(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 604 312**

(51) Int. Cl.:

A61K 31/192	(2006.01)
A61K 31/202	(2006.01)
A61K 31/232	(2006.01)
A61K 8/36	(2006.01)
A61K 8/37	(2006.01)
A61Q 19/04	(2006.01)
A61P 17/00	(2006.01)
A61P 17/16	(2006.01)
A61Q 17/04	(2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.07.2011** **PCT/EP2011/062129**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **19.01.2012** **WO12007572**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.07.2011** **E 11748303 (2)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.08.2016** **EP 2593097**

(54) Título: **Compuestos con una actividad de pigmentación cutánea y composiciones cosméticas o farmacéuticas que los contienen**

(30) Prioridad:

16.07.2010 EP 10425243

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
06.03.2017

(73) Titular/es:

GIULIANI S.P.A. (100.0%)
Via P. Palagi 2
20129 Milano, IT

(72) Inventor/es:

GIULIANI, GIAMMARIA;
PAUS, RALF;
RAMOT, YUVAL;
BECKER, ASTRID y
BARONI, SERGIO

(74) Agente/Representante:

RUO , Alessandro

ES 2 604 312 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

Compuestos con una actividad de pigmentación cutánea y composiciones cosméticas o farmacéuticas que los contienen

Campo de la invención

[0001] La presente invención se refiere a compuestos con una actividad de pigmentación cutánea, que son útiles como principios activos en la preparación de composiciones cosméticas o farmacéuticas para el tratamiento de trastornos de pigmentación, o con propiedades foto-protectoras.

Estado de la técnica

[0002] La pigmentación cutánea y su capacidad fotoprotectora dependen no solo del tipo y la cantidad de melanina sintetizada por los melanocitos, sino también de las diferencias de tamaño, número y patrón de distribución de los melanosomas de las células de queratina circundantes. La síntesis de melanina, o melanogénesis, es un proceso enzimático que está catalizado por las tirosinasas TRP1 (proteína 1 relacionada con tirosinasa) y TRP2 (proteína 2 relacionada con tirosinasa), que convierten tiroxina en pigmento melánico en los melanosomas. La inducción de estos enzimas potencia la biosíntesis de melanina, y de eumelanina en particular, que es el pigmento con propiedades fotoprotectoras frente a los efectos nocivos de la radiación ultravioleta (UV). Se sabe que el cáncer de piel es uno de los tumores más comunes, pero también es uno de los más fáciles de prevenir. Aunque la protección frente a la radiación ultravioleta puede reducir considerablemente el riesgo, la tasa de exposición a la luz solar sin protección todavía sigue siendo elevada. Debido al deseo de bronceado, con frecuencia se obvian cualesquiera cuestiones de salud por parte de aquellos que disfrutan de baños solares, y se ponen en práctica muy pocas medidas para modificar este tipo de comportamiento. El bronceado sin exposición solar con auto-bronceadores y pulverizaciones sobre el bronceado son métodos para obtener un aspecto bronceado sin la exposición a radiación UV y podrían representar una adición eficaz a las medidas para prevenir el melanoma.

[0003] Tal y como se presenta por parte de Fu, Duzsa y Halpern, J. Am. Acad. Dermatol., volumen 50, número 50, la preocupación sobre los efectos negativos de la radiación UV está aumentando debido a la rápida proliferación de la industria de bronceadores sin exposición solar. Una nueva tecnología recientemente introducida por esta industria, por ejemplo, es la cabina de bronceado sin exposición solar, en la cual dispositivos de pulverizador fino permiten la aplicación de un revestimiento uniforme de solución de bronceado sin la exposición solar de la piel.

[0004] Otro enfoque válido para evitar el daño provocado por la exposición al sol consiste en aumentar la producción de melanina, obteniendo de este modo una acción fotoprotectora natural.

[0005] Una referencia sobre la pigmentación de melanina epidérmica y melanina fotoprotectora (EMP) se puede encontrar en Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, volumen 9, número 2, Mayo 1991, páginas 135-160, New trends in photobiology: Photoprotection by melanin, Nikiforos Kollias, Robert M., Sayre, Lisa Zeise & Miles R. Cherdekel.

[0006] Entre las otras enfermedades que comúnmente afectan a la piel, existen trastornos de pigmentación que implican determinadas áreas de la piel, cambios de pigmentación o lesiones que modifican el color, asociadas únicamente de forma ocasional con una enfermedad sistémica, aunque la pigmentación, en ocasiones, puede ser indicativa de una enfermedad grave. Aunque los cambios de pigmentación pueden solo considerarse una cuestión simplemente cosmética, es importante recordar que también pueden ser una fuente de dificultad y elevada tensión emocional en los pacientes.

[0007] Uno de los trastornos de pigmentación más frecuentemente que se presentan es el vitíligo, en el que distintas áreas de la piel y membranas de mucosas pierden la pigmentación. Esta pérdida de pigmentación puede ser local o general; la enfermedad tiende a ser progresiva y puede desestabilizar emocionalmente al paciente.

[0008] La pitiriasis alba es una afección común en niños que normalmente se hace evidente antes de la pubertad. Las lesiones comunes de la pitiriasis alba son parches o máculas hipopigmentadas con una ligera tendencia a la formación de escamas, principalmente en la cara y, menos frecuentemente, en el cuello, tronco y extremidades.

[0009] La hipomelanosis idiopática en gotas implica la aparición de máculas despigmentadas, en particular en los brazos y piernas. Estas máculas con forma irregular son básicamente comunes en los individuos de piel clara que han tenido una exposición prolongada a la luz solar, con prevalencia en mujeres.

[0010] La hipopigmentación post-inflamatoria se origina a partir de condiciones inflamatorias que modifican la función de los melanocitos, conduciendo de este modo a cambios en la pigmentación, que pueden ser hiper- o hipo-pigmentación.

[0011] El síndrome de Bourneville (esclerosis tuberosa) es una enfermedad congénita caracterizada por una manifestación repentina, retraso mental y adenoma sebáceo. Con frecuencia, los pacientes tienen máculas hipopigmentadas, normalmente ubicadas en los brazos, piernas y tronco. Estas lesiones son un descubrimiento clave para el síndrome de Bourneville y puede ser los primeros signos clínicos de la enfermedad.

[0012] La tiña versicolor es una enfermedad cutánea ubicua. Con frecuencia, los pacientes notan cambios de pigmentación durante los meses de verano que pueden afectar a estas áreas de menor pigmentación como puntos solares. Este trastorno se presenta en forma de máculas y parches de menor pigmentación asociada a una escamación ligera. Las lesiones tienden a ser de forma redonda o de diente. Las áreas afectadas normalmente son asintomáticas, pero los pacientes pueden en ocasiones quejarse de purito.

Sumario de la invención

[0013] De acuerdo con la presente invención, se ha encontrado inesperadamente que los compuestos que tienen la fórmula general (I) poseen una actividad de pigmentación de la piel útil en el tratamiento de trastornos del tipo anteriormente mencionado, o para su uso como agentes fotoprotectores contra la radiación UV:

$$CH_3\text{-}(CH{=}CH)_n\text{-}R \qquad (I)$$

en la que n = 3, 5, 7; R se escoge entre $–CH_2$-O-CO-R´, -CO-OR´ o $–CO-O^{(-)}$, escogiéndose R´ entre H, alquilo C_1-C_{22} o alquenilo, arilo o aralquilo, o azúcares; y sus sales farmacéuticamente aceptables, tales como sales de sodio, potasio y lisina.

Descripción detallada de la invención

[0014] Un estudio experimental presentado a continuación muestra sorprendentemente que los compuestos de la invención pueden inducir significativamente a actividad de melanogénesis epidérmica por medio de un mecanismo de no-receptor.

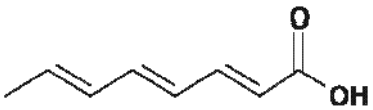
[0015] La invención también se refiere a sus composiciones cosméticas y farmacéuticas, presentando cada compuesto una fórmula general (I) que se usa como tal, o mezclado con los otros.

[0016] La invención se refiere de este modo al uso de compuestos de fórmula (I) como principios activos para todas las aplicaciones cosméticas y terapéuticas en las cuales la actividad melanogénica produce un efecto beneficioso, con especial referencia a los usos para el tratamiento de los trastornos de pigmentación epidérmica anteriormente mencionados, en particular vitíligo, pitiriasis alba, hipomelanosis idiopática en gotas, hipopigmentación pos-inflamatoria, síndrome de Bourneville (esclerosis tuberosa) y tiña versicolor.

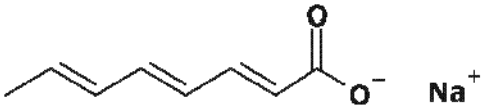
[0017] En un uso cosmético diferente de acuerdo con la presente invención, dicha actividad melanogénica es útil para producir un efecto bronceador sin exposición solar en lugar de un bronceado solar. Además, la invención prevé el uso de compuestos con fórmula general (I) como agentes fotoprotectores frente al efecto nocivo de la radiación ultravioleta (UV) sobre la piel.

[0018] Una composición de la invención, que preferentemente se formula para administración tópica sobre la piel, incluye dicho principio activo en cantidades dentro del intervalo de un 0,01-2 % en peso de la composición.

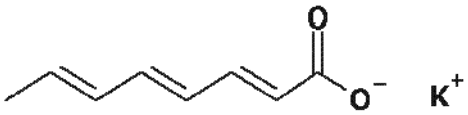
[0019] Los datos de caracterización y fórmulas para algunos de los compuestos preferidos con fórmula general (I) se proporcionan a continuación como descripción de la invención.



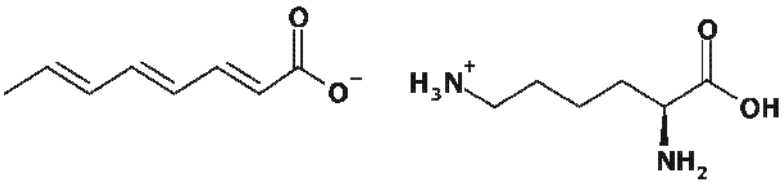
$C_8H_{10}O_2$ PM 138,17
Ácido 2E,4E,6E-octa-2,4,6-trienoico
Nº. CAS: 5205-32-3



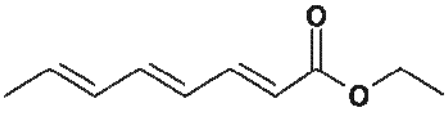
$C_8H_9O_2 \cdot Na$ PM 160,15
Sal de sodio de ácido 2E,4E,6E-octa-2,4,6-trienoico
Nº. CAS: n/d



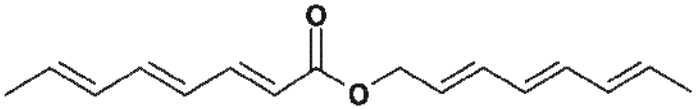
$C_8H_9O_2 \cdot K$ PM 176,26
Sal de potasio de ácido 2E,4E,6E-octa-2,4,6-trienoico
Nº. CAS: 1147842-10-1



$C_8H_9O_2 \cdot C_6H_{15}N_2O_2$ PM 284,36
Sal de L-lisina de ácido 2E,4E,6E-octa-2,4,6-trienoico
Nº. CAS: no disponible

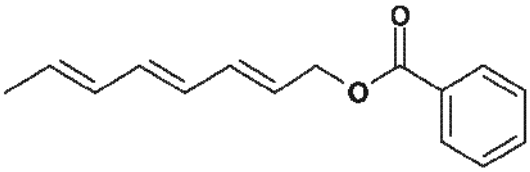


$C_{10}H_{14}O_2$ PM = 166,22
Éster etílico de ácido 2E,4E,6E-octa-2,4,6-trienoico
Nº. CAS: 5941-49-1

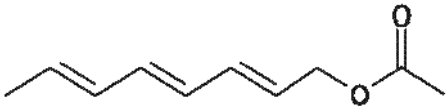


$C_{16}H_{20}O_2$ PM = 244,34

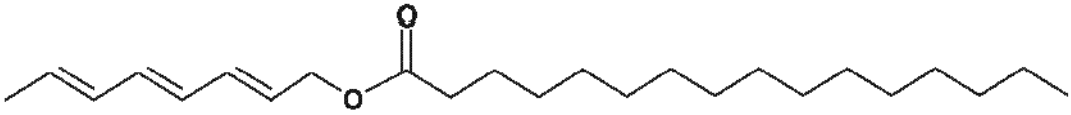
Éster 2,4,6-octatrienílico de ácido 2,4,6-octa-2,4,6-trienoico
Nº. CAS: no disponible



$C_{15}H_{16}O_2$ PM = 228,29
Éster 2,4,6-octatrienílico de ácido bencílico; 2,4,6-octatrien-1-ol, benzoato



$C_{10}H_{14}O_2$ PM = 166,22
Éster 2,4,6-octatrienílico de ácido acético; 2,4,6-octatrien-1-ol, acetato
Nº. CAS: 79541-79-0



$C_{24}H_{42}O_2$ PM = 362,60
Éster 2,4,6-octatrienílico de ácido palmítico; 2,4,6-octatrien-1-ol, palmitato
Nº. CAS: 625112-01-8

[0020] Los siguientes son ejemplos de composiciones particularmente apropiadas para los usos anteriores.

[0021] Las cantidades de ingredientes, que se identifican de acuerdo con la nomenclatura INCI, se expresan como porcentajes en peso, que pueden variar dentro de los intervalos comentados.

Ejemplo 1

[0022]

Gel para aplicación tópica

Componente (nombre INCI)	% en p/p
Polímero entrecruzado de acrilato de alquilo C10-30	0,05-0,30
Alcohol desnaturalizado	0,50-5,00
Fosfolípidos	0,50-2,50
Ácido octatrienoico	0,05-0,30
Glicéridos cáprico/caprílico PEG-8	0,10-0,30
Hidroximetilglicinato de sodio	0,40-0,50
Agua	c. s. hasta 100

[0023] El pH de la fórmula se ajusta en pH = 6 con ácido láctico (si fuese necesario).

Ejemplo 2

[0024]

Gel hidro-alcohólico

Componente (nombre INCI)	% en p/p
Carbómero	0,10-1,50
EDTA de disodio	0,02-0,05
Alcohol desnaturalizado	5,00-20,00
Sal de potasio, ácido octatrienoico	0,05-0,30
Trietanolamina	0,15-2,25
Agua	c. s. hasta 100

[0025] El pH de la fórmula se ajusta en pH = 5,5 con trietanolamina (si fuese necesario).

Ejemplo 3

[0026]

Emulsión cosmética

Componente (nombre INCI)	% en p/p
EDTA de disodio	0,05-0,10
Carbómero	0,10-0,40
Sal de lisina, ácido octatrienoico	0,05-0,30
Cera de abeja PEG-8	5,00-14,00
Isostearato de isostearilo	5,00-10,00
Triglicérido cáprico/caprílico	5,00-10,00
Fenoxietanol	0,30-0,90
Ácido láctico	0,10-0,50

Hidroximetilglicinato de sodio	0,20-0,45
Palmitato de ascorbilo	0,001-0,005
Perfume	0,20-0,50
Ácido láctico	0,30-0,90
Agua	c. s. hasta 100

[0027] El pH de la fórmula se ajusta en pH = 5,5 con una solución de hidróxido de sodio o ácido láctico (si fuese necesario).

Ejemplo 4

[0028]

Loción corporal

Componente (nombre INCI)	% en p/p
Estearet-2	1,00-4,00
Estearet-21	1,00-4,00
Glicerina	1,00-5,00
Hidroxipropil guar	0,05-0,30
Carbonato de dicaprilo	0,50-2,00
Lecitina hidrogenada	0,05-0,80
Fenoxietanol	0,10-0,50
Caprilil glicol	010-0,70
Hidroximetilglicinato de sodio	0,10-0,50
Triglicéridos cáprico/caprílico	1,00-5,00
Isoestearato de isostearilo	1,00-5,00
Alcohol desnaturalizado	0,10-4,00
EDTA de disodio	0,05-0,10
Ácido octatrienoico	0,01-0,05
Dimeticona	0,50-2,00
Agua	c. s. hasta 100

[0029] El pH de la fórmula se ajusta en pH 6 con hidróxido de sodio o ácido láctico (si fuese necesario).

Ejemplo 5

[0030]

Crema hidratante

Componente (nombre INCI)	% en p/p
Glicerina	2,00-5,00
Diglicerina	1,00-3,00
Alcohol cetearílico	0,50-2,00
Cetearil glucósido	1-00-5,00
Estearato de PEG-100	1,00-5,00
Diacetato y glutamato de tetrasodio	0,10-0,50
Ácido octatrienoico	0,05-0,50
Aceite de onagra hidrogenado	0,50-3,00
Octildodecanol	0,50-3,00
Isostearato de isostearilo	1,00-4,00
Triglicéridos caprílico/cáprico	1,00-4,00
Polímero entrecruzado de acrilato de alquilo C10-30/acrilatos	0,10-0,50
Hidróxido de sodio	0,04-0,20
Butirosperum parquii	1,00-5,00
Delta tocoferol	0,05-0,20
Dimeticona	0,50-1,50
Etilhexilglicerina	0,25-0,50
Fenoxietanol	0,50-0,99
Perfume	c.s.
Agua	c. s. hasta 100

[0031] El pH de la fórmula se ajusta en pH 6 con hidróxido de sodio ácido (si fuese necesario).

Ejemplo 6

[0032]

Emulsión corporal

Componente (nombre INCI)	% en p/p
Glicerina	1,00-6,00
Propilen glicol	1,00-6,00
Cetil hidroxietilcelulosa	0,10-0,40
Goma de xantano	0,10-0,40
Almidón de tapioca	1,00-2,00
EDTA de disodio	0,025-0,20
Estearato de sorbitán	2,00-5,00
Cocoato de sacarosa	0,10-1,00
Palmitato de etilhexilo	1,00-5,00
Polideceno hidrogenado	1,00-5,00
Triglicéridos cáprico/caprílico	1,00-5,00
Butirospermun parquii	1,00-5,00
Isostearato de isostearilo	1,00-5,00
Dimeticona	1,00-3,00
Hidroximetilglicinato de sodio	0,10-0,20
Fenoxietanol	0,70-0,90
Perfume	0,30
Delta tocoferol	0,02-0,25
Sorbitil furfural	0,10-0,90
Agua	c.s. hasta 100

[0033] El pH de la fórmula se ajusta en pH 6,0 con ácido láctico.

Ejemplo 7

[0034]

Pomada farmacéutica

Componente (nombre INCI)	% en p/p
Líquido de parafina	1,00-5,00
Petrolato	1,00-5,00
PEG-8	5,00-75,00
PEG-40	2,00-30,00
PEG-75	1,00-10,00
2,4,6-octatrien-1-ol, palmitato (palmitato de octatrienilo)	0,05-0,50

Ejemplo 8

[0035]

Emulsión farmacéutica

Componente (nombre INCI)	% en p/p
Fenoxietanol	0,70-0,99
Líquido de parafina	1,00-5,00
Glicerina	3,00-5,00
Alcohol cetearílico	1,00-5,00
PEG-8	5,00-30,00
PEG-40	5,00-30,00
PEG-75	5,00-45,00
2,4,6-octatrien-1-ol, acetato (acetato de octatrienilo)	0,05-0,50
Agua	c.s. hasta 100,00

Ejemplo 9

[0036]

Auto bronceador

Componente (nombre INCI)	% en p/p
Glicerina	2,00-5,00
Dihidroxiacetona	3,50
Triglicéridos cáprico/caprílico	5,0-12,00
Estearet-20	0,20-3,00

Ácido octatrienoico	0,05-0,50
Monoestearato de glicerilo	0,50-5,00
Benzoato de dietilamino hidroxibenzoil hexilo	1,00-5,00
Benzoato de alquilo C12-15	5,00-15,00
Alcohol cetílico	0,50-3,00
Metilparabeno	0,01-0,15
Propilparabeno	0,01-0,05
Hidróxido de sodio	c.s.
Perfume	0,20
Metil propanodiol	1,00-6,00
Agua	c.s. hasta 100

Ejemplo 10

[0037]

Filtro solar de alta calidad

Componente (nombre INCI)	% en p/p
Dipolihidroxiestearato de PEG-30	1,00-5,00
Sebacato polihidroxiestearato diisostearato de poliglicerilo-4	2,00-5,00
Salicilato de etilhexilo	2,00-5,00
Metoxicinnamato de etilhexilo	6,00-10,00
Triglicérido caprílico/cáprico	3,00-10,00
Dicaprato/dicaprilato de butilen glicol	3,00-6,00
Eicosadioato/behenato de glicerilo sebacato de diisopropilo	2,00-6,00
Hidroxihidrocinnamato de pentaeritritilo y tetra-di-t-butilo	0,02-0,06
Butil metoxidibenzoilmetano	1,00-5,00
Benzoato de dietilamino hidroxibenzoil hexilo	5,00-9,00
Etil hexil triazona	1,00-5,00
Octocrileno	1,00-5,00
Estearato de magnesio	0,10-0,80
Sorbitil furfural	0,05-0,10
Octatrienoato de potasio	0,05-0,50
Quercetina	0,001-0,005
Catequina hidratada	0,05-0,25
Rutina	0,15-0,60
Ácido benzoico	0,2-1,50
Triclosano	0,20-0,30
Nitruro de boro	0,05-0,20
Ácido gliciretínico	0,05-0,50
Dióxido de titanio tratado (hidróxido de aluminio, ácido esteárico)	3,00-5,00
Glicerina	3,00-5,00
Citrato de trietilo	0,10-0,70
Agua	c.s. hasta 100

Estudios experimentales

1) ACTIVIDAD DE PIGMENTACIÓN CUTÁNEA

[0038] A continuación se describe un primer estudio experimental con referencia a los dibujos adjuntos de las Figuras 1 y 2.

Materiales y métodos

[0039] El presente estudio experimental sobre el ácido octatrienoico de principio activo de acuerdo con la invención se basó en cultivos de órganos de biopsias cutáneas, que se sometieron a ensayo en 4 grupos (3 biopsias cutáneas/pocillo) y se incubaron con diferentes concentraciones del principio activo durante 6 días.

La Figura 1 es un diagrama de la intensidad de tinción de Masson-Fontana en relación con la dosis sometida a ensayo de principio activo.
La Figura 2 muestra microfotografías (ampliación de 200 veces) de pigmentación en la capa basal de la epidermis tratada.

Muestras de ensayo de tejidos

[0040] Se obtuvo piel de cuero cabelludo humano normal de mujer que experimentó una cirugía de estiramiento facial rutinaria, previo consentimiento de la misma. Todos los experimentos se llevaron a cabo de acuerdo con la Declaración de Helsinki, con la aprobación expresa del Comité de Ética.

Cultivo de órganos cutáneos de espesor completo

[0041] Se realizaron cultivos de biopsias de 3-4 mm de tamaño a 37 ºC durante 6 días en medio de Williams E (Biochrom, Cambridge, Reino Unido) complementado con 100 IU ml^{-1} de penicilina, 10 µg ml^{-1} de estreptomicina (Gibco, Karlsruhe, Alemania), 10 µg ml^{-1} de insulina (Sigma, Taufkirchen, Alemania), 10 ng ml^{-1} de hidrocortisona (Sigma) y 2 mmol l^{-1} de L-glutamina (Invitrogen, Paisley, Reino Unido).

[0042] Se administraron tres concentraciones diferentes de ácido octatrienoico (0,1 µg/ml, 0,25 µg/ml, 0,5 µg/ml) del medio de referencia una vez, en cada cambio del medio (es decir, cada 48 horas).

Actividad LDH

[0043] Se midió la actividad de lactato-deshidrogenasa (LDH) cada día en el sobrenadante, como indicador de la citotoxicidad, de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Estuche de Detección de Citotoxicidad; Roche, Mannheim, Alemania). La absorbancia de las muestras se midió a 490 nm usando un lector de placas de ELISA.

Pigmentación epidérmica

[0044] Para la evaluación histoquímica de melanina, se aplicó tinción de Masson-Fontana a secciones de piel de cuero cabelludo humano adulto. La melanina se tiñó en forma de puntos marrones y se evaluó el grado de pigmentación usando un ensayo cuantitativo de Masson-Fontana, como se describe de alguna forma (Ito et al., 2005). Este método proporciona un indicativo sensible y fiable de cambios en la síntesis de melanina, como se muestra por medio de la expresión de tirosinasa convencional y los ensayos de actividad enzimática. (Kauser et al., 2006).

[0045] Se analizó la intensidad de tinción en un área de referencia previamente definida de la epidermis usando un soporte lógico ImageJ (National Institute of Health).

Análisis estadístico

[0046] Se llevó a cabo el análisis estadístico usando el ensayo de dos vías de t de Student para muestras independientes.

Observaciones

[0047] El tratamiento del cultivo cutáneo con ácido octatrienoico aumentó la pigmentación cutánea en las tres dosis sometidas a ensayo.

[0048] El diagrama de la Figura 1 en los dibujos adjuntos muestra un marcado aumento de la intensidad de la tinción de Masson-Fontana el día 6 del tratamiento anteriormente descrito, para cada dosis administrada por medio de comparación con el medio solo.

[0049] Las fotografías de la Figura 2 (ampliación de 200 veces) muestran la mayor pigmentación en la capa basal de la epidermis el día 6 del tratamiento anteriormente mencionado, para cada dosis administrada, mostrando las áreas de desarrollo de melanina (véase la flecha).

2) ACTIVIDAD MELANOGÉNICA

[0050] Un segundo estudio experimental evaluó la acción de los compuestos de acuerdo con la invención sobre el fenómeno de la diferenciación de melanocitos en el proceso melanogénico, como se describe a continuación con referencia a los dibujos adjuntos de las Figuras 3, 4 y 5. Para tal fin, el ácido octatrienoico (denominado Octa en los diagramas, para cuestiones de brevedad) se usó sobre cultivos de melanocitos primarios de prepucio con grados variables de pigmentación basal para evaluar los siguientes parámetros:

a) ARNm y expresión de proteína tirosinasa, usando métodos de PCR-RT en tiempo real e inmunotransferencia;
b) actividad enzimática de tirosinasa por espectrometría;
c) cuantificación de génesis de melanina por espectrometría.

[0051] La Figura 3 muestra un diagrama de los resultados del experimento (a) anteriormente descrito.

[0052] La Figura 4 muestra un diagrama de los resultados del experimento (b) anteriormente descrito.

[0053] La Figura 5 muestra un diagrama de los resultados del experimento (c) anteriormente descrito, como se comenta a continuación.

a) Análisis de expresión de tirosinasa

[0054] Se evaluó la expresión de ARNm tirosinasa por medio de PCR-RT en muestras de ensayo de ARNm sometidas a extracción a partir de células tras 24 h de incubación con ácido octatrienoico a concentraciones de 40 y 55 µM.

[0055] Se usó forskolina (FSK), un conocido activador de ciclasa adenilato capaz de favorecer la síntesis de melanina, como control para comparación con la actividad del ácido octatrienoico.

[0056] Cada par de columnas de la Figura 3 muestra la tendencia de expresión de ARMm tirosinasa (expresión Rel tyr ARNm, cambio en número de veces) para melanocitos humanos normales con baja pigmentación (LP NHM, columna de izquierda para cada par) y melanocitos humanos normales con elevada pigmentación (NHM HP, columna de la derecha en cada par), para el cultivo de control (Ctr), FSK, y las dos concentraciones de Octa consideradas. Para estas columnas, *=p< 0,01 vs Ctr, **=p<0,001 vs Ctr., y $ = p<0,05 vs. Ctr.

[0057] Como se muestra en la Figura 3, los experimentos llevados a cabo sobre estos cultivos de melanocitos primarios caracterizados por grados variables de pigmentación basal revelaron una inducción significativa de expresión de ARNm tirosinasa tras el tratamiento con ambas dosis de ácido octatrienoico.

[0058] El análisis de inmunotransferencia de tirosinasa sobre extractos de proteína procedentes de células tratadas con las mismas dosis de Octa durante 72 horas confirmaron que la sustancia sometida a ensayo indujo la expresión de proteínas de la enzima melanogénica.

b) Análisis de actividad de tirosinasa

[0059] Se evaluó la actividad de tirosinasa por espectrometría sobre lisatos celulares procedentes de muestras de ensayo incubados durante 72 horas con ácido octatrienoico a concentraciones de 40 y 55 µM, vs el cultivo de control. Los resultados proporcionados en el diagrama de la Figura 4 muestran un aumento importante de la actividad enzimática, como se expresa sobre el eje de coordenadas y como % de Ctr., en ambos cultivos de melanocitos primarios con grados variables de pigmentación basal, es decir, de nuevo aquí, melanocitos humanos normales con baja pigmentación (NHM LP, columna izquierda en cada par) y melanocitos humanos normales con elevada pigmentación (NHM HP, columna derecha en cada par) mostrados para el cultivo de control (Ctr) y las dos concentraciones de Octa consideradas.

[0060] Para estas columnas, *=p< 0,05 vs. Ctr.

c)Análisis de contenido de melanina intracelular

[0061] Se evaluó la melanina intracelular por espectrometría en lisatos celulares procedentes de muestras de ensayo incubadas durante 72 horas con ácido octatrienoico a concentraciones de 40 y 55 µM, como se muestra en la Figura 5, en melanocitos humanos normales con baja pigmentación (NHM LP, grupo de cuatro columnas de la izquierda) y en melanocitos humanos normales con elevada pigmentación (NHM HP, grupo de cuatro columnas de la derecha), en las que estas columnas se refieren al cultivo de control (Ctr.), la referencia FSK (véase anteriormente) y las dos concentraciones de Octa consideradas. En la Figura 5, *= p< 0,05 vs. Ctr., **=p < 0,01 vs. Ctr., $= p< 0,001 vs. Ctr.

[0062] En los experimentos llevados a cabo sobre cultivos de melanocitos primarios caracterizados por grados variables de pigmentación basal, los resultados mostrados en el diagrama de la Figura 5 revelaron una inducción significativa de la cantidad de melaninas intracelulares tras el tratamiento con ambas dosis de ácido octatrienoico.

Conclusiones

[0063] Los resultados de los experimentos llevados a cabo sobre cultivos de melanocitos primarios de prepucio caracterizados por grados variables de pigmentación demostraron la capacidad de ácido octatrienoico para inducir la expresión y actividad de tirosinasa (la principal enzima melanogénica) y para aumentar el contenido de melaninas intracelulares.

[0064] Estos resultados prueban que los compuestos de acuerdo con la invención son apropiados para mejorar la capacidad fotoprotectora de la piel por medio de la pigmentación de melanina de la epidermis, y para aumentar la intensidad del bronceado cutáneo.

REIVINDICACIONES

1. Compuestos que tienen la fórmula general (I):

CH_3-$(CH=CH)_n$-R (I)

en la que: n = 3, 5, 7; R se escoge entre –CH_2-O-CO-R´, -CO-OR´ o –CO-$O^{(-)}$,
R´ se escoge entre H, alquilo C_1-C_{22} o alquenilo, arilo o aralquilo o azúcares;
y sus sales farmacéuticamente aceptables, tales como sales de sodio, potasio y lisina,
para su uso en terapia para mejorar la pigmentación de la piel humana por inducción de melanogénesis epidérmica.

2. Compuestos de acuerdo con la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento de trastornos de pigmentación.

3. Compuestos de acuerdo con la reivindicación 2 para su uso en el tratamiento de vitíligo, pitiriasis alba, hipomelanosis idiopática en gotas, hipopigmentación pos-inflamatoria, síndrome de Bourneville (esclerosis tuberosa) y tiña versicolor.

4. Compuestos de acuerdo con la reivindicación 1, para su uso en la mejora de la capacidad fotoprotectora de la piel por medio de la pigmentación de melanina de la epidermis.

5. Uso de un compuesto que tiene fórmula general (I) de acuerdo con la reivindicación 1 como cosmético para mejorar la pigmentación de la piel humana mediante inducción de melanogénesis epidérmica.

6. Uso de acuerdo con la reivindicación 5 para mejorar el bronceado de la piel.

7. Uso de acuerdo con la reivindicación 5 y 6 en el que el compuesto se formula en una composición para administración tópica.

8. Compuesto para su uso como se menciona en las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado por que** es ácido 2,4,6-octatrienoico.

9. Compuesto para su uso como se menciona en las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado por que** es la sal de sodio o potasio de ácido 2,4,6-octatrienoico.

10. Compuesto para su uso como se menciona en las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado por que** es la sal de L-lisina de ácido 2,4,6-ocatrienoico.

11. Compuesto para su uso como se menciona en las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado por que** es un éster de ácido 2,4,6-octatrienoico.

12. Compuesto para su uso como se menciona en las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado por que** es el éster etílico de ácido 2,4,6-octatrienoico.

13. Compuesto para su uso como se menciona en las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado por que** es el éster 2,4,6-octatrienílico de ácido 2,4,6-octatrienoico.

14. Compuesto para su uso como se menciona en las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado por que** es benzoato de 2,4,6-octatrien-1-ol.

15. Compuesto para su uso como se menciona en las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado por que** es acetato de 2,4,6-octatrien-1-ol.

16. Compuesto para su uso como se menciona en 1 a 4, **caracterizado por que** es palmitato de 2,4,6-octatrien-1-ol.

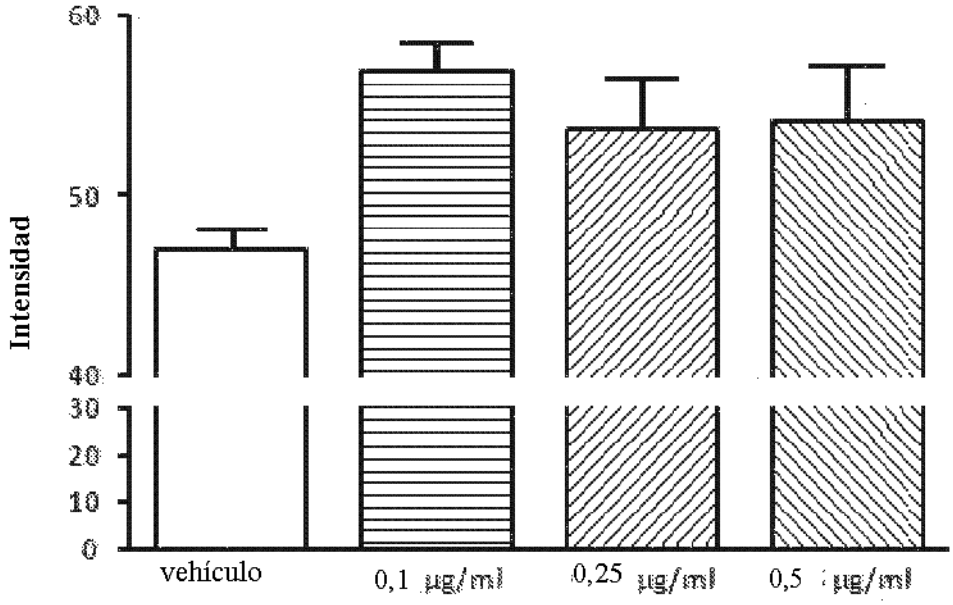
17. Compuesto para su uso como se menciona en las reivindicaciones 1-4, en el que se formula en una composición para administración tópica.

18. Compuesto para su uso como se menciona en la reivindicación 17, en el que se formula en una composición para administración tópica que incluye dicho compuesto en una cantidad dentro del intervalo de un 0,01 a un 2,0 % en p/p.

19. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de trastornos de pigmentación que comprende uno o más de los compuestos que tienen la fórmula general (I) de acuerdo con la reivindicación 1 como principio activo.

20. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 19 formulada para administración tópica.

21. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 20 en la que el principio activo se formula en una cantidad dentro del intervalo de un 0,01 a un 2,0 % en p/p.



6 días de cultivo tratado con ácido octatrienoico

Fig.1

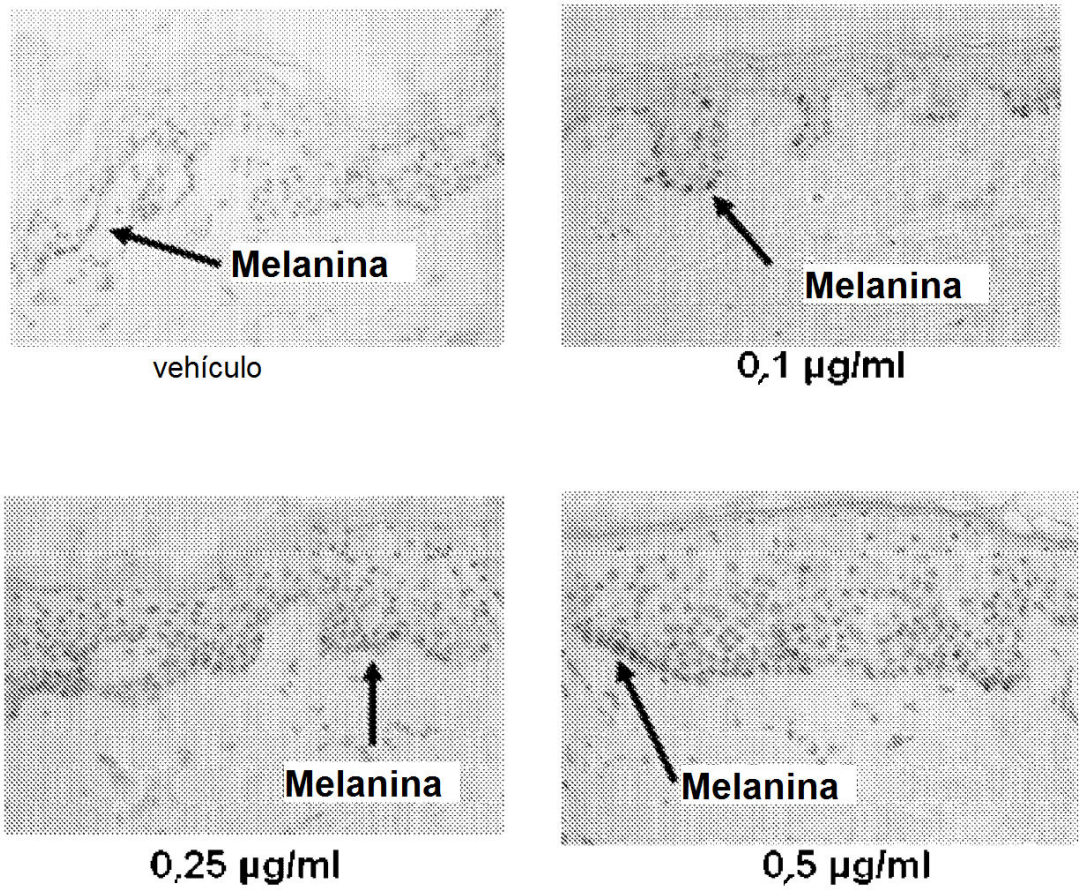

Melanina
vehículo
Melanina
0,1 µg/ml
Melanina
0,25 µg/ml
Melanina
0,5 µg/ml

Fig.2

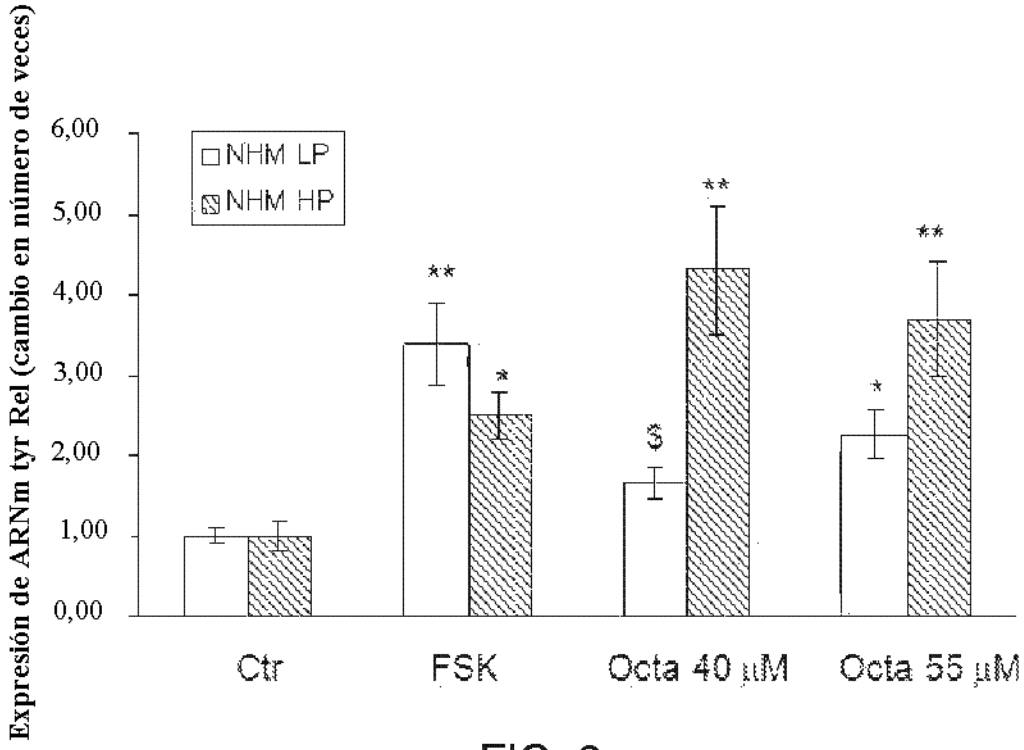

Expresión de ARNm tyr Rel (cambio en número de veces)
6,00
5,00
4,00
3,00
2,00
1,00
0,00
NHM LP
NHM HP
**
*
$
**
*
**
Ctr
FSK
Octa 40 µM
Octa 55 µM

FIG. 3

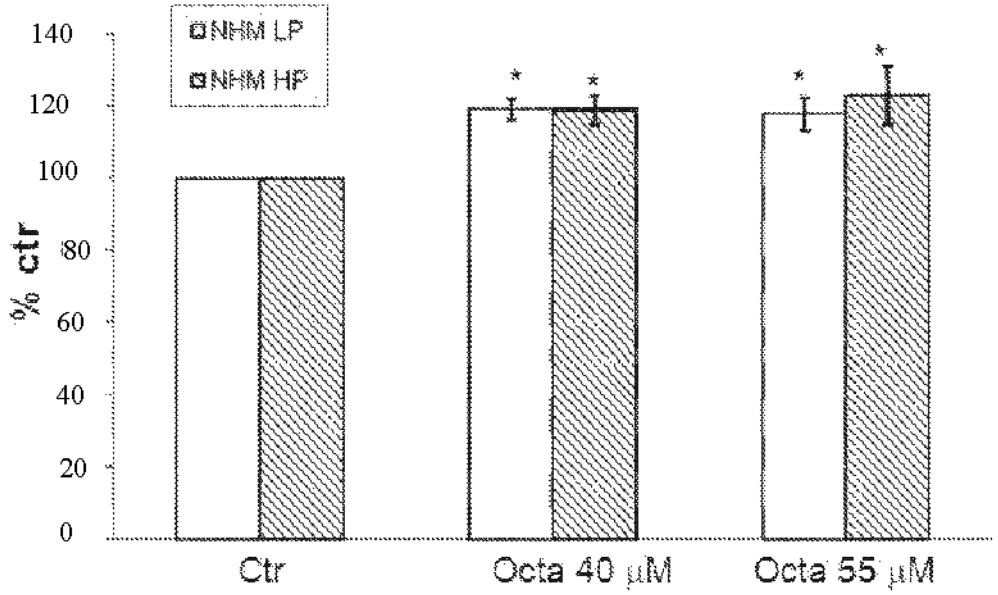

NHM LP
NHM HP
140
120
100
80
60
40
20
0
% ctr
Ctr
Octa 40 μM
Octa 55 μM

FIG. 4

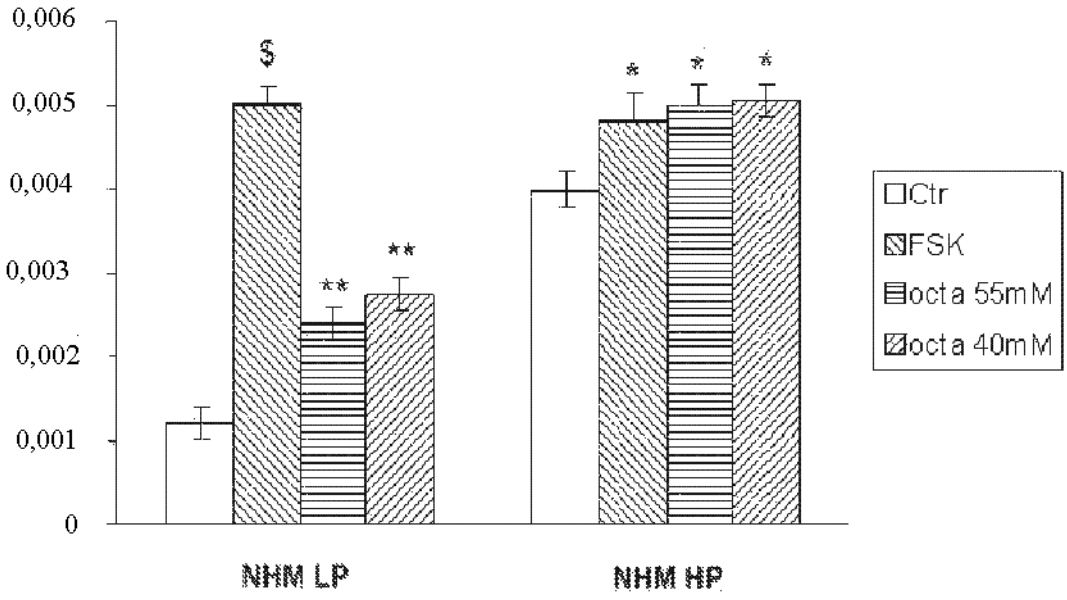

0,006
0,005
0,004
0,003
0,002
0,001
0
NHM LP
NHM HP
Ctr
FSK
octa 55mM
octa 40mM

FIG. 5