melanina sintética por el fermento de *Exophiala mansonii* en el día 15 de manera dependiente de la dosis según se mide por el porcentaje de recuperación de [³H].

La Fig. 4 es una gráfica que ilustra el efecto blanqueador de la piel en un bronceado inducido por rayos UV-B por medio de una composición que contiene ácido kójico al 2 % y la composición de la invención que contiene el extracto enzimático de *Exophiala mansonii* al 1 % según se mide en los días 6, 8, 11, 13 y 15 de un régimen de tratamiento indicado por el cambio en los valores de reflectancia.

La Fig. 5 es una gráfica del efecto blanqueador de la piel de una composición que contiene ácido kójico al 2 % en comparación con el efecto blanqueador de la piel de una composición de la invención que contiene el extracto enzimático de *Exophiala mansonii* al 1 %.

Descripción detallada de la invención

El reino de los hongos es un grupo significativo de eucariotas a la par en importancia con respecto a animales y plantas. Pese a que los animales requieren un estómago para digerir materiales para sus nutrientes, los hongos viven realmente en o sobre su suministro de alimentos, y conforme el entorno local se convierte pobre en nutrientes, simplemente crecen en nuevos suministros de alimentos. En la naturaleza, los hongos son generalmente los organismos descomponedores primarios. Los hongos tienen el importante papel ecológico de descomponer la materia muerta y reciclar nutrientes a través de su ecosistema. Los hongos pueden vivir en el material leñoso en descomposición, suelos, hojarasca, agua, animales muertos y exudados de animales. Otros pueden formar asociaciones simbióticas con plantas, animales y procariontas. Otros son los agentes causantes de las infecciones humanas.

Las levaduras negras son hongos semejantes a las levaduras que se caracterizan por sus colonias de color negro, el pigmento resultante de la producción de melanina. Las levaduras negras incluyen los organismos de los géneros *Exophiala*, *Aureobasidium*, *Hortae*, *Wangiella*, *Phaeoannellomyces*, y similares. Varios estudios han indicado que la virulencia de dichos hongos dematiáceos está influenciada por la presencia de melanina. Una vez que el gen de la vía biosintética de melanina de *Wangiella dermatitidis* se vea afectado, se muestra que un mutante resultante es más susceptible a la destrucción por neutrófilos y menos virulento en un modelo de ratón agudo. Se mostró que el mutante recupera la resistencia a la destrucción por neutrófilos y exhibe una virulencia normal en ratones cuando la biosíntesis de melanina se reconstituyó por complementación con el gen de tipo natural, discutido en "*Molecular Cloning and Characterization of WdPKS1, a Gene Involved in Dihydroxynaphthalene Melanin Biosynthesis and Virulence in Wangiella (Exophiala) dermatitidis*", *Infection and Immunity*, vol. 69, n.º 3, págs. 1781-1794 (marzo de 2001).

De manera sorprendente, se ha descubierto actualmente que *Exophiala mansonii*, que produce melanina, también posee una actividad enzimática que degrada la melanina, que la aplicación tópica a la piel de una preparación cosmética o dermatológica que contiene un extracto enzimático derivado de *Exophiala mansonii* es eficaz en el blanqueamiento de la piel, y que la aplicación tópica al cabello de una preparación cosmética o dermatológica que contiene un extracto enzimático derivado de *Exophiala mansonii* es eficaz para aclarar el color del cabello.

La levadura negra *Exophiala*, del phylum *Ascomycota* (hongo saco), es un género generalizado de hongos saprobios encontrado habitualmente en la madera en descomposición, en el suelo enriquecido con residuos orgánicos, en las aguas residuales, y en el agua.

Exophiala es inicialmente similar a la levadura, húmeda y con un color marrón a negro verdoso, y posteriormente demuestra una apariencia aterciopelada o suave debido al desarrollo de hifas aéreas cortas de color grisáceo. Las colonias maduras son de color negro aceituna en la parte delantera y negro en la parte posterior. Este género carece de evidencia morfológica de un estado sexual. A medida que maduran los cultivos, las hifas septadas que portan conidios se forman finalmente. Los hongos se propagan por la liberación de los conidios de las hifas.

El género *Exophiala* contiene numerosas especies. Las más comunes incluyen *E. jeanselmei*, *E. dermatitidis*, *E. spinifera*, *E. catellanii (mansonii)*, *E. bergeri*, *E. moniliae*, *E. phaeomuriformis*, *E. pisciphila*, y *E. salmonis*.

El extracto enzimático que degrada la melanina de la presente invención se prepara cultivando colonias de *E. mansonii* en medio agar malta a 26 °C, se propagan y se disponen comercialmente en la Colección Americana de Cultivos Tipo (CACT), Manassas, Va. Una cepa preferente se designa CBS 158.58, y está disponible en forma liofilizada. *E. mansonii*, obtenida de la CACT, se cultiva en un procedimiento de fermentación a 26 °C, preferentemente en caldo de extracto enzimático de malta, en un matraz de agitación de un litro, y se cultiva a una densidad en el intervalo de aproximadamente 10⁶ a 10⁷ unidades formadoras de colonias por ml (ufc/ml).

El extracto enzimático se recoge por centrifugación de un lote de 500 ml del cultivo y se vuelve a suspender en aproximadamente 150 mM de NaCl, aproximadamente 50 mM de tampón Tris, y aproximadamente 1 por ciento de detergente NP40 y, luego la resuspensión se somete a ultrasonidos durante aproximadamente 30 minutos. Preferentemente, el extracto enzimático se purifica por filtración a través de un filtro de 0,22 µm. La cantidad de enzima en la solución purificada del extracto enzimático puede ser de aproximadamente 1 a aproximadamente 95 por ciento, preferentemente de manera aproximada 80 a 95 por ciento de la solución purificada.

El extracto enzimático se incorpora en una formulación cosmética o dermatológica en una cantidad eficaz blanqueadora. El término "cantidad eficaz blanqueadora" como se utiliza en el presente documento, significa la cantidad de extracto enzimático que reduce (aclara) el color de la piel o las uñas o el cabello, conforme se mide utilizando un cromómetro Minolta, en torno aproximadamente al menos 20 por ciento, preferentemente al menos aproximadamente 30 por ciento. Preferentemente, la cantidad eficaz blanqueadora cae en el intervalo de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 20 por ciento de extracto enzimático en peso de la composición total. Más preferentemente, la cantidad eficaz blanqueadora cae en el intervalo de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 5,0 por ciento de extracto enzimático en peso de la composición total. Más preferentemente, la cantidad eficaz blanqueadora cae en el intervalo de aproximadamente 0,1 a 2 por ciento de extracto enzimático en peso de la composición total. <6a>

La presente invención también divulga el procedimiento de blanqueamiento de la piel y las uñas y el aclaramiento del color del cabello mediante la incorporación en la formulación cosmética o dermatológica de la cantidad eficaz blanqueadora (aclaradora) del extracto enzimático, y la aplicación de la composición a la piel, a las uñas o al cabello. Las composiciones blanqueadoras se aplican a la piel y a las uñas por el frotamiento en aproximadamente 2 mg/cm² de superficie cutánea, y la reaplicación en caso necesario, por ejemplo, en una base diaria. Las composiciones de la presente invención pueden prepararse en cualquier forma conveniente para la aplicación tópica a la piel, a las uñas, o al cabello, incluyendo, entre otros, geles, cremas, dispersiones coloidales, emulsiones (agua en aceite o aceite en agua), suspensiones, soluciones, lociones, espumas, mousses, pulverizadores, y similares. Preferentemente, la composición se aplica a la piel en forma de crema, y a las uñas en forma de crema o de pulverización. Una loción o pulverización en seco es la forma preferente de la composición de la invención para la aplicación al cabello.

La presente invención se refiere a una composición cosmética o dermatológica tópica para la aplicación a la piel o a las uñas o al cabello, que comprende un extracto enzimático que degrada la melanina derivado de *Exophiala mansonii* y un portador cosmética o dermatológicamente aceptable, en el que el extracto enzimático está presente en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 0,05 por ciento a aproximadamente 20 por ciento en peso de la composición total, en el que el extracto enzimático es una solución purificada, obtenida preferentemente por un procedimiento que comprende una etapa de filtración a través de un filtro de 0,22 µm, para su uso en un procedimiento de inhibición de un bronceado inducido por rayos UV-B que comprende la aplicación tópica a la piel de la composición.

La presente invención incluye además un procedimiento no terapéutico para degradar la melanina en la piel o en las uñas y/o blanquear la piel o las uñas, que comprende la aplicación tópica de una composición que comprende un extracto enzimático que degrada la melanina derivado de *Exophiala mansonii* a la piel o a las uñas, en el que el

extracto enzimático es una solución purificada, obtenida preferentemente por un procedimiento que comprende una etapa de filtración a través de un filtro de 0,22 µm y un procedimiento no terapéutico para degradar la melanina en el cabello y/o aclarar el color del cabello, que comprende la aplicación tópica al cabello de un extracto enzimático que degrada la melanina derivado de *Exophiala mansonii* y un portador cosmética o dermatológicamente aceptable, en el que el extracto enzimático está presente en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 0,05 por ciento a aproximadamente 20 por ciento en peso de la composición total.

Las composiciones divulgadas se formulan con cualquier vehículo o portador cosmética o dermatológicamente aceptable; es decir, un portador que administrará la cantidad eficaz blanqueadora o aclaradora del extracto enzimático y cualquier otro activo que puede estar presente en la composición de forma segura en cuanto al área diana sin efecto adverso alguno en el extracto enzimático y otros activos. Los portadores adecuados incluyen, entre otros, agua, acetona, etanol, etilenglicol, propilenglicol, butano-1, 3-diol, miristato de isopropilo, palmitato de isopropilo y aceite mineral.

Las composiciones divulgadas pueden combinarse con uno o más protectores solares, incluyendo, entre otros, dióxido de titanio, óxido de cinc, benzofenonas, ácido p-aminobenzoico (PABA), octil dimetil PABA, amildimetil PABA, octil metoxicinamato, 2-etoxi p-metoxicinamato, oxibenzona, homosalato, salicilatos de fenilo, p-aminobenzoato de glicerilo, benzoato de etilo-p-glicosilimido y similares. Los protectores solares se utilizan en cantidades utilizadas normalmente para estos agentes.

Diversos ingredientes opcionales pueden incluirse con las composiciones divulgadas, incluyendo, entre otros, fragancias, perfumes, aromatizantes, conservantes, emolientes, antisépticos, pigmentos, tintes, colorantes, humectantes, propulsores, agentes de impermeabilización, formadores de películas, vitaminas, así como otras clases de materiales cuya presencia puede resultar deseable desde el punto de vista cosmético, dermatológico, farmacéutico, o de otro tipo. Los ejemplos más comunes pueden encontrarse en el Diccionario Internacional de Ingredientes Cosméticos CTFA, 12ª edición, The Cosmetic, Toiletry, and Fragrance Association, Inc., Washington, D. C., 2004, cuyos contenidos se incorporan en el presente documento. Las composiciones blanqueadoras también pueden utilizarse en los productos de maquillaje.

Las composiciones de la presente invención también pueden comprender principios activos adicionales útiles que incluyen, entre otros, otros agentes blanqueadores conocidos, tales como, por ejemplo, inhibidores de la tirosinasa, tales como, por ejemplo, ácido kójico y sus derivados, hidroquinonas y sus derivados, siendo un derivado de hidroquinona arbutina, extracto enzimático de regaliz y sus derivados, ácido ascórbico y sus derivados, y ácido azelaico; antioxidantes; antimicrobianos; analgésicos; anestésicos; agentes anti-acné; agentes antidermatitis; agentes antipruriginosos; agentes antiinflamatorios; agentes antihiperqueratolíticos; agentes antisequedad de la piel; antitranspirantes; agentes antipsoriásicos; agentes antiseborreicos; agentes antienvjecimiento; agentes antiarrugas; autobronceadores; agentes cicatrizantes; corticosteroides; y hormonas. La incorporación del activo en la formulación se determina por su solubilidad y/o estabilidad en combinación con el extracto enzimático que degrada la melanina derivado de levadura negra de la presente invención. No obstante, la selección del modo de administración de los principios activos adicionales, se limita al modo de administración seleccionado para las composiciones blanqueadoras.

La invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos no limitativos.

Ejemplos

Ejemplo 1 Eficacia del extracto de *Exophiala mansonii* en la degradación de melanina

La eficacia del extracto de *Exophiala mansonii* en la degradación de melanina se demuestra por el cultivo de la levadura en un procedimiento de fermentación, y la introducción a los 1, 5, 7, 8, 9, 12 y 15 días de un fermento filtrado en 0,22 µm en tubos de microcentrifugación individuales que contienen 100 µl de alícuotas de [³H] melanina sintética. TFS y medio de cultivo sirven como controles. Los tubos se agitan en un vórtex con sacudidas y se colocan en una incubadora oscilante a 37 °C. Los tubos se incuban durante tres días, y una vez al día, los tubos se agitan en un vórtex con sacudidas para facilitar la degradación de la melanina. Los tubos se retiran de la incubadora tras haber transcurrido un periodo de tres días, se agitan en un vórtex con sacudidas, y se centrifugan a una g máxima durante 10 minutos. El sobrenadante de cada tubo se separa cuidadosamente del material sedimentado, y se introduce en un vial de centelleo. El sedimento de cada tubo vuelve a suspenderse en 200 µl de TFS y se transfiere a un vial de centelleo distinto. A cada vial, se añaden 5 ml de cóctel de centelleo. Las desintegraciones de [³H] se determinan utilizando un contador de centelleo LKB Wallac utilizando un programa A12. La eficacia de los fermentos en la degradación de la melanina se determina por la siguiente fórmula:

$$\text{Eficacia} = 100 \% \times \frac{[\text{}^3\text{H}] \text{ en el sobrenadante}}{\text{total } [\text{}^3\text{H}] \text{ en el tubo de microcentrifugación}}$$

Como se muestra en la Fig. 1, el porcentaje de recuperación de [³H] aumenta de forma lineal a partir del día 9, con un pico de recuperación en el día 15. La degradación de la melanina sintética por el fermento en el día 15 produce una recuperación de [³H] del 49,2 %.

Ejemplo 2 Eficacia del extracto de *Exophiala mansonii* en la degradación de melanina

- 5 La eficacia del fermento filtrado de *Exophiala mansonii* en el día 15 en la degradación de melanina se analiza como se demuestra en el Ejemplo 1. El medio de cultivo sirvió como control. Los resultados se muestran en la Fig. 2. La degradación de la melanina sintética por el fermento de *Exophiala* en el día 15 produce una recuperación de [³H] del 37 %. ** representa $p = <0,01$. Las barras de error representan D. E., $n=3$.

Ejemplo 3 Eficacia del extracto de *Exophiala mansonii* en la degradación de melanina

- 10 La eficacia del extracto de *Exophiala mansonii* en la degradación de melanina se demuestra al igual que en el Ejemplo 2, excepto que el fermento filtrado en el día 15 se ensaya en concentraciones finales del 50 %, 25 % y 12,5 %. Las muestras del 25 % y 12,5 % se diluyen con el medio de cultivo. En la Fig. 3, se observa que el fermento del día 15 degrada la melanina sintética de manera dependiente de la dosis. El porcentaje de recuperación de [³H] es del 26,6 %, 30,5 % y 40,4 % en concentraciones finales del extracto de *Exophiala mansonii* al 12,5 %, 25 % y 50 %, respectivamente. *** representa $p = <0,001$. Las barras de error representan D. E., $n=3$.

Ejemplo 4 Preparación de una composición blanqueadora

Material	Porcentaje en peso
<u>Fase I</u>	
Agua/fenil trimeticona/ciclotmeticona/dimeticonol/fosfoglicéridos/carbómero/trietanolamina	50,00
Dehidroacetato de sodio	0,10
EDTA disódico	0,14
<u>Fase II</u>	
Glicerina	3,00
Aluminio almidón octenilsuccinato	1,00
<u>Fase III</u>	
Agua purificada	40,81
Acrilatos/polímero entrelazado de acrilato alquílico C10-30	0,30
Carbómero	0,35
<u>Fase IV</u>	
Glicerina	1,00
Goma xantana	0,20
<u>Fase V</u>	
Agua purificada	2,00
Trietanolamina	0,10
Extracto enzimático derivado de <i>Exophiala mansonii</i>	1,00
Total	100,00

A temperatura ambiente y presión atmosférica, los ingredientes en fase I, los ingredientes en fase II, los ingredientes en fase III, los ingredientes en fase IV y los ingredientes en fase V se combinan en recipientes distintos. Los ingredientes en fases II, IV y V se mezclan a mano en sus recipientes separados. Los ingredientes en fase III se mezclan utilizando una mezcladora de hélice. Los ingredientes en fase I se colocan y se agitan en un mezclador de homogeneización. Los ingredientes combinados de fase II se añaden con agitación a los ingredientes combinados de fase I, y se agitan hasta uniformidad. Los ingredientes combinados de fase III se combinan a continuación con la mezcla uniforme de los ingredientes en fase I y II y la mezcla se agita hasta uniformidad. Los ingredientes combinados de fase IV y después de fase V se añaden por separado a la mezcla uniforme de los ingredientes en fase I, II y III y se mezclan hasta uniformidad, para formar una crema suave final.

10 **Ejemplo 5 Acción blanqueadora del extracto enzimático de *Exophiala mansonii***

Se realiza un estudio comparativo para determinar la eficacia blanqueadora de un extracto enzimático derivado de *Exophiala mansonii* en comparación con la eficacia de un inhibidor de la tirosinasa conocido, ácido kójico. Concretamente, el estudio se concibió para estudiar el efecto aclarador de estos materiales (reducción en el bronceado) utilizando el deterioro del moreno inducido por rayos UV-B como marcador. Se preparan dos muestras. La primera muestra contiene la composición descrita en el Ejemplo 4. La segunda muestra tiene la misma composición que la descrita en el Ejemplo 4, excepto que el ácido kójico al 2 % se sustituye con el extracto enzimático de *Exophiala mansonii* al 1 %.

Nueve voluntarios participan en el estudio. Los panelistas voluntarios tienen un estado de salud normal, sin evidencia de enfermedad aguda o crónica, incluyendo problemas dermatológicos. Los panelistas son mujeres, con edades comprendidas entre 18-45, y con un tipo de piel I-II. Las panelistas no exhiben efectos de quemaduras solares, erupciones, arañazos o marcas de quemaduras, ya que estas afecciones podrían interferir con el análisis de los resultados de los ensayos. Las voluntarias embarazadas o lactantes se excluyen del estudio. Adicionalmente, el sitio de ensayo cutáneo en cada panelista se examina para determinar que no tengan una cantidad excesiva de verrugas, nevus, lunares, quemaduras solares, moreno, cicatrices o lesiones dérmicas activas, que también podrían interferir con el análisis de los resultados del ensayo. Las panelistas aceptadas para el estudio no utilizan retinoides sistémicos o tópicos, antihistamínicos o agentes similares durante el transcurso del estudio ni en las dos semanas previas al comienzo del estudio.

Las áreas distintas, correspondientes a los materiales de ensayo, y un área de control irradiada sin tratar adicional, se marcan en la espalda de cada una de las panelistas. Cada área es de aproximadamente 4 cm². Cada panelista recibe dos veces la DEM de rayos UV-B en cada sitio. Los sitios se irradian con un simulador solar de arco de xenón (150 vatios) con filtros (mm UG-5) para exponer la piel a la irradiación de rayos UV-B y UV-A. El bronceado se observa durante seis días después de la irradiación, momento en el cual se realizan las mediciones de referencia de color utilizando un cromámetro Minolta que mide la diferencia de la reflectancia de la piel, L. El cambio en el valor de la diferencia de reflectancia, ΔL^* , se mide contra un valor basal del valor de color de piel de la piel irradiada sin tratar medida en el día 6. Los materiales del ensayo se aplican en sus respectivos sitios en la tasa de 2 mg/cm², y se dejaron secar durante 10 minutos. Se continúan los tratamientos con los productos una vez al día durante 15 días (es decir, día 6 a día 20 del ensayo). Se obtienen lecturas del cromámetro en los días 6, 8, 11, 13 y 15.

Los resultados se muestran en las Figs. 4 y 5. La Fig. 4 demuestra que el efecto blanqueador del extracto enzimático de *Exophiala mansonii* al 1 % es mayor que el del control de ácido kójico al 2 %. La comparación se mide en términos del cambio en el valor de la diferencia de reflectancia de la piel (ΔL^*) en cada uno de los días 6, 8, 11, 13 y 15, en comparación con el valor basal de la piel irradiada sin tratar medida en el día 6, y que indica que las composiciones que contienen el extracto enzimático de la presente invención tienen un cambio menor en reflectancia y, por lo tanto, un mayor efecto blanqueador, es decir, un deterioro más rápido de un bronceado inducido, en comparación con composiciones que contienen el doble de la cantidad de ácido kójico.

Los valores de reflectancia observados en todos los intervalos de tiempo se registran, y se calculó el área bajo la curva para cada sitio de ensayo. El factor blanqueador se calcula como el área bajo la curva del sitio tratado restado del sitio sin tratar, y se muestra en la Fig. 5. Como se observa en la Fig. 5, la composición que contiene el extracto enzimático de *Exophiala mansonii* exhibió un excelente efecto blanqueador, que tiene un factor blanqueador de 3,1, en comparación con una composición que contiene el doble de la cantidad de ácido kójico, que demostró un factor blanqueador de 1,8.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición cosmética o dermatológica tópica para su aplicación a la piel o a las uñas o al cabello, que comprende un extracto enzimático que degrada la melanina derivado de *Exophiala mansonii* y un portador cosmética o dermatológicamente aceptable, en la que el extracto enzimático está presente en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 0,05 por ciento a aproximadamente 20 por ciento en peso de la composición total, y en la que el extracto enzimático es una solución purificada, obtenida preferentemente por un procedimiento que comprende una etapa de filtración a través de un filtro de 0,22 μm .
- 10 2. La composición de la reivindicación 1, en la que el extracto enzimático está presente en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 0,05 por ciento a aproximadamente 5 por ciento en peso de la composición total, o más preferentemente de manera aproximada 0,1 por ciento a aproximadamente 2 por ciento en peso de la composición total.
3. La composición de la reivindicación 1, que comprende además uno o más de un agente blanqueador, un protector solar, un agente autobronceador y un emoliente adicional.
- 15 4. Un procedimiento no terapéutico de degradación de la melanina en la piel o en las uñas y/o blanqueamiento de la piel o de las uñas, que comprende la aplicación tópica a la piel o a las uñas de una composición que comprende un extracto enzimático que degrada la melanina derivado de *Exophiala mansonii*, en el que el extracto enzimático es una solución purificada, obtenida preferentemente por un procedimiento que comprende una etapa de filtración a través de un filtro de 0,22 μm .
- 20 5. El procedimiento de la reivindicación 4, en el que el extracto enzimático está presente en la composición en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 0,05 por ciento a aproximadamente 20 por ciento en peso de la composición total, preferentemente de manera aproximada 0,05 por ciento a aproximadamente 5 por ciento en peso de la composición total, o más preferentemente de manera aproximada 0,1 por ciento a aproximadamente 2 por ciento en peso de la composición total.
- 25 6. El procedimiento de la reivindicación 4, que comprende la aplicación tópica a la piel o a las uñas de la composición de la reivindicación 1.
- 30 7. Una composición que comprende un extracto enzimático que degrada la melanina derivado de *Exophiala mansonii*, en la que el extracto enzimático es una solución purificada, obtenida preferentemente por un procedimiento que comprende una etapa de filtración a través de un filtro de 0,22 μm , para su uso en un procedimiento para inhibir un bronceado inducido por rayos UV-B que comprende la aplicación tópica de la composición a la piel.
8. Un procedimiento no terapéutico de degradación de melanina en el cabello y/o aclaración del color del cabello, que comprende la aplicación tópica de la composición de la reivindicación 1 al cabello.

Porcentaje de recuperación de [³H]

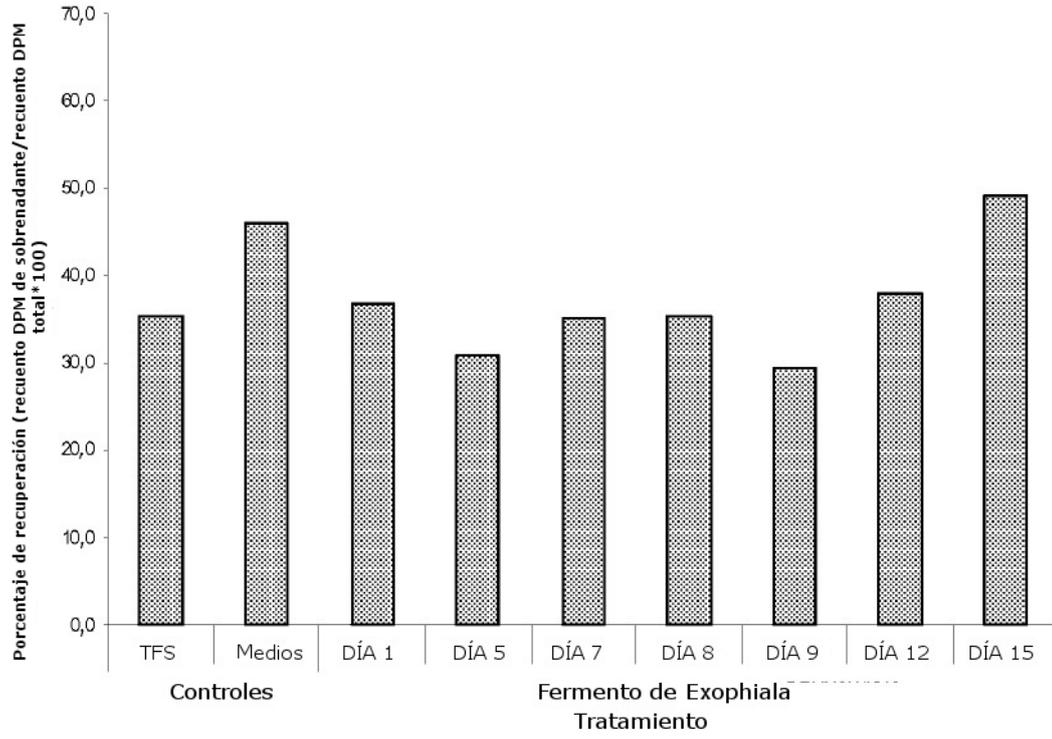


FIG. 1

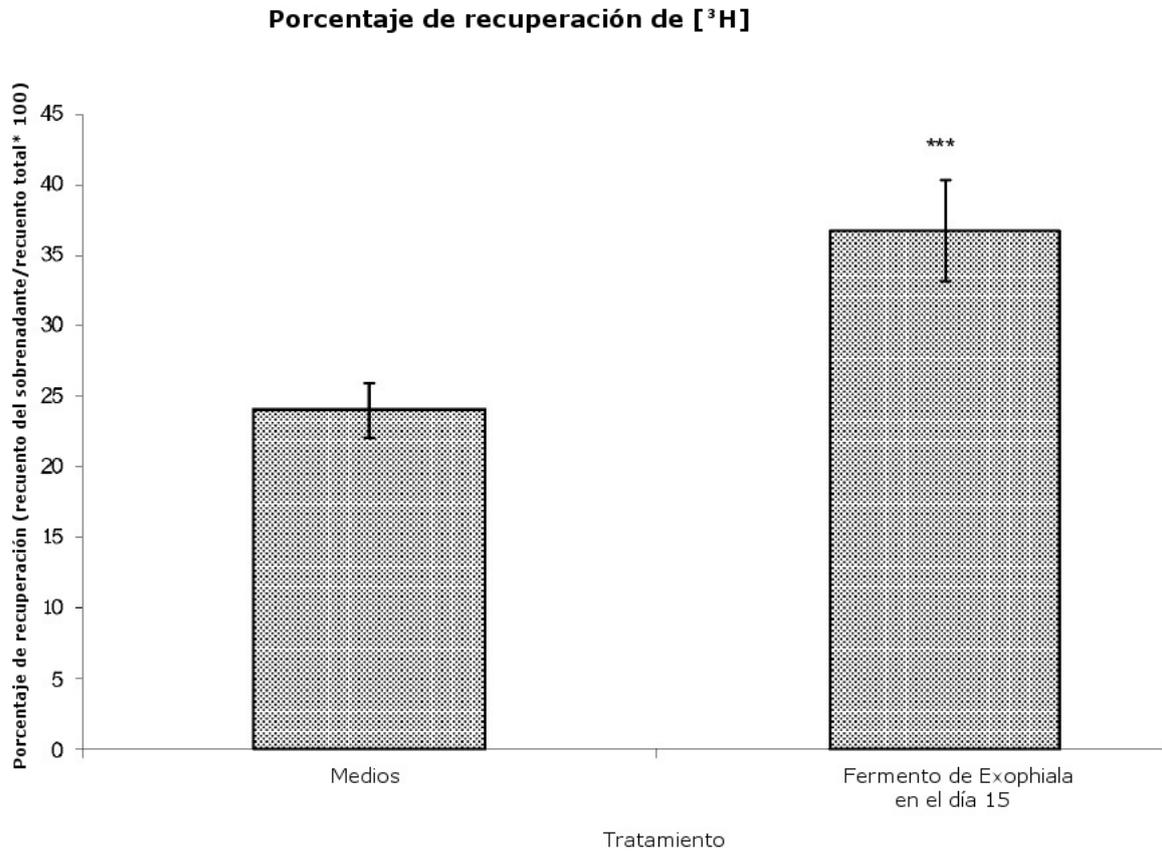


FIG. 2

Porcentaje de recuperación de [³H]

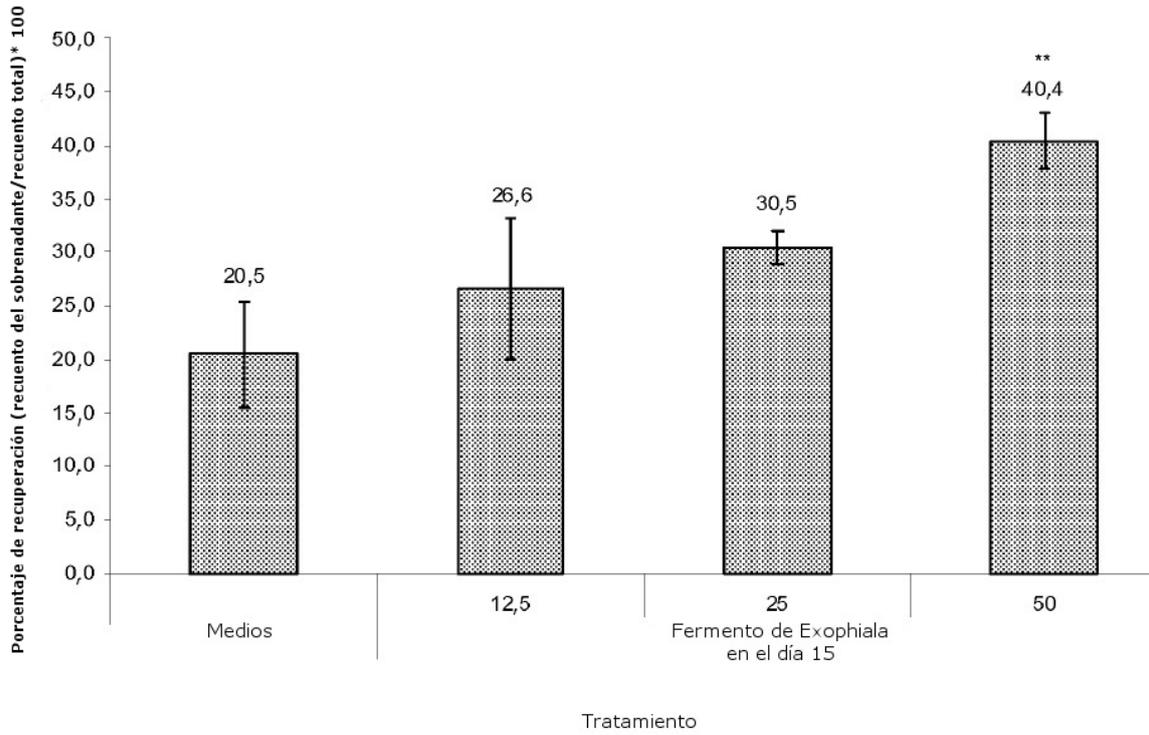


FIG. 3

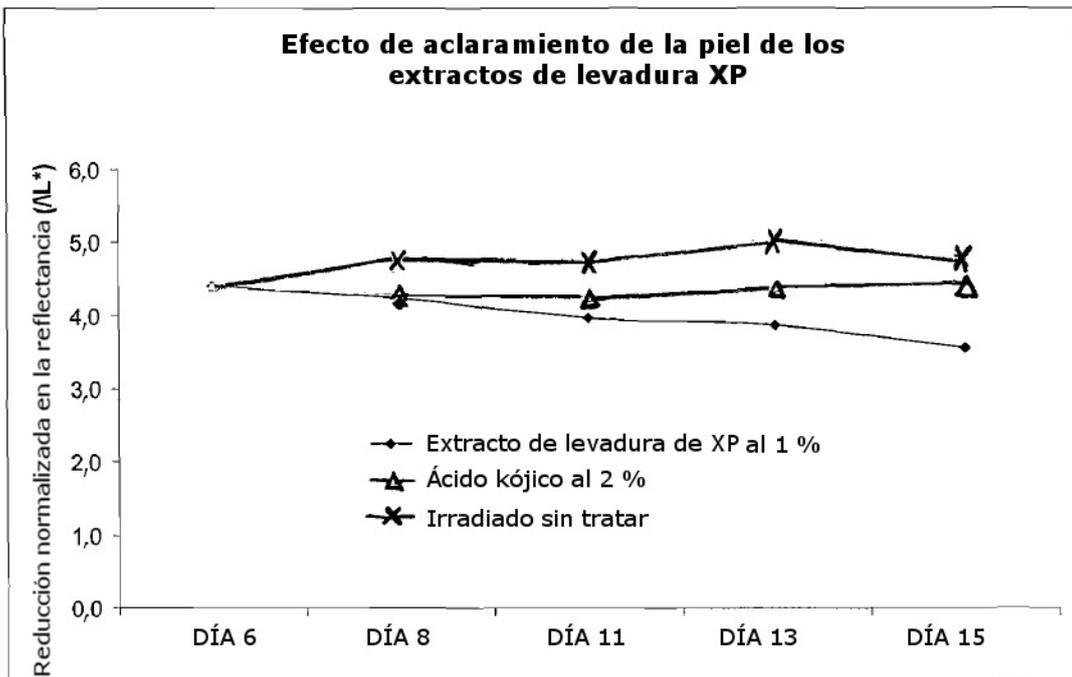


FIG. 4

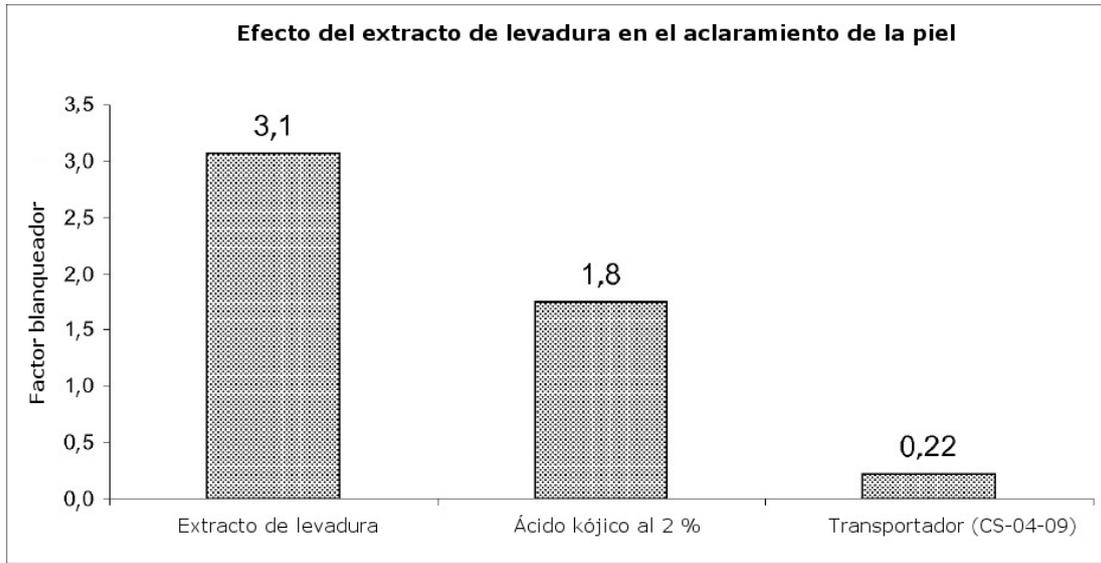


FIG. 5