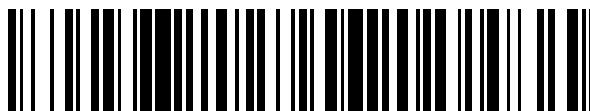


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 641 492**

51 Int. Cl.:

A61P 31/00 (2006.01)
A61K 38/17 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61K 31/728 (2006.01)
A61K 38/08 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 9/06 (2006.01)
A61K 47/36 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.02.2014 PCT/FR2014/050383**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **04.09.2014 WO14131974**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.02.2014 E 14718638 (1)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.06.2017 EP 2961481**

54 Título: **Composición dermatológica antimicrobiana tópica**

30 Prioridad:

28.02.2013 FR 1351766

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
10.11.2017

73 Titular/es:

LABORATOIRES THEA S.A.S. (100.0%)
12 rue Blériot ZI du Brézet
Clermont-Ferrand, FR

72 Inventor/es:

LEFEVRE, JEAN-MARIE;
PEYROT, JACQUES y
ALLART, JEAN-CLAUDE

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 641 492 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

Composición dermatológica antimicrobiana tópica

5 La presente invención concierne a una nueva composición útil en terapéutica, que presenta propiedades antimicrobianas, y más particularmente una nueva composición a base de ácido hialurónico y de péptido antimicrobiano catiónico, útil en medicina humana y veterinaria, particularmente en dermatología y en oftalmología para el tratamiento de las infecciones microbianas.

10 La piel constituye a la vez una barrera anatómica viva y una zona de intercambio entre el cuerpo y su entorno, cuya eficacia condiciona el mantenimiento de un equilibrio homeostático satisfactorio. La piel es un verdadero órgano que comprende varias capas integradas, que van desde la capa superficial, la epidermis, hasta las capas más profundas, la dermis y la hipodermis, ejerciendo cada una de estas capas funciones que permiten al conjunto reaccionar y adaptarse a su entorno.

15 La epidermis, compuesta principalmente de queratinocitos, melanocitos y células de Langerhans, tiene un espesor variable según las diferentes partes del cuerpo, y constituye la capa externa de la piel para asegurar la protección del cuerpo frente a su entorno exterior. La dermis es la capa más gruesa, atravesada por fibras nerviosas y vasos sanguíneos, estando compuesta principalmente por colágeno, elastina, proteoglucanos y glucosaminoglucanos, sintetizados principalmente por los fibroblastos dérmicos. Las fibras de colágeno aseguran la resistencia mecánica y la textura de la piel, la elastina es responsable de su elasticidad, y los glucosaminoglucanos y proteoglucanos juegan un papel principal de estructura y de hidratación de la piel. La capa más profunda de la piel forma la hipodermis, que contiene los adipocitos que producen lípidos que aseguran la formación de una capa grasa que protege los músculos, los huesos y los órganos internos contra los choques.

20 Los cambios en la estructura de la epidermis, tales como un aumento de la humedad o la existencia de irritaciones o de lesiones cutáneas de orígenes diversos, o la evolución de una dermatosis, favorecen la colonización y la infección de la piel por los microorganismos patógenos. La pululación microbiana que resulta de ello tiene como efecto modificar las condiciones de la cicatrización retardándola o bloqueándola, y favoreciendo así la difusión de una infección a partir de la lesión inicial.

25 Así, la piel es atacada constantemente por microorganismos patógenos, pero la capa córnea de la epidermis, debido a su pH, su contenido de agua relativamente bajo y la presencia de péptidos antibacterianos que tienen acción bactericida, juega el papel de primera defensa antimicrobiana contra estos microorganismos patógenos.

30 La mayor parte de las colonias bacterianas se transforman en biofilms, estructura membranal de supervivencia microbiana, que pervierte los factores de crecimiento y de cicatrización creando una inflamación que impide que el proceso de defensa antimicrobiana actúe eficazmente. Debido a la utilización muy extensa, y a veces excesiva, de antibióticos, las bacterias han desarrollado resistencia a los antibióticos que limitan e incluso anulan sus efectos antibacterianos. Las bacterias de los biofilms resisten a la mayor parte de los antibióticos y de los antisépticos, siendo necesario por tanto poner a punto composiciones susceptibles de luchar eficazmente contra los microorganismos patógenos respetando en el mayor grado posible la homeostasis cutánea, y no favoreciendo el desarrollo de cepas resistentes, peligrosas para el hombre y su entorno.

35 Es sabido que los péptidos antimicrobianos catiónicos ejercen acción sobre la membrana de las bacterias por unión electrostática entre el péptido catiónico y los fosfolípidos cargados negativamente que se encuentran en la estructura externa de la membrana de las bacterias Gram-negativas, mientras que en el caso de las bacterias Gram-positivas, la unión se establece entre el péptido y los componentes del peptidoglucano alrededor de la membrana plasmática de las bacterias. El carácter catiónico de los péptidos antimicrobianos explica su afinidad para la membrana aniónica de las bacterias, y la fijación es tanto más fácil cuanto mayor es la carga. Después de la fijación, los péptidos modifican la permeabilidad membranal, formando poros que provocan la osmólisis y luego la muerte de la bacteria.

40 Así, los péptidos antimicrobianos, en particular los péptidos catiónicos, actúan al nivel cutáneo protegiendo la piel contra las infecciones bacterianas y la inflamación.

45 Las defensinas constituyen una familia de péptidos antimicrobianos naturales implicados en la inmunidad inespecífica, o innata. Se trata de pequeños péptidos catiónicos antimicrobianos constituidos por cadenas de 36 a 42 aminoácidos que comprenden puentes disulfuro intramoleculares. En el hombre, las defensinas poseen un amplio espectro de actividades antibacteriana y antifúngica muy eficaces, y se dividen en dos grupos, a saber las α -defensinas y las β -defensinas. Estas últimas están presentes en el conjunto de los epitelios, entre ellos el epitelio cutáneo y la mucosa lacrimal y bucal, y en el seno de numerosos órganos, y juegan un papel importante en las respuestas a las infecciones. Las β -defensinas se liberan como resultado de la activación de receptores específicos, los receptores Toll Like (TLR).

50 Estudios realizados han demostrado que la flora bacteriana comensal y la flora patógena utilizan diferentes vías de inducción de las β -defensinas. Así pues, la piel dispone de medios moleculares para diferenciarlas y luchar contra las bacterias.

Los "Toll Like Receptors" (TLR) son receptores membranales expresados por la familia de genes TLR con papel fundamental en el reconocimiento de gérmenes patógenos y la activación de la inmunidad innata. Los mismos modulan la producción de citoquinas necesarias para una inmunidad eficaz. Los TLR4 y TLR2 son activos durante el reconocimiento de los lipopolisacáridos (LPS) presentes en las bacterias Gram-negativas. La LPS es una endotoxina bacteriana pro-inflamatoria. El TLR2 reconoce más particularmente el peptidoglucano de las bacterias Gram-positivas y el TLR4 reconoce la LPS de las bacterias Gram-negativas. La piel, las proteínas TLR2 y TLR4 se expresan en los queratinocitos y TLR2 en las glándulas sebáceas.

Las defensinas juegan el papel original de inductores, es decir de molécula susceptible de desencadenar un mecanismo en defensa del organismo. Así presentes naturalmente en la piel, aquéllas son estimuladas para reforzar la protección de las pieles fragilizadas. En un entorno que es a menudo hostil, es importante ayudar a las funciones biológicas para mantener la calidad y el estado de una piel bella y sana. La noción de inductor implica incitar las vías biológicas presentes en la piel a reaccionar mejor frente a las agresiones externas.

Las propiedades antimicrobianas de la β -defensina humana (HBD-3) se describen en la solicitud de patente WO 0192309.

El ácido hialurónico es un polímero natural basado en disacárido que comprende unidades de ácido D-glucurónico y N-acetilglucosamina unidas por enlace glucosídico. Sus propiedades son muy variables según su peso molecular. Los ácidos hialurónicos de peso molecular alto, superior a 1.000 kDa, se utilizan esencialmente para favorecer la hidratación de la piel gracias a la red glucídica hidrófila que forman los mismos. Los ácidos hialurónicos de peso molecular bajo, inferior a 50 kDa aproximadamente, pueden franquear la barrera del stratum corneum, y estimulan los receptores CD44 responsables de la neosíntesis del ácido hialurónico en la dermis.

El ácido hialurónico, como el colágeno, es uno de los constituyentes principales de la matriz extracelular de la dermis y juega un papel importante en el crecimiento celular y el mantenimiento de la hidratación. Durante el curso del envejecimiento de la piel, se observa una disminución de su concentración en la dermis. El ácido hialurónico es un glucosaminoglucano utilizado a menudo en composiciones cosméticas y dermatológicas, generalmente en forma de hialuronato de sodio, en particular para favorecer la hidratación, y para estimular la cicatrización y las defensas naturales de la piel. El mismo se utiliza igualmente en cirugía estética para el relleno de las arrugas, en tratamientos médicos contra la artrosis, y en oftalmología. Diversos derivados de ácido hialurónico, reticulados o no reticulados, susceptibles de presentar una resistencia satisfactoria frente a la degradación enzimática, y utilizables en particular en composiciones cosméticas, se describen por ejemplo en la solicitud WO 2011080450. Diversas formas de ácido hialurónico son bien conocidas y están disponibles en el comercio.

Se ha propuesto asociar el ácido hialurónico o derivados del mismo con el sulfato de condroitina, como en la solicitud WO 2009073437, o con un retinoide y un oligosacárido como en la patente FR 2.894.827. Sales de metales pesados de ácido hialurónico han sido propuestas también en composiciones antimicrobianas, como se describe en la solicitud WO 8705517. La patente US 6.180.601 describe una composición farmacéutica que utiliza un ácido hialurónico de peso molecular bajo, a saber 50 a 200 kDa, formando una matriz que incorpora un péptido o una proteína, por ejemplo una hormona de crecimiento. La solicitud WO 2006130974 se refiere a péptidos que contienen con preferencia 15 a 40 aminoácidos, que pueden estar unidos por una parte al ácido hialurónico y por otra parte a la cápsula bacteriana que contiene ácido hialurónico, y que puede utilizarse en presencia de un lípido para formar liposomas. Una composición farmacéutica que comprende un péptido derivado de lactoferrina y de ácido hialurónico se describe en la solicitud WO 2010081800.

Los estudios realizados por la Solicitante han permitido demostrar que es posible obtener una actividad antimicrobiana eficaz, equivalente a la de los antisépticos y antibióticos locales, asociando un péptido catiónico antimicrobiano a un ácido hialurónico de peso molecular medio, y que la actividad antimicrobiana del péptido catiónico está potenciada por la asociación con el ácido hialurónico que estimula la producción de β -defensinas. Por actividad antimicrobiana se entiende una actividad antibacteriana y/o antiviral y/o antifúngica.

El objeto de la presente invención es proponer una nueva composición tópica que presenta propiedades antimicrobianas que permiten tratar eficazmente las infecciones microbianas cutáneas y reforzar las defensas naturales de la piel, sin recurrir a antibióticos o a antisépticos químicos.

La presente invención tiene así pues por objeto una composición dermatológica, que comprende en asociación al menos un péptido catiónico antimicrobiano y ácido hialurónico de peso molecular medio o una de sus sales, dicha composición siendo tal como definida en la reivindicación 1.

La presente invención tiene asimismo por objeto una composición dermatológica tópica antimicrobiana, que comprende en asociación al menos un péptido catiónico antimicrobiano acoplado a un lípido, y ácido hialurónico, o una de sus sales, de peso molecular comprendido entre 100 kDa y 800 kDa.

Por último, la presente invención tiene por objeto la composición que comprende al menos un péptido catiónico antimicrobiano acoplado a un lípido, y ácido hialurónico de peso molecular medio o una de sus sales, en asociación, para utilización en el tratamiento de las infecciones microbianas cutáneas, fariángeas o mucosas.

Una composición de este tipo es útil en dermatología humana para el tratamiento de lesiones cutáneas gracias a sus propiedades antimicrobianas.

5 La misma es útil también en dermatología y en oftalmología, más particularmente para el tratamiento de las infecciones ligadas a lesiones agudas crónicas, foliculitis, sobreinfecciones de las enfermedades inflamatorias dermatológicas, blefaritis, meibonitis y conjuntivitis.

De acuerdo con la presente invención, el péptido antimicrobiano catiónico es con preferencia un péptido que comprende menos de 50 aminoácidos, más preferiblemente entre 3 y 30 aminoácidos, y que presenta un amplio espectro antimicrobiano contra las bacterias Gram-positivas y Gram-negativas.

10 Se puede utilizar por ejemplo un péptido antimicrobiano catiónico seleccionado entre los péptidos lineales con estructura en hélice, los péptidos que comprenden uno o varios puentes disulfuro y los péptidos lineales ricos en ciertos aminoácidos.

15 El péptido catiónico antimicrobiano de la invención que comprende menos de 50, con preferencia menos de 30 aminoácidos, puede seleccionarse por ejemplo entre los derivados de la magainina, de la protegrina, de la indolicidina y de la histatina. Se puede utilizar también un péptido catiónico sintético como el pentaclorhidrato de omiganán, análogo a la indolicidina, el clorhidrato de iseganán, una protegrina sintética, y el acetato de pexiganán, análogo de la magainina. Estos péptidos están acoplados por enlace covalente con un lípido, y con preferencia con un ácido graso tal como el ácido palmítico. Más particularmente, este enlace covalente no es liposomal. Es posible utilizar también un péptido disponible en el comercio como Oligopéptido-10 (Grant Industries) o el Shield Bact Peptide (Infinitec) que es un hexapéptido acoplado al ácido palmítico que comprende puentes disulfuro.

20 La actividad antimicrobiana de las composiciones según la invención ha sido puesta de manifiesto por estudios in vitro y ex vivo como se indica más adelante, que demuestran una triple acción consistente en neutralizar las endotoxinas microbianas para minimizar la sollicitación de los Toll Like Receptors, mimetizar la acción de las β -defensinas para procurar un efecto antiinfeccioso rápido, y modular la reacción inflamatoria.

25 El péptido antimicrobiano debe ser con preferencia anfifílico. Este carácter anfifílico se refuerza acoplando el péptido catiónico con un lípido, y particularmente un ácido graso lineal o ramificado, saturado o insaturado, que comprende con preferencia 6 a 22 átomos de carbono, tal como el ácido oleico, el ácido linoleico, el ácido láurico, el ácido sapiénico, el ácido esteárico y el ácido palmítico. El acoplamiento del ácido graso con el péptido se hace con preferencia por enlace covalente con al menos uno de los aminoácidos que constituyen el péptido. El enlace covalente puede ser por ejemplo un enlace amida en el extremo N-terminal del péptido. Los estudios efectuados han demostrado que el carácter anfifílico así reforzado favorece la fijación del péptido catiónico en la superficie de las bacterias y tiene por efecto

- una perturbación estructural de la capa externa de la membrana bacteriana;
- una acumulación de ácido graso en forma de micelas, en la interfaz membranal;
- una perforación de esta doble membrana por creación de canales iónicos.

35 Esta triple acción tiene como consecuencia una lisis bacteriana ligada a la pérdida de impermeabilidad de su membrana y a la acción del péptido catiónico sobre las dianas aniónicas intracitoplásmicas.

Además, el péptido catiónico antimicrobiano de la invención exhibe:

- un amplio espectro de actividad que abarca las bacterias Gram-negativas y Gram-positivas, las infecciones micóticas, virales y parasitarias,
- 40 - una gran rapidez de acción ligada a las múltiples dianas alcanzadas por el ácido graso, en el seno de la bacteria,
- un riesgo muy bajo de aparición de resistencia comparado con el observado con los antibióticos convencionales.

45 Los estudios efectuados han demostrado también que el péptido catiónico antibacteriano utilizado en la invención es capaz de neutralizar la respuesta de las células huésped a las endotoxinas bacterianas, cualquiera que sea el tipo de éstas, según las bacterias (Gram-negativas o Gram-positivas) que las producen. Dicho péptido modula así la respuesta inmunitaria innata por la limitación de la actividad de los TLR y la producción de TNF α , lo que atempera la cascada inflamatoria y la tempestad de citoquinas que se deriva de ella (IL-6, IL-1b, IL-1a).

El susodicho péptido tiene también otras propiedades en relación con la inmunidad innata por la acción quimiotáctica sobre los monocitos y neutrófilos polinucleares, por la liberación de histamina por los monocitos, y por la inhibición de las proteasas que limita las destrucciones tisulares y estimula la reparación tisular.

50 Los estudios realizados han demostrado que este mecanismo de defensa de la inmunidad innata en presencia de un ataque bacteriano puede ser optimizado por la asociación del péptido catiónico antimicrobiano, ligado con

preferencia a un ácido graso, con el ácido hialurónico de peso molecular medio. La acción inmediata sobre los gérmenes se completa por la neutralización de las endotoxinas que secretan los mismos.

5 De ello resulta que la liberación de las citoquinas pro-inflamatorias se reduce y que la acción propia del ácido hialurónico puede expresarse entonces plenamente por una fijación acelerada sobre los Toll Like Receptors y una secreción incrementada de β -defensinas, creando así una segunda línea de defensa contra los gérmenes. Paralelamente, los mecanismos de reparación son estimulados para restaurar rápidamente el efecto barrera de la epidermis.

10 Según la presente descripción, por ácido hialurónico se entiende el ácido hialurónico en forma libre o de una de sus sales de metales alcalinos y alcalinotérreos, por ejemplo el hialuronato de sodio, de potasio, de calcio o de magnesio, de peso molecular medio, es decir comprendido con preferencia entre 100 y 800 kDa, más preferentemente entre 200 y 600 kDa.

15 El ácido hialurónico utilizable en la invención está disponible en el comercio en diversas formas adaptadas según las utilidades contempladas. El mismo puede producirse industrialmente en cantidades importantes por extracción a partir de tejidos animales tales como crestas de gallo, o por fermentación bacteriana, o incluso por procedimiento biotecnológico a partir de sustancias vegetales, por ejemplo del trigo.

Se puede utilizar por ejemplo ácido hialurónico hidrolizado o sal de sodio del ácido hialurónico, de peso molecular comprendido entre 200 y 600 kDa, como los disponibles en el comercio bajo la marca PrimalHyal 300 (Soliance) de peso molecular próximo a 300 kDa o PrimalHyal 450 de peso molecular próximo a 450 kDa.

20 Las composiciones según la presente invención pueden comprender una cantidad eficaz de cada uno de los principios activos arriba indicados, y por ejemplo entre 0.05 y 2% en peso de ácido hialurónico, y entre 0.001 y 1% en peso de péptido catiónico antimicrobiano, con relación al peso total de la composición.

25 Las composiciones según la invención pueden comprender además uno o varios principios activos complementarios que refuerzan o completan ventajosamente la actividad de la asociación de ácido hialurónico y de péptido antimicrobiano, y compatibles, es decir no susceptibles de reaccionar unos con otros o de enmascarar o limitar sus efectos respectivos.

30 Por ejemplo, aquéllas pueden contener quitosano, o quitina, que, al combinarse con el ácido hialurónico, presenta un efecto de red protectora reticulada que favorece la producción endógena de los factores de crecimiento queratinocítico que inducen la actividad fibroblástica, aumentando la producción de colágeno y acelerando la diferenciación de los fibroblastos en miofibroblastos. Aquéllas pueden contener también una base esfingoide, tal como la esfinganina y la fitoesfingosina, que optimiza el efecto antibacteriano y refuerza el efecto antiinflamatorio del péptido.

35 Diversos principios activos secundarios pueden añadirse ventajosamente a la composición y seleccionarse entre, por ejemplo, un agente cicatrizante, un antiinflamatorio, un antiinfeccioso y una vitamina tal como la vitamina A o E. El agente cicatrizante puede ser por ejemplo una sal de cinc, un extracto de semilla de algarroba rico en oligogalactomananos. El antiinflamatorio puede ser un polisacárido tal como Rhamnosoft® o Teflose® (Solabia) que inhibe la adhesión celular y limita las reacciones inflamatorias, o un extracto de goma de *Boswellia serrata* (Soothex®) que actúa por inhibición enzimática de la síntesis de los leucotrienos. El antiinfeccioso complementario puede seleccionarse entre un silanol y un activador de la formación de péptido antimicrobiano tal como el metil-caproil-tirosinato (Defensamide®).

40 Las composiciones según la presente invención pueden presentarse en todas las formas galénicas usuales para una aplicación tópica, particularmente para aplicación tópica externa. Las mismas se pueden presentar, por ejemplo en forma de soluciones acuosas o hidro-alcohólicas, lociones micelares, soluciones para pulverización, champúes, dispersiones, sueros, toallitas, parches, tules o apósitos de liberación controlada, geles (acuoso, anhidro o lipófilo), oleogeles (geles lipídicos), pomadas, suspensiones, dispersiones vesiculares iónicas o no iónicas, unidades líquidas o semilíquidas (por ejemplo una leche), sólidas o semi-sólidas. Las emulsiones pueden ser del tipo de aceite en agua (H/E) o agua en aceite (E/H), por ejemplo geles o cremas.

50 Los excipientes y soportes utilizables para la preparación de las composiciones según la presente invención son los utilizados corrientemente en las preparaciones para uso dermatológico, y seleccionados en función de la forma de administración considerada. A modo de ejemplo, se pueden citar emulsionantes, espesantes, gelificantes, suavizantes, conservantes, solubilizantes, agentes de suspensión así como bases limpiadoras y perfumes.

55 El agente emulsionante puede seleccionarse por ejemplo entre polímeros carboxivinílicos de peso molecular alto, polisorbatos tales como el Polysorbate 20® o Tween 60®, ésteres de sorbitán y más particularmente un estearato, un palmitato, o un laurato de sorbitán tal como el Arlacel®. Se puede utilizar también como agente emulsionante un derivado de ácido esteárico o palmítico, por ejemplo el estearato de polietilenglicol, el estearato de glicerol, el estearato de PEG 100® (por ejemplo Arlacel 165®), un esteariléter, un alcohol graso tal como un alcohol estearílico, caprílico, o cetarílico, por ejemplo el Montanov 68®, o incluso una silicona emulsionable.

Los gelificantes y espesantes se incorporan en la composición para mejorar la fluidez de ésta. Los mismos pueden seleccionarse por ejemplo entre las poliacrilamidas del tipo Carbopol, copolímeros acrilato/ácido acrílico como el Aculyln®, acrilatos reticulados como un Carbopol Ultrez®, derivados de celulosa como la hidroxipropil-celulosa, o las gomas naturales como la goma xantano y la goma tragacanto.

- 5 Los agentes hidratantes y suavizantes utilizados en la composición pueden seleccionarse por ejemplo entre el propilenglicol, la glicerina, el butilenglicol y la manteca de Karité, así como los alcoholes grasos. Un agente de suspensión apropiado es por ejemplo una arcilla tal como bentonita o esmectita.

Puede añadirse también ventajosamente un agente que facilite la penetración a través de la epidermis, tal como la Cosmoperina.

- 10 Las composiciones de acuerdo con la presente invención se preparan por las técnicas usuales, en función de la forma de administración seleccionada, las cantidades deseadas de ácido hialurónico, o de sus sales, que se mezclan con el péptido antimicrobiano, y eventualmente la quitina o el quitosano, y los soportes y excipientes, en un medio fisiológicamente aceptable.

- 15 Por fisiológicamente aceptable, en el sentido de la presente invención, se entienden soportes y excipientes de un tipo utilizado corrientemente en las composiciones dermatológicas en medicina humana, neutras frente a los principios activos utilizados, que no presentan efecto tóxico alguno y no ocasionan ningún efecto secundario pernicioso sobre la piel.

- 20 Por ejemplo, en el caso de una crema, se puede proceder por dispersión de una fase grasa en una fase acuosa para obtener una emulsión de aceite en agua, o inversamente para preparar una emulsión de agua en aceite, encontrándose los principios activos en una u otra fase.

La composición de la invención, por ejemplo en forma de crema, se aplica con preferencia 2 a 3 veces al día sobre la zona de la piel que requiere el tratamiento, durante un periodo de tiempo que puede oscilar desde varios días a 4 semanas según la gravedad de la afección.

- 25 Los ejemplos que siguen ilustran la invención de modo más detallado sin limitar el alcance de la misma. En todos los ejemplos de composiciones que siguen, las partes se expresan en peso, salvo indicación en contrario.

Ejemplo 1

Se prepara un gel acuoso mezclando a la temperatura ambiente los componentes en el orden indicado a continuación.

Agua desmineralizada	78.60
Carbopol Ultrez 20	0.80
Sosa (solución acuosa al 32%)	0.50
Glicerina	2.00
Shield Bact Peptide® (solución al 0.1%)	5.00
Agua desmineralizada	10.00
Ácido hialurónico (PrimalHyal 450®)	0.10
Agua desmineralizada	2.00
Pentilenglicol	1.00

- 30 Un gel acuoso así compuesto puede utilizarse típicamente 2 a 3 veces al día durante varios días consecutivos en función de la gravedad de la afección tratada.

Ejemplo 2

Por una técnica clásica, se prepara una loción que tiene la composición siguiente.

Agua desmineralizada	82.65
Carbopol Ultrez 20	0.45
35 Sosa (solución acuosa al 32%)	0.30
Agua desmineralizada	7.00

	Ácido hialurónico (PrimalHyal 450®)	0.10
	Glicerina	2.00
	Teflose® (Solabia)	2.00
	Éster de PEG-7 de aceite de oliva	2.00
5	Polysorbate 20	0.50
	Shield Bact Peptide® (solución al 0.1%)	3.00

Esta loción puede utilizarse una a dos veces al día durante varios días para el tratamiento de afecciones oftálmicas tales como una blefaritis.

Ejemplo 3

10 Se prepara una crema antimicrobiana por las técnicas usuales mezclando sucesivamente las fases que contienen los componentes indicados a continuación, mezclándose las fases A y B en caliente (65-70°C), añadiéndose a continuación la fase C a 50°C mezclando cuidadosamente, y posteriormente la fase D.

	Fase A	
	Emulsionante no iónico (Montanov 68)	4.00
15	Alcohol miristílico	2.00
	Alcohol estearílico	0.50
	Cetiol RLF®	3.00
	Estearato de glicerilo	3.00
	Aceite de girasol oleico	4.00
20	Fase B	
	Agua desmineralizada	67.90
	Carbopol Ultrez 21®	0.45
	Propanodiol	2.00
	Fase C	
25	Glicerina	2.00
	Shield Bact Peptide® (solución al 0.1%)	6.00
	Fase D	
	Sosa (solución acuosa al 32%)	0.05
	Agua desmineralizada	5.00
30	Ácido hialurónico (PrimalHyal 300®)	0.10

El pH de la composición se ajusta a 6.5 por adición de sosa al 32%.

Esta crema puede utilizarse en aplicación sobre las zonas de la piel a tratar, una a dos veces al día durante un periodo de tiempo que es determinado por el especialista, y que puede ir de 1 a 3 semanas según la naturaleza y la gravedad de la afección tratada.

35 Ejemplo 4

El efecto de la elección del ácido hialurónico sobre la producción de β -defensinas y la proliferación de queratinocitos se ha determinado como sigue.

	Beta-defensinas	Proliferación de queratinocitos
AH hpm	0	NS
AH pmm 1	++++	S
AH bpm 2	+	NS
AH tbpm 3	(+)	NS

En la tabla anterior, el signo "+" es representativo de la eficacia, desde muy débil (+) a muy fuerte (++++). NS significa "no significativa".

5 El ácido hialurónico (AH) utilizado es de peso molecular alto (hpm), de peso molecular medio según la invención (pmm - aproximadamente 450 kDa), de peso molecular bajo (bpm) o de peso molecular muy bajo (tbpm).

Producción de las β -defensinas:

Se han tratado cultivos de queratinocitos en confluencia durante 18 horas con un AH pmm al 0.2%, o un testigo positivo (LPS de Escherichia coli, 5 μ g/ml) o con:

- por una parte, un ácido hialurónico de peso molecular alto (AH hpm)
- 10 • por otra parte, ácidos hialurónicos de peso molecular bajo (AH de 20 kDa y AH de 10 kDa).

La liberación de HBD2 ha sido evaluada en el sobrenadante con ayuda de un kit ELISA. Los valores presentados son valores medios de los resultados.

	Testigo	LPS	AH pmm	AH bpm	AH tbpm
pg/ml	11	43	105	20	18

Proliferación de queratinocitos:

15 El día J0, se practica una lesión sobre una monocapa de queratinocitos (HaCaT) en confluencia. Las células se tratan a continuación a 37°C en 2.5% de SVF (suero de ternero fetal) sin AH (condición de referencia) o con AH de pesos moleculares crecientes (AH 50, AH 300, AH 1000).

20 La anchura entre los dos bordes de la lesión se mide en tres puntos diferentes sobre la misma fotografía para cada tratamiento los días J0 y J1. Cada experimento se realiza 5 veces de manera independiente. Los valores medios se tratan estadísticamente (análisis de varianzas de un factor seguido de un test de Dunnett (SigmaStat)).

Únicamente el AH pmm (AH 300) permite acelerar el proceso de reparación cutánea por la proliferación de los queratinocitos (HaCaT).

Estimulación de las defensas bacterianas:

Se preparan tres soluciones:

- 25 Solución A: AH pmm 0.10%
- Solución B: hexapéptido 0.05%
- Solución C: hexapéptido 0.05% + AH pmm 0.10%.

El hexapéptido utilizado es el Shield Bact Peptide® disponible en el comercio (Infinitec). El ácido hialurónico (AH pmm) tiene un peso molecular medio de 300 kDa.

30 Las proteínas de las biopsias de pieles humanas después del tratamiento (soluciones A, B, C o el medio solo) se extraen bajo agitación suave durante 2 horas en una solución que contiene 5% de ácido acético e inhibidores de proteasas (0.02 mM PMSF, 2 ng/ml pepstatina y 2 ng/ml de leupeptina).

Las proteínas solubles del sobrenadante se secan a vacío y se homogeneizan en una solución que contiene 0.01% de ácido acético.

104 bacterias/ml de E. coli (ATCC 4157) se incuban en medio de crecimiento logarítmico en un tampón de fosfato (pH 7.4) y un volumen final de 100 µl.

5 Esta suspensión de E. coli se mezcla con 30 µg de extractos proteínicos y con 10 µl de solución al 0.01% de ácido acético que contiene los inhibidores de proteasas (testigo negativo) y las mezclas se incuban durante 120 minutos a 37°C.

Al final de la incubación, se toman 10 µl y se siembran diluciones al 1/10 y 1/100 por triplicado en cajas de Petri que contienen caldo caseína-soja y se incuban durante una noche a 37°C.

Después de la siembra en caja de Petri e incubación durante una noche a 37°C, se determina el número de UFC para cada muestra.

10 La tabla de los resultados siguiente muestra que la asociación de hexapéptido antimicrobiano acoplado al ácido palmítico con el ácido hialurónico de peso molecular medio según la invención (Solución C), demuestra ser la más eficaz, siendo el porcentaje de inhibición de la formación de UFC 100%.

	Testigo	Sol. A	Sol. B	Sol. C
% inhibición	40	55	77	100

Ejemplo 5

15 Se han efectuado dos estudios clínicos sobre perros de razas diferentes y se ha efectuado un estudio clínico sobre pacientes en dermatología humana.

Primer estudio en el perro:

Cinco perros de razas diferentes con edades de 3 a 10 años que presentan una blefaro-conjuntivitis infecciosa de ambos ojos se han tratado con soluciones preparadas como sigue.

20 - Solución A: se ha aplicado en el ojo derecho una solución micelar que contiene 0.10% de AH pmm y 0.03% de hexapéptido según la invención

- Solución B: se ha aplicado en el ojo izquierdo una solución que contiene 0.03% de hexapéptido.

El peso molecular medio del ácido hialurónico de la composición es 450 kDa, y el hexapéptido es el Shield Bact Peptide (Infinitec).

Se ha seguido la evolución clínica al cabo de 4, 8, 12, 24 y 48 h. Los resultados se consignan en la Tabla siguiente.

Evolución	Perro	Ojo derecho	Ojo izquierdo
4H	1	+	+
8H	2	++	+(+)
12H	3	+++	++
24H	4	+++	++
48H	5	++++	+++

25 Los resultados demuestran una mejora más rápida de la sintomatología infecciosa con la solución A según la invención que se expresa a partir de la 8ª hora y se confirma a las 12 y las 24 horas.

Segundo estudio en el perro:

30 Caso Nº 1: Perro Airedale terrier (10 años) que presenta una querato-conjuntivitis seca que evoluciona desde hace varios años y tratada sin éxito con ciclosporina. El ojo está seco, con una conjuntivitis sobreinfectada y reducción de la hendidura palpebral. La aplicación de la loción A anterior una vez al día durante 8 días da como resultado una mejora espectacular (ojo limpio, abierto, con desaparición del dolor).

35 Caso Nº 2: Perro Faldero maltés (15 años) que presenta una ulceración corneal grave como consecuencia de una anestesia de larga duración, sin mejora por los tratamientos usuales. El ojo está seco, la ulceración es profunda y el dolor es agudo. La utilización de la loción A según la invención 2 veces al día durante 8 días da como resultado la cicatrización y la desaparición del dolor.

Caso Nº 3: Perro Boxer West (7 años) que presenta una úlcera de la córnea con tejido de granulación de 8 mm. La curación se obtiene utilizando la loción A 2 veces al día durante 8 días.

Caso N° 4: Perro Tzu Bans que presenta una querato-conjuntivitis seca con ulceración corneal y dolores. Un tratamiento usual durante 3 semanas no produce efecto alguno. La utilización de la loción A según la invención 2 veces al día durante 8 días da como resultado una disminución sensible de los dolores sin modificación neta de la ulceración. El paso a la ciclosporina implica una mejora clínica de la ulceración en 8 días.

- 5 Caso N° 5: Gatito que presenta una coriza grave complicada con una perforación del globo ocular. Una antibioterapia no aporta mejora alguna. Fracaso de una oclusión parpebral terapéutica. La loción A según la invención se utiliza luego 3 veces al día y se traduce en una mejora rápida.

Estudio en el hombre:

- 10 La dermatitis atópica se caracteriza por una sensibilidad particular frente al estafilococo dorado. Su papel se subraya durante accesos eccematosos y el control de su proliferación en la superficie de la piel es indispensable para mejorar la sintomatología.

Cuatro pacientes adultos, 2 hombres y 2 mujeres, de edades comprendidas entre 18 y 31 años, que presentan un acceso eccematoso sobreinfectado que está radicado al nivel de los grandes pliegues (pliegues del codo, huecos poplíteos), se han tratado con dos emulsiones fluidas.

- 15 - emulsión A que comprende el hexapéptido solo al 0.05%, aplicada en el lado derecho;
 - emulsión B que comprende el hexapéptido (0.05%) y el AH pmm (0.20%) aplicada en el lado izquierdo.

El peso molecular medio del ácido hialurónico es de 300 kDa. El hexapéptido es el Shield Bact Peptide (Infinitec).

Los criterios Prurito, Supuración y Sobreinfección han sido evaluados de 0 a 4 a fin de definir un registro de evolución.

SÍNTOMAS	T0		T12		T24		T48		RESULTADOS
	A	B	A	B	A	B	A	B	
PRURITO	4	4	3	2	2	1	2	1	B>A
SUPURACIÓN	4	4	2	1	1	0	(1)	0	B>A
SOBREINFECCIÓN	4	4	2	1	1	0	0	0	B>A

- 20 Estos resultados demuestran que las dos cremas resultan eficaces, pero que la crema B tiene una acción más rápida sobre la sintomatología que se manifiesta a partir de la hora 12^a.

La sobreinfección está controlada al cabo de 24 horas.

La mejora global es más clara con la crema B según la invención.

REIVINDICACIONES

1. Composición dermatológica antimicrobiana tópica para utilización en medicina humana y veterinaria, que comprende en asociación al menos un péptido antimicrobiano catiónico acoplado a un lípido, y ácido hialurónico de peso molecular comprendido entre 100 kDa y 800 kDa, o una de sus sales, el péptido antimicrobiano siendo un hexapéptido acoplado al ácido palmítico que comprende puentes disulfuro.
- 5 2. Composición dermatológica según la reivindicación 1, caracterizada por que el ácido hialurónico tiene un peso molecular comprendido entre 200 kDa y 600 kDa.
3. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que el ácido hialurónico es ácido hialurónico hidrolizado.
- 10 4. Composición según la reivindicación 1 o 2, caracterizada por que la sal de ácido hialurónico se selecciona entre las sales de metales alcalinos y alcalinotérreos.
5. Composición según la reivindicación 4, caracterizada por que la sal de ácido hialurónico es el hialuronato de sodio, de potasio, de calcio o de magnesio.
6. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que el péptido antimicrobiano está acoplado a un lípido por enlace covalente.
- 15 7. Composición según la reivindicación 6, caracterizada por que el péptido antimicrobiano está acoplado por enlace covalente a un ácido graso de 6 a 22 átomos de carbono.
8. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que comprende además quitina o quitosano.
- 20 9. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que comprende entre 0.005 y 2% en peso de ácido hialurónico, y entre 0.001 y 1% en peso de péptido antimicrobiano catiónico, con relación al peso total de la composición.
10. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que se presenta en forma para aplicación tópica externa.
- 25 11. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que comprende además uno o varios principios activos secundarios seleccionados entre un agente cicatrizante, un antiinflamatorio, un antiinfeccioso y una vitamina tal como la vitamina A o E.