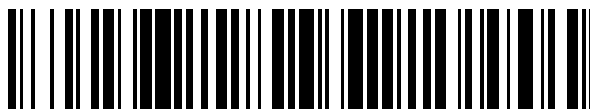


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 747 978**

51 Int. Cl.:

A61K 9/127	(2006.01) A61Q 19/02	(2006.01)
A61K 8/14	(2006.01) A61Q 19/04	(2006.01)
A61K 8/73	(2006.01) A61Q 19/08	(2006.01)
A61K 47/42	(2007.01) A61K 31/728	(2006.01)
A61K 47/36	(2006.01) A61K 38/39	(2006.01)
A61Q 19/00	(2006.01)	
A61K 8/65	(2006.01)	
C07K 14/78	(2006.01)	
C08B 37/08	(2006.01)	
A61K 9/00	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.10.2006 E 15196838 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.08.2019 EP 3015101**

54 Título: **Liposomas no fosfolipídicos que comprenden ácido hialurónico**

30 Prioridad:

03.10.2005 US 723043 P
25.07.2006 US 833045 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
12.03.2020

73 Titular/es:

PINSKY, MARK A. (100.0%)
927 45th Street Suite 201
West Palm Beach FL 33407, US

72 Inventor/es:

PINSKY, MARK A.

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 747 978 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

Liposomas no fosfolipídicos que comprenden ácido hialurónico

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

- 5 Esta solicitud reivindica el beneficio de las solicitudes de patente provisionales con nº de serie 60/723.043, presentada el 3 de Octubre de 2005; y nº de serie 60/833.045, presentada el 25 de Julio de 2006.

Antecedentes de la invención

- 10 La piel es el órgano más grande en el cuerpo humano y consiste esencialmente de dos capas principales – la epidermis y la dermis. La epidermis es la capa más externa y, entre otras cosas, controla la pérdida de agua de las células y el tejido. La dermis es la capa por debajo de la epidermis y contiene los vasos sanguíneos, los vasos linfáticos, los folículos pilosos y las glándulas sudoríparas. Por debajo de la dermis está la hipodermis. Aunque la hipodermis se considera que es parte del sistema integumentario, no se considera generalmente que sea una capa de la piel. La hipodermis se usa principalmente para el almacenamiento de grasa.

- 15 La epidermis más externa está constituida por epitelio escamoso estratificado con una membrana basal subyacente. No contiene vasos sanguíneos, y se nutre por difusión desde la dermis. El tipo principal de células que constituyen la epidermis son queratinocitos, con melanocitos y células de Langerhans también presentes. La epidermis puede subdividirse además en los siguientes *estratos* (comenzando con la capa más externa): córneo, lúcido, granuloso, espinoso, basal. Las células se forman a través de mitosis en las capas más internas. Se mueven hacia arriba de los estratos cambiando la forma y la composición mientras se diferencian y se llenan con queratina. Eventualmente alcanzan la capa córnea y se exfolian. Este proceso se denomina queratinización y tiene lugar en aproximadamente 20 30 días.

- La dermis se compone en gran medida de la proteína colágeno, que forma una red de fibras reticuladas que proporcionan una estructura para los vasos sanguíneos y el crecimiento celular. Porque es el principal componente de la dermis, el colágeno actúa como la estructura de soporte para la piel. La salud y estabilidad del colágeno es un factor crítico en la determinación del contorno, las arrugas y las líneas en la piel.

- 25 El ácido hialurónico (HA) es una sustancia natural encontrada en todos los organismos vivos en los tejidos conectivos laxos, el humor vítreo del ojo, algunos cartílagos y fluidos sinoviales, y tejido dérmico. En el tejido dérmico, el ácido hialurónico es una sustancia parecida a la gelatina que llena el espacio entre el colágeno y las fibras de elastina. Su papel es proporcionar un mecanismo de transporte de los nutrientes esenciales desde la corriente sanguínea a las células dérmicas vivas, hidratar la piel manteniendo el agua, y actuar como un agente de amortiguación y lubricación 30 frente al daño mecánico y químico. Con el tiempo sin embargo, debido al envejecimiento y otros factores externos, el suministro natural del cuerpo de ácido hialurónico se absorbe lentamente y desaparece gradualmente.

- Hay de 7 a 8 gramos de ácido hialurónico en los adultos, el 50% del cual (3,5-4,0 g) se encuentra en la piel. Se distribuye a aproximadamente 0,5 mg/g en la dermis y aproximadamente 0,1 mg/g en la epidermis. No es específico por especies u órganos y se cree que no tiene riesgo de promover alergia o provocar una reacción a cuerpo extraño.

- 35 La administración de ácido hialurónico puede usarse para ayudar a hidratar la piel, suavizar las arrugas, y generalmente mejorar la apariencia de la piel. La efectividad de dicha administración está limitada por la ruptura relativamente rápida de este compuesto provocada por enzimas que existen de forma natural en el cuerpo. En años recientes, se han hecho esfuerzos para crear composiciones de ácido hialurónico más duraderas. Específicamente, se han desarrollado actualmente los compuestos de ácido hialurónico reticulado que aumentan significativamente la vida media del HA en el cuerpo. Estas composiciones, que han reducido la solubilidad en agua, se inyectan para el 40 tratamiento cosmético. Estas inyecciones son similares a las inyecciones de colágeno y, aparte de no ser alérgicas, tienen las mismas limitaciones e inconvenientes. Estas limitaciones e inconvenientes se tratan en más detalle a continuación.

- 45 El colágeno, una proteína fibrosa que se da de forma natural tanto en humanos como en animales, proporciona soporte estructural para huesos, tendones, ligamentos y vasos sanguíneos, además de su papel en la piel. El colágeno es la proteína más abundante en el cuerpo.

- Hay varios tipos principales de colágeno, que dan lugar a la variedad de propiedades estructurales y funcionales que muestra el colágeno a lo largo del cuerpo. Con la edad o lesiones, el colágeno en una persona empieza a debilitarse y perder su elasticidad. En la piel, este proceso eventualmente da por resultado la aparición de arrugas.

- 50 La unidad estructural básica de una fibra de colágeno es el tropocolágeno. Consiste en una triple hélice de tres cadenas peptídicas entrelazadas de aproximadamente 1000 residuos de aminoácido. La unidad polipeptídica básica de la cadena peptídica es una secuencia de repetición de 3 aminoácidos, donde cada tres residuos es una glicina, y los otros dos alternan entre prolina e hidroxiprolina. Es importante para la característica estabilizante de la fibra de colágeno que el residuo de glicina esté cada tres residuos porque su pequeña cadena lateral permite el enrollado 55 apretado de las tres hélices, proporcionando una fuerte estructura estabilizante.

En la piel joven, el colágeno permanece intacto y elástico, sin embargo, cuando la piel envejece, la estructura de soporte se debilita, la piel pierde elasticidad y el soporte de colágeno se desgasta por el estrés acumulativo de, por ejemplo, las expresiones faciales. Esto provoca que aparezcan líneas y arrugas en la piel.

- 5 La terapia de sustitución de colágeno puede usarse para tratar procesos asociados con la ruptura o pérdida de colágeno. Por ejemplo, las arrugas de la piel pueden tratarse inyectando colágeno altamente purificado en la dermis. La inyección de colágeno también se ha usado para suavizar el tejido cicatricial y crear labios más llenos.

- 10 Las terapias de sustitución de colágeno actuales incluyen inyecciones de colágeno en que se usa colágeno animal purificado para sustituir el tejido perdido. Zyderm® y Zyplast® son implantes de colágeno bovino que se inyectan en la dermis. Ahí se incorporan en la estructura de colágeno humano y reponen el colágeno natural de la piel restaurando por consiguiente la estructura de soporte y el contorno de la piel. Esta terapia por inyección aumenta y mejora la apariencia natural de la piel alisa las líneas faciales y las cicatrices.

- 15 Los procedimientos que implican inyectar colágeno no están libres de riesgo. Por ejemplo, las inyecciones de colágeno bovino pueden provocar reacciones alérgicas tales como enrojecimiento, hinchado, firmeza, picor y, en raros ejemplos, formación de abscesos. Peor, algunos médicos han informado de la aparición de enfermedades del tejido conectivo tales como artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, dermatomiositis (DM), y polimiositis (PM) posterior a las inyecciones de colágeno en pacientes sin historial previo de estos trastornos.

- 20 Además, el proceso de inyección en si mismo plantea ciertos desafíos. Por ejemplo, el médico que inyecta colágeno (y/o ácido hialurónico) debe controlar la profundidad, orientación y posición de la aguja en un sitio particular de inyección, mientras proporciona una fuerza hacia adentro en el émbolo que sea suficiente para forzar un caudal controlado de colágeno de alta viscosidad fuera de la aguja y en la posición exacta en la dermis que proporcionará el efecto cosmético deseado. La posición de la punta de la aguja a la profundidad apropiada en la dermis es algo difícil para el médico. Para acoplar la punta de la aguja a la profundidad de inyección apropiada, el médico puede mover la aguja hacia adentro y hacia afuera con respecto a la superficie de la piel (epidermis). Sin embargo, no hay un punto de referencia visual distinto del final del cuerpo de la jeringa, a partir del cual el médico pueda determinar fácilmente el grado al que la aguja se prolonga en la dermis. Por consiguiente, la punta de la aguja puede colocarse demasiado profunda, o demasiado superficial, para la aplicación pretendida. Debería apreciarse que la persona (médico) que inyecta el colágeno debe tener un buen, firme control de los dedos, mano y brazo y además tener una excelente coordinación ojo-mano para ser un proveedor efectivo de las inyecciones de colágeno cosmético. Estas cualidades no están siempre presentes en los individuos, y esto ha limitado la disponibilidad de la terapia de colágeno para los pacientes.

- 30 Además de la inyección, el colágeno puede distribuirse a la piel por aplicación tópica. Desafortunadamente, dicha terapia tópica de colágeno ha probado ser menos efectiva ya que las formas convencionales de colágeno no parecen penetrar en la dermis. Como se anota anteriormente, la piel se compone de múltiples capas y es extremadamente compleja en términos de su función además de su constitución química. La aplicación transdérmica (a través de la piel) de medicinas y otras sustancias plantea una amplia gama de obstáculos de formulación. La capacidad para distribuir las sustancias deseadas a una capa dentro de la piel es igualmente, si no incluso más, difícil.

Se han propuesto diversos medios para la distribución de sustancias a o dentro de la piel.

- 40 La Patente de EE.UU. núm. 5.354.564 describe productos del cuidado personal que comprenden una dispersión acuosa de partículas de silicona en donde dichas partículas tienen un modificador superficial adsorbido en la superficie de las mismas en una cantidad suficiente para alcanzar un tamaño de partícula de menos de aproximadamente 400 nanómetros (nm).

La patente de EE.UU. núm. 5.660.839 describe la incorporación de partículas huecas deformables en las composiciones cosméticas y/o dermatológicas que contienen sustancias grasas, para reducir considerablemente o eliminar la pegajosidad y/o sensación grasa atribuida a estas sustancias grasas.

- 45 La patente de EE.UU. núm. 5.667.800 describe una suspensión acuosa de nanopartículas lipoides sólidas, que comprenden al menos un lípido y preferiblemente también al menos un emulgente, para la aplicación tópica al cuerpo.

La patente de EE.UU. núm. 5.780.060 describe microcápsulas con una pared de polifenoles vegetales reticulados y composiciones que los contienen. Las microcápsulas se obtienen mediante el reticulado interfacial de polifenoles vegetales, particularmente flavonoides.

- 50 Las patentes de EE.UU. núms. 5.851.517 y 5.945.095 describen composiciones que incluyen una dispersión de partículas poliméricas en un medio no acuoso. Una dispersión de partículas poliméricas estabilizadas en la superficie puede usarse en un medio no acuoso, en una composición cosmética, de higiene o farmacéutica. Las dispersiones pueden estar, en particular, en forma de nano-partículas de polímeros en dispersión estable en un medio no acuoso.

- 55 Las patentes de EE.UU. núms. 5.759.526 y 5.919.487 describen nanopartículas recubiertas con una fase laminar con base de tensioactivo de silicona y composiciones que las contienen. Las nanopartículas, y en particular las nanocápsulas, provistas con un recubrimiento laminar obtenido a partir de un tensioactivo de silicona, pueden usarse

en una composición, en particular una composición tópica, para el tratamiento de la piel, mucosas, uñas, cuero cabelludo y/o pelo.

La patente de EE.UU. núm. 5.188.837 describe un sistema de microsuspensión y un método para su preparación. La microsuspensión contiene lipoesferas que son micropartículas insolubles en agua, sólidas, que tienen una capa de un fosfolípido incrustado en su superficie. El núcleo de la lipoesfera es una sustancia sólida que se va a distribuir o una sustancia que se va a distribuir que está dispersa en un vehículo sólido inerte tal como una cera.

La patente de EE.UU. núm. 4.919.841 describe un proceso para preparar partículas activas encapsuladas mediante las etapas de: dispersar materiales activos en cera fundida; emulsionar la dispersión de material activo/cera en una disolución tensioactiva acuosa durante no más de 4 minutos; desactivar las cápsulas por enfriamiento; y recuperar las cápsulas solidificadas. Ejemplos de materiales activos son las fragancias.

El documento EP0780115A1 se refiere a nanopartículas provistas de un revestimiento laminar obtenido a partir de un tensioactivo de silicona, y a su uso en una composición para tratar la piel, mucosas, uñas, cuero cabelludo y/o pelo.

El documento WO00/18371 se refiere a una mezcla de un agente de formulación farmacéutica en liposomas, agua, vesículas multilaminares, que comprende un agente farmacéutico de naturaleza proteica, agua, un laurilsulfato de un metal alcalino en una concentración de 1 a 10 p/p%, al menos un compuesto anfifílico que imita a la membrana y al menos un fosfolípido.

Cada uno de estos métodos tiene desventajas, particularmente con respecto a la distribución de colágeno y/o ácido hialurónico.

Los liposomas son estructuras de membrana lipídica vesicular que encierran, por ejemplo, un volumen de agua. La existencia de liposomas se ha conocido durante muchos años. Al principio del siglo XX, los investigadores, estudiando la lecitina (fosfatidilcolina) aislada, cefalina (fosfatidiletanolamina/fosfatidilserina), frenosina (galactosil-ceramida) y la queratina (glucosil-ceramida), encontraron que todas estas moléculas podían hincharse en agua para formar capas multilaminares hidratadas, que consisten en bicapas lipídicas separadas por agua. Además, se encontró que las mezclas de lípidos iónicos y no iónicos dispersos en agua formaban "emulsiones" estables en que las moléculas de lípido tomaban posiciones unas al lado de las otras para formar una fase mixta homogénea. Estas emulsiones eran los equivalentes a lo que actualmente se llaman liposomas multilaminares.

Los estudios físicos y químicos han mostrado que los anfífilos forman ciertas disposiciones preferidas en presencia de agua. La formación de estas disposiciones, que incluyen micelas, monocapas y capas bimoleculares, se conduce por la necesidad para los grupos con cabeza polar, que pueden ser ionogénicos o no, de asociarse con agua y la necesidad de la cola hidrófoba, apolar, de excluirse del agua. Que tipo de estructura se asume exactamente depende de la naturaleza del anfífilo, su concentración, la presencia de otros anfífilos, la temperatura, y la presencia de sal y otros solutos en la fase acuosa.

Hasta hace poco, la tecnología de los liposomas se había preocupado principalmente por las vesículas compuestas de fosfolípidos, predominantemente fosfatidilcolina, y estas continúan siendo el foco de la mayoría de publicaciones y patentes. Sin embargo, aunque los fosfolípidos son adecuados para ciertas aplicaciones farmacéuticas, la tecnología de los liposomas fosfolipídicos ha estado rodeada de serios problemas, por ejemplo, los fosfolípidos se cambian rápidamente *in vivo* y son inestables en almacenamiento. Además, los lábiles y caros de purificar o sintetizar, y la fabricación de liposomas de fosfolípidos es difícil y costoso de ampliar.

Aunque los liposomas se conocen bien en la técnica, no hay informes previos de su uso para distribuir eficientemente colágeno y/o ácido hialurónico en una formulación del cuidado de la piel.

Breve compendio de la invención

La presente invención se refiere a nuevas y ventajosas composiciones para el cuidado de la piel que proporcionan vesículas lipídicas (liposomas) que incorporan ácido hialurónico reticulado. En una realización más preferida, las composiciones de la presente invención también comprenden vesículas que contienen colágeno. Las composiciones también pueden contener agentes para el cuidado de piel adicionales. En particular, la invención se refiere a liposomas paucilaminares no fosfolipídicos que comprenden una cavidad que tiene encapsulado en la misma ácido hialurónico, en donde dicho liposoma tiene un tamaño aproximado de 50 a 950 nm, en donde el ácido hialurónico está reticulado.

La presente invención se refiere además a métodos para usar tales vesículas lipídicas para suministrar ácido hialurónico, colágeno y otros ingredientes activos a un paciente para lograr un mejor cuidado de la piel.

El ácido hialurónico es un azúcar que se da de forma natural que existe en todos los organismos vivos y es un componente universal de los espacios extra-celulares de los tejidos corporales. Funciona manteniendo juntos el colágeno y la elastina, proporcionando así una estructura para la piel. Cuando se aplica a la piel según la invención, preferiblemente en forma de gel reticulado, el ácido hialurónico actúa como un relleno dérmico uniéndose al agua y proporcionando volumen para rellenar fácilmente las líneas faciales y provocar el esponjado visible de la piel. Cuando se usa según la invención el ácido hialurónico actúa como un agente hidratante eficiente.

En una realización, la presente invención proporciona una composición del cuidado de la piel con ácido hialurónico reticulado que comprende además una cantidad segura y efectiva de colágeno, en donde la formulación facilita los ingredientes activos que pasan a través de la epidermis y por consiguiente se liberan en la dermis de la piel. En una realización adicional, el colágeno humano y/o HA reticulado pueden suministrarse a la epidermis también. Por consiguiente, la presente invención es útil en la regulación y/o mejora de la condición de la piel (incluyendo la apariencia y/o tacto de la piel) distribuyendo eficientemente colágeno a la posición apropiada en la piel.

Además, el uso de colágeno humano (por ejemplo, colágeno humano recombinante o colágeno humano aislado del tejido humano o fibroblastos humanos cultivados), o un fragmento del mismo, es ventajoso para evitar efectos secundarios indeseados tales como reacciones alérgicas o autoinmunes. De forma ventajosa, el ácido hialurónico no presenta un riesgo significativo de una reacción alérgica.

La presente invención también se refiere a métodos de uso de dichas composiciones para regular y/o mejorar la condición de la piel. Los métodos de la invención generalmente incluyen la etapa de aplicar tópicamente las composiciones a la piel (epidermis) del paciente que necesita dicho tratamiento, donde se aplica una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha composición.

De forma ventajosa, la presente invención proporciona composiciones y métodos para combatir el envejecimiento de la piel, en donde combatir el envejecimiento de la piel puede incluir, por ejemplo, hidratación de la piel, tratamiento de la aparición de arrugas, líneas finas y otras formas de textura indeseable de la piel. Presentando colágeno y/o ácido hialurónico en la(s) capa(s) dérmica y/o epidérmica de la piel, se mejora la forma, resistencia, además de la función de la piel.

En ciertas realizaciones, las composiciones de la invención comprenden una dispersión de vesículas lipídicas que contienen agentes, además de ácido hialurónico y colágeno, que son útiles en el retraso, minimizado o eliminación del envejecimiento dérmico, arrugado y/u otros cambios histológicos asociados típicamente con las condiciones intrínsecas (tales como envejecimiento, menopausia, acné, etc.) y condiciones extrínsecas (tales como polución ambiental, viento, calor, baja humedad, tensioactivos fuertes, etc.).

En una realización ejemplar de la invención vesículas lipídicas paucilaminares no fosfolipídicas que incorporan colágeno humano y ácido hialurónico se usan para distribuir colágeno a la piel de un sujeto humano. Las vesículas lipídicas paucilaminares no fosfolipídicas son particularmente ventajosas para usar en la invención ya que las vesículas son estables y baratas de fabricar, y además presentan una gran cavidad para contener colágeno. También se describen en esta memoria, ciclodextrinas que se usan para suministrar los agentes activos a la capa de la dermis de la piel.

Descripción detallada

La presente invención está dirigida a materiales y métodos para la administración tópica de una cantidad terapéuticamente eficaz de ácido hialurónico a una capa específica en la piel para mejorar la condición de la piel. Por consiguiente, en una realización preferida, la presente invención proporciona composiciones y métodos para usar tales composiciones, que comprenden una dispersión de vesículas lipídicas que contienen al menos ácido hialurónico y opcionalmente colágeno (y, opcionalmente, otros agentes para el cuidado de la piel), en donde las vesículas lipídicas facilitan la penetración a través de la epidermis y la dispersión de los contenidos de la vesícula, en la capa de la dermis de la piel.

La mejora de la condición de la piel se desea a menudo debido a las condiciones que pueden estar inducidas o provocadas por factores internos y/o externos al cuerpo. Los ejemplos incluyen, aunque no están limitados a, daño ambiental, humo de cigarros, exposición a la radiación (que incluye radiación ultravioleta), envejecimiento cronológico, estado de menopausia (por ejemplo, cambios post-menopáusicos en la piel), estrés, enfermedades, etc.

La presente invención es útil para mejorar terapéuticamente y/o profilácticamente las características visibles y/o táctiles en la piel. Por ejemplo, en una realización, se disminuye la longitud, profundidad y/u otra dimensión de las líneas y/o arrugas y se consigue la hidratación.

“Mejorar la condición de la piel” incluye prevenir profilácticamente o tratar terapéuticamente una condición de la piel, y puede implicar uno o más de los siguientes beneficios: espesamiento de la piel, prevención de la pérdida de elasticidad dérmica y una reducción en las líneas o arrugas.

A continuación hay definiciones adicionales relevantes para la invención. Debería apreciarse que las siguientes definiciones se usan en toda esta solicitud. A menos que se defina otra cosa, todos los términos técnicos usados en esta memoria tienen el mismo significado que se entiende normalmente por un experto en la técnica a la que pertenece esta invención.

El término “epidermis” o “epidérmico” como se usa en esta memoria, se refiere a la capa más externa de la piel.

El término “aplicación tópica”, como se usa en esta memoria, significa aplicar o extender las composiciones de la presente invención en la superficie del tejido epidérmico.

El término “dermatológicamente aceptable”, como se usa en esta memoria, significa que las composiciones o componentes de las mismas así descritas son adecuadas para usar en contacto con tejido epidérmico de mamífero sin toxicidad indebida, incompatibilidad, inestabilidad, respuesta alérgica y similares.

5 El término “cantidad terapéuticamente efectiva”, como se usa en esta memoria, se refiere a una cantidad de un compuesto (tal como colágeno) o una composición suficiente para inducir un beneficio positivo, preferiblemente una apariencia y/o tacto de la piel positiva. De acuerdo con la invención, la cantidad terapéuticamente efectiva es una cantidad de colágeno, o bien solo o en combinación con otros agentes, que regula y/o mejora la piel, pero donde la cantidad es lo suficientemente baja para evitar los efectos secundarios serios, es decir, para proporcionar una relación beneficio a riesgo razonable, dentro del alcance del buen criterio del experto.

10 El término “descolgado” como se usa en esta memoria significa la laxitud, flojedad o condición similar de la piel que se da como resultado de la pérdida de, daño a, alteraciones de, y/o anomalías en la estructura y/o función dérmica.

Los términos “tersura” y “suavidad”, como se usan en esta memoria, se refieren a la alteración de la superficie del tejido epidérmico de manera que se mejora su sensación táctil.

15 “Signos del envejecimiento de la piel” incluyen, aunque no están limitados a, todas las manifestaciones visiblemente y táctilmente perceptibles externas además de cualquier otro macro o micro efecto debido al envejecimiento de la piel. Dichos signos pueden estar inducidos o provocados por factores intrínsecos o factores extrínsecos, por ejemplo, envejecimiento cronológico y/o daño ambiental. Estos signos pueden resultar de procesos que incluyen, aunque no están limitados a, el desarrollo de discontinuidades de textura tales como arrugas y arrugas profundas ásperas, líneas de la piel, grietas, bultos, poros grandes (por ejemplo, asociados con estructuras anexas tales como conductos de las glándulas sudoríparas, glándulas sebáceas o folículos pilosos), o aspereza o rugosidad, pérdida de elasticidad de la piel, descolgado (que incluye hinchazón en el área de los ojos y las mejillas), pérdida de firmeza de la piel, pérdida de la tensión de la piel, pérdida de retracción de la piel a partir de la deformación, decoloración (que incluye círculos bajo los ojos), erupciones, piel cetrina, regiones de la piel hiper-pigmentadas tales como manchas por la edad y pecas, queratosis, diferenciación anormal, hiper-queratinización, elastosis, ruptura del colágeno y otros cambios histológicos

20 en el estrato córneo, dermis, epidermis, el sistema vascular de la piel (por ejemplo, telangiectasia o arañas vasculares), y tejidos subyacentes, especialmente los próximos a la piel.

25

Como se usa en esta memoria, “mezcla de cizalla” significa la mezcla de una fase lipófila con una fase acuosa bajo condiciones turbulentas o de cizalla que proporcionan la mezcla adecuada para hidratar el lípido y formar vesículas lipídicas.

30 Mediante los términos “disperso” y “dispersión” se entiende disolución o formación de una suspensión o coloide para dar una fase fluida.

Como se usa en esta memoria, un “ácido nucleico” o una “molécula de ácido nucleico” significa una cadena de dos o más nucleótidos tales como ARN (ácido ribonucleico) y ADN (ácido desoxirribonucleico). Una molécula de ácido nucleico “recombinante” es una hecha mediante una combinación artificial de dos segmentos de secuencia separados de otro modo, por ejemplo, mediante síntesis química o mediante la manipulación de segmentos aislados de ácidos nucleicos mediante técnicas de ingeniería genética.

35

Los términos “proteína” y “polipéptido” se usan de la misma forma para indicar cualquier cadena de aminoácidos unida por péptidos, a pesar de la longitud o modificación post-traducciona, por ejemplo, glicosilación o fosforilación. Un polipéptido “purificado” es uno que se ha separado o aislado sustancialmente de otros polipéptidos en una célula u organismo en que se da el polipéptido de forma natural (por ejemplo, 90, 95, 98, 99, 100% libre de contaminantes).

40

Cuando se refiere a un ácido nucleico o polipéptido, el término “nativo” se refiere a un ácido nucleico o polipéptido que se da de forma natural.

Las composiciones de la presente invención que permiten la dispersión en la capa dérmica de colágeno, son útiles para mejorar la piel, incluyendo mejorar la apariencia y/o tacto de la piel. Por ejemplo, las composiciones de la presente invención son útiles para mejorar la apariencia de la condición de la piel proporcionando una mejora visual en la apariencia de la piel después de la aplicación de la composición a la piel.

45

De forma ventajosa, las composiciones de la presente invención pueden tener propiedades deseables adicionales, que incluyen estabilidad, larga vida de almacenamiento, ausencia de irritación significativa de la piel y buena estética. En ciertas realizaciones, para conseguir dichos beneficios adicionales, las composiciones de la invención comprenden además agentes, además del colágeno, que promueven la estabilidad de la composición, reducen la irritación de la piel y/o mejoran la apariencia estética de la composición.

50

Ejemplos de buenos estéticos incluyen composiciones, tales como cremas y lociones lujosas, que (i) son ligeras y no grasas, (ii) tienen un tacto terso, sedoso sobre la piel, (iii) se extienden fácilmente y/o (iv) absorben rápidamente. Otros ejemplos de buenos estéticos incluyen composiciones que tienen una apariencia aceptable para el consumidor (es decir, sin olor desagradable o decoloración presente), y proporcionan buen tacto a la piel.

55

Aunque se pueden usar métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en esta memoria para poner en práctica o probar la presente invención, a continuación se describen métodos y materiales adecuados.

Ácido hialurónico

5 El ácido hialurónico (HA) está presente en toda la naturaleza y es una combinación de unidades de disacáridos repetidas de ácido glucurónico y N-acetil-glucosamina. Es poli-iónico y tiene una parte hidrófoba axial y una parte hidrófila central. El ácido hialurónico es muy sensible a las hialuronidasas y, por lo tanto, tiene una corta vida media en el cuerpo. Para convertirlo en un producto de relleno de arrugas que tenga suficiente sostenibilidad en el tiempo puede reticularse.

10 Numerosas sustancias pueden usarse para reticular el ácido hialurónico incluyendo formaldehído, epóxidos, compuestos de poliaziridilo, divinilsulfona y otros. Un agente de reticulado es divinilsulfona. Esta sustancia reacciona fácilmente con el ácido hialurónico en disoluciones alcalinas acuosas, proporcionando de este modo geles de HA reticulados. Estos geles se hinchan en agua. La relación de hinchado depende del grado de reticulado del gel. El grado de reticulado puede controlarse cambiando varios factores que incluyen el peso molecular del HA, su concentración en la mezcla de reacción, la concentración alcalina y la relación de polímero/DVS. La relación de hinchado de estos geles puede ser de 20 hasta 8000, y más, dependiendo de los parámetros de reacción.

15 Un agente de reticulado incluso más preferido es 1,4-butanodiol-diglicidiléter (BDDE).

20 La relación de hinchado de los geles de HA reticulados es sustancialmente mayor que la relación de hinchado de los geles reticulados de otros polisacáridos obtenidos bajo las mismas condiciones de reacción. Esto puede explicarse probablemente por la naturaleza única del HA (cuando se compara con otros polisacáridos) y sus disoluciones en agua. En agua, una molécula grande de HA forma una espiral aleatoria larga, muy flexible, que ocupa un gran volumen en la disolución.

25 La única propiedad del HA para dar geles reticulados altamente hinchados puede usarse para efectuar la modificación de las propiedades de los geles reticulados hechos de mezclas de HA con otros polímeros hidrófilos. Estos polímeros incluyen otros polisacáridos, sintéticos y naturales, tales como hidroxietilcelulosa, carboximetilcelulosa, goma de xantano, glicosaminoglicanos, proteínas y glicoproteínas de varios tipos, tales como colágeno, elastina, albúmina, globulina, etc., proteínas sulfatadas, polímeros solubles en agua sintéticos, tales como poli(alcohol de vinilo) y sus copolímeros, copolímeros de poli-(hidroxietil)metacrilato y similares. Cualquier polímero soluble en agua o disoluciones alcalinas acuosas y que contengan grupos capaces de reaccionar con DVS, específicamente, grupos hidroxilo, amino o sulfhidrilo, pueden usarse para obtener geles mixtos reticulados altamente hinchados de HA.

30 Otro método conveniente para obtener ácido hialurónico reticulado o ácido hialurónico mixto y otros geles poliméricos comprende tratar preparados poliméricos secos, es decir, en forma de una película con un agente de reticulado y posterior hinchado del producto en el medio deseado.

En una realización, puede usarse HA lineal de menos de 500.000 Da.

35 Como se describe en esta memoria, la administración de HA puede usarse para mejorar ventajosamente la condición de la piel. Además, por su estructura molecular, el HA puede usarse para atrapar y distribuir agentes activos adicionales (fármacos). Hay varios métodos para combinar un fármaco con el gel de HA, por consiguiente, varios tipos de productos que pueden obtenerse. Uno de los métodos comprende difundir un fármaco en un gel de HA cuando el gel se pone en una disolución del fármaco. El producto obtenido mediante este método es un gel en que se dispersa uniformemente un fármaco.

40 El mismo tipo de producto puede obtenerse deshidratando un gel de ácido hialurónico e hinchándolo de nuevo en una disolución de fármaco. Para deshidratar un gel se puede usar un disolvente orgánico miscible en agua o de forma alternativa, el agua de un gel puede eliminarse mediante secado. Los disolventes preferibles son etanol e isopropanol, y las cetonas tal como acetona, aunque también pueden usarse otros disolventes.

45 Aún otro método puede usarse para obtener productos de este tipo. Este método comprende permitir que un gel de ácido hialurónico concentrado que resulta de una reacción de reticulado realizada anteriormente en una disolución relativamente concentrada de ácido hialurónico se hinche en una disolución de un fármaco.

50 Aunque estos tres métodos dan por resultado productos que son esencialmente iguales, cada uno de los métodos tiene ciertas ventajas cuando se compara con cualquiera de los demás métodos para cualquier producto específico y, por tanto, la elección del método debería hacerse con la consideración dada a dichos parámetros como la naturaleza del fármaco, la concentración deseada del fármaco en el sistema, la velocidad de distribución, etc.

55 Un sistema de distribución de fármaco de otro tipo según la presente invención es uno en que un fármaco está unido de forma covalente a macromoléculas de ácido hialurónico y/u otros polímeros que forman un gel. Estos sistemas se caracterizan por una velocidad sustancialmente más lenta de distribución que los descritos anteriormente. La distribución de un fármaco desde estos sistemas se da cuando el gel se degrada en el cuerpo vivo. El proceso de degradación es normalmente más lento que la difusión. La velocidad del proceso de degradación puede controlarse

por varios medios, que incluyen ajustar la densidad de los reticulados en el gel o co-reticulando el ácido hialurónico con polímeros que pueden degradarse en el cuerpo más fácilmente que el ácido hialurónico, por ejemplo, proteínas. Cambiando la concentración de dichos componentes poliméricos en los geles mixtos, se puede controlar convenientemente su velocidad de degradación y, por consiguiente, la velocidad de la distribución del fármaco.

- 5 Otra posibilidad de distribución de fármacos para este tipo de producto implica el uso de dichos enlaces químicos para la unión de un fármaco a moléculas poliméricas que forman un gel que tiene una velocidad controlable de hidrólisis en un medio fisiológico.

Para obtener este tipo de producto se puede usar un fármaco que puede reaccionar con un agente de reticulado. Aún otro método puede usarse para obtener este producto. Este método comprende modificar químicamente un gel reticulado después de su formación, usando los grupos hidroxilo reactivos del ácido hialurónico o los grupos reactivos de los polímeros co-reticulados con el ácido hialurónico al que un fármaco puede unirse mediante numerosas reacciones químicas. De forma alternativa, los grupos reactivos adicionales pueden introducirse por tratamiento químico de un gel reticulado que afecta a las macromoléculas de ácido hialurónico o polímeros co-reticulados y un fármaco puede unirse de forma covalente a estos grupos reactivos de nueva formación.

- 15 Los agentes activos pueden ser agentes activos cosméticos, dermatológicos y farmacéuticos. Agentes activos adecuados incluyen, aunque no están limitados a, ceramidas; vitaminas; antioxidantes; inactivadores de radicales libres; agentes humectantes; agentes anti-seborreicos; agentes anti-UV; agentes queratolíticos; agentes anti-inflamatorios; melanoreguladores; liporeguladores; agentes anti-envejecimiento; agentes antibacterianos; agentes para combatir la pérdida de cabello; protectores vasculares; agentes antifúngicos; acondicionadores de la piel; 20 inmunomoduladores; nutrientes y aceites esenciales; retinoides; anestésicos; conservantes; antisépticos; emolientes; lubricantes; humectantes; pigmentos; tintes; hidroxiácidos, tales como, alfa-hidroxiácidos, y beta-hidroxiácidos; elastina; hidrolisatos; factor de crecimiento epidérmico; saponinas de la soja; y mucopolisacáridos.

Varias formas de ácido hialurónico se han desarrollado por reticulado del ácido con otros ácidos naturales o compuestos químicos para formar geles que mejoren la condición de la piel.

- 25 En la actualidad están disponibles varios preparados comerciales. Estos incluyen Hylaform®, extraído de la cresta de gallo y comercializado por la Genzyme Company y Restylane® que se produce mediante un proceso de fermentación de bacterias usando la especie *Streptococcus equi* y se reticula con BDDE. Estas dos composiciones tienen la característica común de ser sustancias inyectables bifásicas, con partículas de ácido hialurónico reticulado en un mayor o menor grado y suspendidas en un preparado más fluido o incluso no reticulado.

- 30 Los preparados de gel monofásicos de ácido hialurónico están contenidos en otros productos tales como Juvéderm®, Hydra Fillé y Esthé'lis®. Como con el Restylane® cada uno de estos se produce con BDDE, aunque el proceso es diferente dando por resultado el gel monofásico.

- 35 En una realización, el ácido hialurónico reticulado se produce como una composición monofásica. Después de linealizar el soporte estructural del ácido hialurónico nativo, se comienza el reticulado añadiendo BDDE. El reticulado dinámico permite obtener un producto que macroscópicamente tiene una apariencia homogénea, y microscópicamente tiene una apariencia heterogénea. Esta técnica permite obtener lo que se llama una *Matriz polidensificada cohesiva*.

- 40 Puesto en presencia de 1 ml de agua durante 2 minutos, el gel permanece cohesivo, lo que no es el caso para productos bifásicos en que el componente "micropartícula" aparece inmediatamente. Este producto está disponible bajo el nombre comercial Esthé'lis®.

Las propiedades viscoelásticas del Esthé'lis® lo hacen una sustancia que se esculpe bien en el tejido, con un masaje muy suave para colocarlo correctamente. No deja una sensación de "cuerda implantada" y puede incluso decirse como que tiene un efecto de levantamiento.

- 45 El ácido hialurónico se incorpora en vesículas lipídicas para administrar ácido hialurónico a la piel de un paciente. Como se describe en esta memoria, cualquier vesícula lipídica adecuada para encapsular ácido hialurónico y para la administración a la piel de un ser humano, siempre que sea un liposoma paucilaminar no fosfolipídico.

Ventajosamente, cuando se usa según la invención, este producto puede tener un efecto hidratante en el área tratada con, por ejemplo, abolición de patas de gallo durante el tratamiento de los ojos. Los pliegues nasolabiales son las áreas tratadas en las mejillas.

- 50 Colágeno

Las composiciones de la invención pueden incluir uno o más colágenos purificados, o recombinantes, y/o derivados de colágeno, o una combinación de los mismos. Las proteínas de colágeno útiles en la invención incluyen cualquier proteína de colágeno nativa obtenida de células y tejidos animales (por ejemplo, humanos), proteínas de colágeno expresadas de forma recombinante (incluyendo fragmentos del colágeno de longitud total), y combinaciones y/o 55 formulaciones de los mismos.

Los colágenos purificados para usar en los métodos y composiciones de la invención pueden aislarse de tejidos animales o humanos; sin embargo, el uso de colágeno humano en las composiciones y métodos de la invención se prefiere cuando el sujeto a tratar es un humano para evitar una respuesta inmune al material de colágeno. El colágeno que se extrae de su material original (por ejemplo, placenta animal, hueso, piel, tendón) es típicamente una mezcla de colágeno tipo I con algo de colágeno tipo III. El material de colágeno recuperado de la placenta, por ejemplo, es parcial como tipo de colágeno y no enteramente homogéneo. Las técnicas para aislar colágeno de las placentas humanas se describen en las patentes de EE.UU. 5.002.071 y 5.428.022.

Además de emplear colágeno obtenido directamente de fuentes naturales, los métodos y composiciones de la invención pueden incluir muchos tipos diferentes de derivados de colágeno. Los derivados de colágeno pueden variar de colágenos que se dan de forma natural en varios aspectos. Los derivados de colágeno pueden no estar glicosilados o glicosilados de forma diferente que los colágenos que se dan de forma natural. Los patrones de glicosilación deseados pueden producirse por una variedad de métodos, que incluyen la modificación química directa y las reacciones de glicosilación y desglicosilación catalizadas de forma enzimática. Los patrones de glicosilación deseados pueden producirse también inhibiendo o borrando enzimas necesarias para producir los patrones de glicosilación que se dan de forma natural encontrados en los colágenos.

Los derivados de colágeno también incluyen varios fragmentos de colágenos que se dan de forma natural. Dichos fragmentos de colágeno pueden producirse, entre otros métodos, escindiendo química o enzimáticamente uno o más enlaces peptídicos. Los derivados de colágeno pueden contener también una o más diferencias de residuos de aminoácidos en comparación con las posiciones de los residuos de aminoácidos correspondientes en un colágeno que se da de forma natural. Los derivados de colágeno que contienen dichas sustituciones de residuos de aminoácidos pueden producirse por una variedad de métodos que incluyen técnicas de ingeniería genética y síntesis peptídica *in vitro*. Los derivados de colágeno adicionales pueden producirse variando la cantidad de hidroxilisinas y/o hidroxiprolinas presentes en una molécula dada, mediante la expresión variada de lisina hidroxilasas y/o prolina hidroxilasas, en donde los genes hidroxilasa (recombinantes o de otra forma) se expresan también en una célula huésped para la expresión de colágeno recombinante, o derivados del mismo.

En ciertas realizaciones preferidas de la invención, puede usarse colágeno recombinante puro (por ejemplo, tipos I o III) en oposición a los diversos tipos encontrados en los colágenos animales (por ejemplo, bovinos). Las formas puras de colágeno recombinante tienen características de rendimiento que en algunas aplicaciones se prefieren a los de mezclas de animales. Puede encontrarse una descripción de cómo producir colágenos de tipos I-III mediante tecnología de ADN recombinante, entre otros sitios, en las patentes de EE.UU. 5.405.757; 5.593.859; 6.617.431; 6.428.978; solicitudes de patente publicadas en PCT WO 93/07889 y WO94/16570, y patentes y solicitudes relacionadas. Las técnicas de producción recombinante descritas en estas referencias pueden adaptarse fácilmente para así producir muchos tipos diferentes de colágenos, humanos o de otro tipo. Porque puede obtenerse una respuesta inmune frente al material de colágeno no humano, se usan preferiblemente colágenos humanos producidos por tecnología de ADN recombinante en composiciones y métodos de la invención.

Un colágeno preferido para usar en la invención, por ejemplo, es colágeno humano recombinante expresado en y purificado a partir de fibroblastos humanos. Este material de colágeno se produce por Inamed Corporation (Santa Bárbara, CA) y se vende bajo los nombres comerciales CosmoDerm® y CosmoPlast®. Las células de fibroblastos usadas para cultivar colágeno en este método están cribadas para patógenos conocidos y el material de colágeno resultante se prueba para contaminantes. Una vez que el colágeno se aísla de las células, se somete a la inactivación vírica para aumentar la seguridad. Los métodos para expresar genes recombinantes en fibroblastos humanos se conocen bien en la técnica.

Dos materiales de colágeno adicionales que se producen usando tecnología de ADN recombinante y que pueden usarse en la invención son FG-5017 y FG-5016 (FibroGen, Sur de San Francisco, CA). FG-5017 está hecho de colágeno humano recombinante tipo III formulado por seguridad y eficacia como un gel inyectable. FG-5016 es un colágeno humano recombinante tipo III (rhCIII) desarrollado para sustituir el colágeno derivado de animales en una variedad de aplicaciones de dispositivos farmacéuticos y médicos. FG-5016 es un biomaterial altamente purificado y totalmente caracterizado, que se produce usando la metodología recombinante en un sistema de expresión de levadura libre de componentes animales. Esta metodología implica la expresión coordinada de genes que codifican el colágeno y que codifican la prolil 4-hidroxilasa que permite la formación de colágeno helicoidal triple, térmicamente estable.

Los métodos para expresar los genes recombinantes en células de levadura se conocen bien en la técnica y se describen en muchas referencias que incluyen Romanos et al., *Yeast* 8:423-488, 1992; Cohen et al., *Nature* 366: 698-701, 1993; y A. Wiseman, *Genetically Engineered Proteins and Enzymes From Yeast: Production Control*, 1991, Ellis Norwood Press, Nueva York. Los métodos para producir colágeno helicoidal triple en células de levadura se describen en la patente de EE.UU. 6.451.557. Los productos de proteína helicoidal triple producidos en las células de levadura pueden purificarse de las células mediante técnicas bien conocidas en la técnica que incluyen técnicas cromatográficas y de precipitación estándar (Véase, por ejemplo, Miller y Rhodes, *Meth Enzymol.*, 82:33-64, 1982; y R.L. Trelstad, *Native Collagen Fractionation*, en: *Immunochemistry of the Extracellular Matrix*, vol. 1, H. Furthmayr, ed., CRC Press, Boca Ratón, FL, 1982, p. 31-41).

- Independientemente de la fuente de colágeno, el colágeno y derivados de colágeno preferidos para usar en la invención son aquellos que están clasificados para ajustar en las vesículas lipídicas de la invención, por ejemplo menos de aproximadamente 800 nm. Porque las fibrillas de colágeno son de 20-150 nm de tamaño, se prefieren las fibrillas más que fibras (que son de 1000-50.000 nm). Para mantener el colágeno en forma de fibrillas, el pH y/o resistencia iónica de la disolución que contiene las fibrillas puede manipularse de forma apropiada. Existe un número de métodos para reducir el tamaño del colágeno, incluyendo una ruptura enzimática que usa una proteasa. El colágeno puede romperse también mecánicamente. Por ejemplo, el colágeno puede procesarse mecánicamente después de secar para producir partículas finas que son menores de 800 nm de tamaño. De forma adicional, puede usarse hidrólisis extensiva de una disolución que contiene colágeno para evitar la formación de fibras.
- 10 Vesículas lipídicas que contienen ácido hialurónico y opcionalmente colágeno
- La invención proporciona composiciones que incluyen vesículas lipídicas que incorporan ácido hialurónico y opcionalmente colágeno humano (y/o un fragmento del mismo) o un derivado de colágeno. Las vesículas que contienen el(los) agente(s) activo(s) son útiles para administrar el(los) agente(s) activo(s) a un sujeto. Como vesícula lipídica se usa un liposoma paucilaminar no fosfolipídico.
- 15 Las vesículas de la invención son vesículas que tienen una o más membranas bicapa lipídicas rodeando una cavidad. Las vesículas lipídicas para usar en la invención están en el intervalo de aproximadamente 50 a aproximadamente 950 nm (por ejemplo, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 950 nm) de tamaño. Los métodos para producir y usar vesículas lipídicas se conocen bien en la técnica y se describen, por ejemplo, en las patentes de EE.UU. 4.917.951 y 5.013.497; Walde P. e Ichikawa S., *Biomol Eng.*, 18:143-177, 2001; Hunter D.G. y Frisken B.J., *Biophys J.*, 74:2996-3002, 1998; y Cevc G., *Adv Drug Deliv Rev.*, 56:675-711, 2004.
- 20 El colágeno a encapsular en las vesículas lipídicas puede estar en cualquier forma adecuada, por ejemplo, un preparado de colágeno tipo I, colágeno tipo III, una mezcla de colágeno tipo I y colágeno tipo III, un derivado de colágeno o una combinación de los mismos.
- 25 El ácido hialurónico puede estar como se describe anteriormente. Las vesículas pueden contener sólo HA o una combinación de HA y colágeno. Las composiciones de la invención pueden comprender vesículas que contienen sólo un agente activo, o múltiples agentes activos.
- 30 Las vesículas lipídicas de la invención incluyen tensioactivos no fosfolipídicos. Pueden incluir además un agente productor de carga y una molécula de direccionamiento. Por consiguiente, las vesículas hechas de anfifilos "miméticos de membrana" no fosfolipídicos son usadas en la invención. Estas son moléculas que tienen un grupo de cabeza hidrófila unido a una cola hidrófoba e incluyen ácidos grasos de cadena larga, alcoholes y derivados de cadena larga, aminos y glicerolípidos de cadena larga. En las bicapas, las colas de ácido graso apuntan al interior de la membrana y los grupos de cabeza polar apuntan hacia afuera. Los grupos polares en una superficie de la membrana apuntan hacia el interior de la vesícula y los de la otra superficie apuntan hacia el medio externo. Mientras una vesícula se forma durante su fabricación, cualquier molécula soluble en agua que se ha añadido al agua se incorpora en los espacios acuosos en el interior de las esferas, mientras que cualquier molécula soluble en lípidos añadida durante la formación de la vesícula se incorpora en el núcleo de las vesículas.
- 35 Las vesículas paucilaminares que pueden formarse a partir de muchos anfifilos de una cola, bio-compatibles, se usan en la invención. Dichas vesículas lipídicas paucilaminares incluyen vesículas no fosfolipídicas que tienen una o varias membranas bicapa lipídicas rodeando un gran núcleo amorfo en que está encapsulada una entidad química de interés (es decir, HA y opcionalmente colágeno).
- 40 Las vesículas lipídicas paucilaminares no fosfolipídicas se venden bajo el nombre comercial Novasome® (IGI Inc., Buena, NJ). Existen varias formulaciones de Novasome® (por ejemplo, Novasome® A, Novasome® D, Crema de día Novasome®).
- 45 Las vesículas Novasome® son útiles para el encapsulado de ingredientes químicos para ayudar en la formulación, aumentar la distribución al sitio de acción y estabilizar los ingredientes químicos en la formulación. Estas vesículas lipídicas son generalmente de aproximadamente 200-700 nanómetros de tamaño, dependiendo de una amplia variedad de constituyentes de membrana elegidos individualmente para cada propósito particular. Su distribución de tamaño es uniforme, y la eficiencia de encapsulado puede ser de casi el 100% para la carga lipídica y el 85% para materiales acuosos. Las partículas insolubles finamente divididas (por ejemplo, compuestos farmacéuticos insolubles) también pueden encapsularse.
- 50 Las vesículas Novasome® son inherentemente estables, y pueden adaptarse para ser estables a niveles de pH que oscilan de 2-13 además de intervalos de temperatura tan bajos como nitrógeno líquido a por encima del punto de ebullición del agua. Pueden ser estables en disolventes que incluyen alcoholes, éteres, ésteres, gasolina, diesel y otros carburantes. Pueden encapsular fragancias y aromas que contienen éteres, ésteres, aldehídos, etc. volátiles y frágiles. Estas vesículas pueden liberar su carga bajo circunstancias físicas y químicas variables que incluyen calor, luz, cambios de pH, degradación enzimática, difusión transmembrana de secado, etc.
- 55

Los protocolos para producir y administrar formulaciones de Novasome® se describen, por ejemplo, en las patentes de EE.UU. 4.855.090; 4.911.928; 5.474.848; 5.628.936; 6.387.373; Holick et al., British Journal of Dermatology 149:1365-2133, 2003; Gupta et al., Vaccine 14:219-225, 1996; y Wallach DFH y Philippot J., New Type of Lipid Vesicle: Novasome™ en: Liposome Technology, 2ª ed., Gregoriadis G., CRC Press, Boca Ratón, FL, 1982, págs. 141-151; Niemiec et al., Pharmaceutical Research 12:1184-1188; 1995; y Alfieri DR, Cosmetic Dermatology 10:42-52, 1997.

En una realización, los liposomas son los usados en "Crema de día".

En ciertas realizaciones de la invención, las vesículas lipídicas (es decir, vesículas lipídicas paucilaminares no fosfolipídicas) pueden incluir también moléculas de direccionamiento, o bien hidrófilas o anfífilas, que pueden usarse para dirigir las vesículas a un objetivo particular para permitir la liberación del HA, colágeno o derivado de colágeno desde dentro de la vesícula a una posición biológica especificada. Si se usan moléculas de direccionamiento hidrófilas, pueden acoplarse directamente o por medio de un espaciador a un residuo OH de la parte de polioxietileno del tensioactivo, o pueden acoplarse, usando técnicas en la técnica, a moléculas tales como ácido palmítico, aminas de cadena larga o fosfatidiletanolamina. Si se usan espaciadores, las moléculas de direccionamiento pueden entrelazarse en el núcleo hidrófilo de la membrana bicapa por medio de las cadenas acilo de estos compuestos. Las moléculas de direccionamiento hidrófilas preferidas incluyen anticuerpos monoclonales, otras inmunoglobulinas, lectinas y hormonas peptídicas.

Además de las moléculas de direccionamiento hidrófilas, también es posible usar moléculas de direccionamiento anfífilas. Las moléculas de direccionamiento anfífilas normalmente no están acopladas químicamente a las moléculas tensioactivas sino que interactúan con las partes lipófilas o hidrófobas de las moléculas que constituyen las láminas bicapa de las vesículas lipídicas. Las moléculas de direccionamiento anfífilas preferidas son glicolípidos neutros, galactocerebrósidos (por ejemplo, para receptores galactosilo hepáticos) o glicolípidos cargados tales como gangliósidos.

En algunas realizaciones, los materiales productores de carga y los esteroides tales como colesterol o hidrocortisona o sus análogos y derivados se usan en la formación de las vesículas lipídicas (por ejemplo, vesículas lipídicas paucilaminares). Los materiales productores de carga preferidos incluyen materiales productores de carga negativa tales como dicetilfosfato, cetilsulfato, ácido fosfatídico, fosfatidil-serina, ácido oleico, ácido palmítico o mezclas de los mismos. Para proporcionar una carga positiva neta a las vesículas, pueden usarse aminas de cadena larga, por ejemplo, aminas de estearilo o aminas de oleilo, compuestos de piridinio de cadena larga, por ejemplo, cloruro de cetilpiridinio, compuestos de amonio cuaternario, o mezclas de estos. Otro ejemplo de un material productor de carga positiva es bromuro de hexadeciltrimetilamonio, un potente desinfectante.

Preparación de vesículas lipídicas

Las vesículas lipídicas usadas según la presente invención pueden ser cualesquiera de la gran variedad de vesículas lipídicas conocidas en la técnica, siempre que sean liposomas paucilaminares no fosfolipídicos como se definen en las reivindicaciones, y pueden hacerse según cualquiera de un gran número de métodos de producción. Los materiales y procedimientos para formar vesículas lipídicas se conocen bien por los expertos en la técnica. En general, los lípidos o sustancias lipófilas se disuelven en un disolvente orgánico. Cuando el disolvente se elimina, tal como al vacío por evaporación rotatoria, el residuo lipídico forma una película en la pared del recipiente. Una disolución acuosa que contiene típicamente electrolitos o materiales de agente biológicamente hidrófilo se añade entonces a la película. Se producen vesículas multilaminares grandes tras la agitación. Cuando se desean vesículas multilaminares más pequeñas, las vesículas más grandes se someten a sonicación, filtración secuencial a través de filtros con tamaño de poro decreciente o se reducen mediante otras formas de cizalladura mecánica. Las vesículas lipídicas pueden también tomar la forma de vesículas unilaminares, que se preparan mediante sonicación más extensa de vesículas multilaminares, y consisten en una única bicapa lipídica esférica rodeando una disolución acuosa. Una revisión comprensiva de todas las vesículas lipídicas mencionadas anteriormente y los métodos para su preparación se describen en "Liposome Technology", ed. G. Gregoriadis, CRC Press Inc., Boca Ratón, Fla., Vol. I, II y III (1984). Para los métodos de preparación de vesículas lipídicas, véase también las patentes de EE.UU. 4.485.054, 4.761.288, 5.013.497, 5.653.996 y 6.855.296.

Para preparar vesículas lipídicas paucilaminares no fosfolipídicas formadas de material tensioactivo no fosfolipídico y que contienen un material de HA y opcionalmente colágeno con base acuosa, puede usarse cualquier método adecuado conocido en la técnica. Los métodos de preparación de vesículas lipídicas paucilaminares no fosfolipídicas implican típicamente formar primero una fase lipófila combinando varios componentes lipófilos que incluyen material tensioactivo y después calentar y mezclar esta mezcla. Ejemplos de materiales tensioactivos adecuados incluyen aunque no están limitados a polioxietileno (2) cetiléter, polioxietileno (4) lauriléter, monoestearato de glicerilo y estearato de polioxietileno (9) glicerilo. La fase lipófila resultante se mezcla entonces con una fase acuosa que tiene un tampón acuoso y una formulación de colágeno soluble acuoso, en condiciones de mezcla de cizalladura, para formar las vesículas lipídicas paucilaminares. En este método, la temperatura de la fase lipófila se eleva para hacerla fluida seguido por la realización de la mezcla de cizalladura entre la fase lipófila y la fase acuosa a una temperatura de forma que ambas fases son líquidas. Mientras que a menudo es deseable usar la misma temperatura para ambas fases, esto no es siempre necesario. Cualquier otro método conocido por el experto puede usarse también. Los

métodos preferidos para hacer las vesículas lipídicas paucilaminares de la invención se describen en la patente de EE.UU. 4.911.928.

Para encapsular colágeno con base oleosa o formulaciones que contienen colágeno en vesículas lipídicas paucilaminares, el colágeno o formulación que contiene colágeno se dispersa en un aceite o cera formando una fase oleosa. El aceite o cera es una disolución oleosa inmiscible con agua seleccionada de un grupo que consiste en aceites, ceras, triglicéridos naturales y sintéticos, ésteres de acilo, y derivados del petróleo, y sus análogos y derivados. La fase oleosa que contiene el material dispersable en aceite se mezcla con la fase lipídica y la fase aceite-lípido combinada se mezcla bajo condiciones de mezcla con cizalladura con la fase acuosa. Los tensioactivos útiles en el proceso de encapsulado son los mismos que los usados para hacer vesículas lipídicas paucilaminares con un núcleo acuoso.

Las vesículas lipídicas paucilaminares pueden hacerse mediante una variedad de dispositivos que proporcionan cizalla suficientemente alta para cizallar la mezcla. Muchos de dichos dispositivos están disponibles en el mercado incluyendo un Microfluidizer® como el que está hecho por MicroFluidics Corp. (Newton, MA), una prensa de tipo "francesa", o algún otro dispositivo que proporcione una fuerza de cizalladura suficientemente alta y la capacidad de manejar lípidos semiviscosos calientes. Si se usa un dispositivo de muy alta cizalladura, puede ser posible microemulsionar lípidos en polvo, bajo presión, a una temperatura por debajo de sus puntos de fusión normales y formar aún las vesículas lipídicas paucilaminares que contienen colágeno de la presente invención.

Un dispositivo que es particularmente útil para hacer vesículas lipídicas paucilaminares de la presente invención se ha desarrollado por Micro Vesicular Systems, Inc., (Vineland, NJ) y se describe además en la patente de EE.UU. 4.895.452. Brevemente, este dispositivo tiene una cámara de mezcla esencialmente cilíndrica con al menos un orificio de entrada tangencialmente colocado. Uno o más orificios llevan a un depósito para la fase lipófila, mezclada con una fase oleosa si se van a formar vesículas lipídicas paucilaminares con núcleo de lípido y al menos uno de los demás orificios está unido a un depósito para la fase acuosa. Las diferentes fases se llevan a la cámara cilíndrica a través de bombas, por ejemplo, bombas de desplazamiento positivo, y se cruzan de tal manera que forman un flujo turbulento en la cámara. Las vesículas lipídicas paucilaminares se forman rápidamente, por ejemplo, en menos de 1 segundo, y se sacan de la cámara a través de un orificio de descarga colocado axialmente. Preferiblemente, hay cuatro orificios de entrada colocados tangencialmente y las fases lipídica y acuosa se sacan de los depósitos, a través de bombas de desplazamiento positivo, a orificios alternos. La corriente de fluido a través de los orificios tangenciales se guía en una ruta de flujo espiral desde cada orificio de entrada u inyección al orificio de descarga. Las rutas de flujo se controlan mediante la orientación o colocación de los orificios de entrada o inyección para crear una zona de mezcla mediante la intersección de las corrientes de líquido. Las velocidades de las bombas, además de los diámetros del orificio y la tubería de alimentación, se seleccionan para alcanzar la mezcla de cizalladura apropiada para la formación de la vesícula lipídica. En la mayoría de las circunstancias, se selecciona el flujo turbulento para proporcionar la mezcla adecuada.

No importa que dispositivo se use para formar las vesículas lipídicas paucilaminares, si se alcanza la mezcla de cizalladura apropiada tienen una estructura que implica un centro amorfo grande, desestructurado, rodeado por una pluralidad de bicapas lipídicas que tienen capas acuosas intercaladas entre ellas. Aproximadamente cuatro bicapas lipídicas es lo estándar con 2-8 posibles. El centro amorfo puede estar totalmente lleno con un material acuoso, por ejemplo, un tampón y cualquier material acuoso a encapsular, o puede estar parcialmente o totalmente lleno con un material oleoso, formando vesículas lipídicas paucilaminares de núcleo lipídico. Si se usa un centro acuoso, las vesículas lipídicas paucilaminares oscilarán normalmente en un diámetro de aproximadamente 0,5-2 μ mientras que si se usa un centro oleoso, el tamaño puede aumentar hasta aproximadamente 15-20 μ dependiendo de la cantidad del aceite usado.

Uso de ciclodextrina como un vehículo, también descrito en esta memoria

También se describe en esta memoria que las ciclodextrinas son una opción alternativa para un sistema de transporte de colágeno y/o HA en la dermis de la piel. Las ciclodextrinas son carbohidratos complejos de 6, 7 u 8 residuos de D-glucopiranososa que están unidos por enlaces 1,4 glicosídicos. Las tres formas son dependientes del número de residuos de D-glucopiranososa, teniendo la forma alfa 6, teniendo la beta 7, y teniendo la gamma 8. La estructura alfa forma un anillo anular con una cavidad hidrófoba interna y una superficie externa hidrófila. Cada ciclodextrina se asocia con un compuesto huésped ajustando el compuesto en la cavidad hidrófoba que forma un complejo de inclusión. De esta forma las ciclodextrinas pueden usarse como un sistema de distribución para distribuir una cantidad deseada de material a una posición objetivo.

En una realización, también descrita en esta memoria, pueden usarse hidroxipropil-beta-ciclodextrinas. Las ciclodextrinas se usan porque tienen la capacidad de alterar las propiedades físicas, químicas y biológicas de un compuesto huésped asociado a través de la formación del complejo de inclusión. Este complejo mejora la solubilidad, estabilidad y biodisponibilidad del compuesto huésped de manera que el material puede aislarse y usarse en un sistema de distribución controlado. La formación de un complejo de inclusión de colágeno con una *alfa*-ciclodextrina permite un sistema de distribución dirigido a la dermis.

El método principal para el aislamiento y purificación de la *alfa*-ciclodextrina se beneficia de su capacidad para formar el complejo. Al completarse la reacción, se añade 1-decanol a la mezcla de reacción para formar un complejo de inclusión insoluble *alfa*-ciclodextrina: 1-decanol 1:1. El complejo se mezcla de forma continua con agua y se separa de la mezcla de reacción por centrifugado. El complejo recuperado se suspende de nuevo en agua y se disuelve por calentamiento. El enfriamiento posterior lleva a la nueva precipitación del complejo. El precipitado se recupera por centrifugado, y el 1-decanol se elimina por destilación en vapor. Tras el enfriamiento, la *alfa*-ciclodextrina cristaliza desde la disolución. Los cristales se eliminan por filtración y se secan, dando un polvo cristalino blanco con un contenido en agua por debajo del 11%. La pureza en una base seca es al menos 98%.

Vehículo dermatológicamente aceptable

- 10 Las composiciones tópicas de la presente invención, además del HA y opcionalmente colágeno contenidos en la vesícula, pueden comprender además un vehículo dermatológicamente aceptable. Una cantidad segura y efectiva de vehículo es típicamente de aproximadamente 50% a aproximadamente 99,99%, preferiblemente de aproximadamente 80% a aproximadamente 99,9%, más preferiblemente de aproximadamente 90% a aproximadamente 98%, e incluso más preferiblemente de aproximadamente 90% a aproximadamente 95% de la composición.

- 15 El vehículo puede estar en una amplia variedad de formas. Por ejemplo, vehículos en emulsión, que incluyen, aunque no están limitados a, emulsiones de aceite en agua, agua en aceite, agua en aceite en agua, y aceite en agua en silicona, son útiles en esta memoria.

- 20 Las emulsiones según la presente invención pueden contener una disolución como se describe anteriormente y un lípido o aceite. Los lípidos y aceites pueden derivarse de animales, plantas o petróleo y pueden ser naturales o sintéticos (es decir, hechos por el hombre). Las emulsiones preferidas también contienen un humectante, tal como glicerina. Las emulsiones contendrán además preferiblemente de aproximadamente 0,01% a aproximadamente 10%, más preferiblemente de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 5%, de un emulgente, en base al peso del vehículo. Los emulgentes pueden ser no iónicos, aniónicos o catiónicos. Los emulgentes adecuados se describen en, por ejemplo, la patente de EE.UU. núm. 3.755.560, presentada el 28 de agosto de 1973 de Dickert *et al.*; la patente de EE.UU. núm. 4.421.769, presentada el 20 de diciembre de 1983 de Dixon *et al.*; y McCutcheon's Detergents and Emulsifiers, Ed. Norteamericana, páginas 317-324 (1986).

La emulsión puede contener además un agente anti-espumante para minimizar la formación de espuma en la aplicación al tejido epidérmico. Los agentes anti-espumantes incluyen siliconas de alto peso molecular y otros materiales bien conocidos en la técnica para dicho uso.

- 30 Las emulsiones adecuadas pueden tener un amplio rango de viscosidades, dependiendo de la forma del producto deseado. Las emulsiones de baja viscosidad ejemplares, que se prefieren, tienen una viscosidad de aproximadamente 50 centistokes o menos, más preferiblemente aproximadamente 10 centistokes o menos, aún más preferiblemente aproximadamente 5 centistokes o menos.

- 35 Las emulsiones de agua en silicona pueden contener una fase de silicona continua y una fase acuosa dispersa. La fase de silicona continua existe como una fase externa que contiene o rodea la fase acuosa discontinua descrita a continuación. La fase de silicona continua puede contener uno o más aceites que no son silicona. Ejemplos de aceites que no son silicona adecuados para usar en la fase de silicona continua son aquellos bien conocidos en las técnicas químicas en productos del cuidado personal tópicos en forma de emulsiones de agua en aceite, por ejemplo, aceite mineral, aceites vegetales, aceites sintéticos, aceites semi-sintéticos, etc.

- 40 En la tecnología de la emulsión, el término "fase dispersa" es un término bien conocido para un experto en la técnica que significa que la fase existe como pequeñas partículas o gotitas que están suspendidas en y rodeadas por una fase continua. La fase dispersa se conoce también como fase interna o discontinua. La fase acuosa dispersa es una dispersión de pequeñas partículas acuosas o gotitas suspendidas en y rodeadas por la fase de silicona continua descrita anteriormente.

- 45 La fase acuosa puede ser agua, o una combinación de agua y uno o más ingredientes solubles o dispersables en agua. Ejemplos no limitantes de dichos ingredientes incluyen espesantes, ácidos, bases, sales, quelantes, gomas, alcoholes y polioles solubles o dispersables en agua, tampones, conservantes, agentes de protección solar, colorantes y similares.

- 50 Las emulsiones de agua en silicona pueden contener un emulgente. En una realización, la composición contiene de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 10% de emulgente, más preferiblemente de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 7,5%, aún más preferiblemente de aproximadamente 1% a aproximadamente 5% de emulgente en peso de la composición. El emulgente ayuda a dispersar y suspender la fase acuosa en la fase continua de silicona.

- 55 Otros vehículos tópicos incluyen emulsiones de aceite en agua, que tienen una fase acuosa continua y una fase insoluble en agua hidrófoba ("fase oleosa") dispersa en ella. Ejemplos de vehículos de emulsión de aceite en agua adecuados se describen en la patente de EE.UU. núm. 5.073.371, de Turner, D.J. et al., presentada el 17 de diciembre de 1991, y la patente de EE.UU. núm. 5.073.372 de Turner D.J. et al., presentada el 17 de diciembre de 1991.

Una emulsión de aceite en agua puede contener un agente estructurador para ayudar en la formación de una estructura de red de gel cristalino líquido. Los agentes estructuradores incluyen ácido esteárico, ácido palmítico, alcohol de estearilo, alcohol cetílico, alcohol de behenilo, ácido esteárico, ácido palmítico, el polietilenglicoléter del alcohol de estearilo que tiene un promedio de aproximadamente 1 a aproximadamente 21 unidades de óxido de etileno, el polietilenglicoléter del alcohol cetílico que tiene un promedio de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 unidades de óxido de etileno, y mezclas de los mismos.

En ciertas realizaciones, las emulsiones de aceite en agua que contienen al menos un tensioactivo hidrófilo que puede dispersar los materiales hidrófobos en la fase acuosa (porcentajes en peso del vehículo tópico). El tensioactivo, como mínimo, debe ser suficientemente hidrófilo para dispersarse en agua. Entre los tensioactivos no iónicos que son útiles en esta memoria están los que pueden definirse ampliamente como productos de condensación de alcoholes de cadena larga, por ejemplo, alcoholes C8-30, con polímeros de azúcar o almidón, es decir, glicósidos.

Otros tensioactivos adecuados útiles en esta memoria incluyen una amplia variedad de tensioactivos catiónicos, aniónicos, zwitteriónicos y anfóteros tales como se conocen en la técnica. Véase, por ejemplo, McCutcheon's, Detergents and Emulsifiers, edición norteamericana (1986), publicado por Allured Publishing Corporation; la patente de EE.UU. núm. 5.011.681 de Ciotti et al., presentada el 30 de abril de 1991; la patente de EE.UU. núm. 4.421.769 de Dixon et al., presentada el 20 de diciembre de 1983; y la patente de EE.UU. núm. 3.755.560 de Dickert et al., presentada el 28 de agosto de 1973.

Los tensioactivos hidrófilos útiles en esta memoria pueden contener un único tensioactivo, o cualquier combinación de tensioactivos adecuados. El tensioactivo (o tensioactivos) exacto elegido dependerá del pH de la composición y de los demás componentes presentes.

También son útiles en esta memoria los tensioactivos catiónicos, tales como compuestos de dialquilamonio cuaternario, cuyos ejemplos se describen en las patentes de EE.UU. núms. 5.151.209; 5.151.210; 5.120.532; 4.387.090; 3.155.591; 3.929.678; 3.959.461; McCutcheon's, Detergents & Emulsifiers, (edición norteamericana 1979) M.C. Publishing Co.; y Schwartz, et al., Surface Active Agents, Their Chemistry and Technology, Nueva York: Interscience Publishers, 1949.

Una amplia variedad de tensioactivos aniónicos también son útiles en esta memoria. Véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. núm. 3.929.678 de Laughlin et al., presentada el 30 de diciembre de 1975. Los ejemplos no limitantes de tensioactivos aniónicos incluyen los isetionatos de alcoilo, y los sulfatos de alquilo y alquiléter.

Ejemplos de tensioactivos anfóteros y zwitteriónicos son los que se describen ampliamente como derivados de aminas secundarias y terciarias alifáticas en que el radical alifático puede ser de cadena lineal o ramificada y en donde uno de los sustituyentes alifáticos contiene de aproximadamente 8 a aproximadamente 22 átomos de carbono (preferiblemente C₈-C₁₈) y uno contiene un grupo de solubilización en agua aniónico, por ejemplo, carboxi, sulfonato, sulfato, fosfato o fosfonato.

Las composiciones tópicas de la presente invención, que incluyen aunque no están limitadas a lociones y cremas, pueden contener un emoliente dermatológicamente aceptable. Dichas composiciones contienen preferiblemente de aproximadamente 1% a aproximadamente 50% del emoliente. Como se usa en esta memoria, "emoliente" se refiere a un material útil para la prevención y alivio de la sequedad, además de para la protección de la piel. Una amplia variedad de emolientes adecuados se conoce y puede usarse en esta memoria. Sagarin, Cosmetics, Science and Technology, 2ª edición, vol. 1, págs. 32-43 (1972) contiene numerosos ejemplos de materiales adecuados como un emoliente. Un emoliente preferido es la glicerina. La glicerina se usa preferiblemente en una cantidad de o aproximadamente 0,001 a o aproximadamente 30%, más preferiblemente de o aproximadamente 0,01 a o aproximadamente 20%, aún más preferiblemente de o aproximadamente 0,1 a o aproximadamente 10%, por ejemplo, 5%.

Las cremas son generalmente más espesas que las lociones debido a mayores niveles de emolientes o mayores niveles de espesantes.

Las pomadas de la presente invención pueden contener una única base de transporte de aceites animales o vegetales o hidrocarburos semi-sólidos (oleaginosos); las bases de pomadas de absorción que absorben agua para formar emulsiones; o vehículos solubles en agua, por ejemplo, un vehículo de disolución soluble en agua. Las pomadas pueden contener además un agente espesante, como se describe en Sagarin, Cosmetics, Science and Technology, 2ª edición, vol. 1, págs. 72-73 (1972), y/o un emoliente. Por ejemplo, una pomada puede contener de aproximadamente 2% a aproximadamente 10% de un emoliente; de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 2% de un agente espesante; y la vesícula-colágeno en las cantidades descritas anteriormente.

Agentes del cuidado de la piel adicionales

Las composiciones de la presente invención pueden contener uno o más agentes del cuidado de la piel adicionales, además de HA y opcionalmente colágeno, los agentes enumerados a continuación no incluyen agua a menos que se indique específicamente.

Los agentes adicionales serían adecuados para la aplicación a tejido epidérmico, esto es, cuando se incorporan en la composición son adecuados para usar en contacto con tejido epidérmico humano sin toxicidad indebida, incompatibilidad, inestabilidad, respuesta alérgica, y similares. The CTFA Cosmetic Ingredient Handbook, segunda edición (1992) describe una amplia variedad de ingredientes cosméticos y farmacéuticos no limitantes usados normalmente en la industria del cuidado de la piel, que son adecuados para usar en las composiciones de la presente invención.

Ejemplos de dichas clases de ingredientes incluyen: abrasivos, absorbentes, componentes estéticos tales como fragancias, pigmentos, colores/colorantes, aceites esenciales, refrescantes de la piel, astringentes, etc. (por ejemplo, aceite de clavo, mentol, alcanfor, aceite de eucalipto, eugenol, lactato de mentilo, destilado de hamamelis), agentes anti-acné, agentes anti-apelmazantes, agentes anti-espumantes, agentes antimicrobianos (por ejemplo, butilcarbamato de yodopropilo), antioxidantes, aglutinantes, aditivos biológicos, agentes de tamponado, agentes volumétricos, agentes quelantes, aditivos químicos, colorantes, astringentes cosméticos, biocidas cosméticos, desnaturalizantes, astringentes de fármaco, analgésicos externos, formadores de película o materiales, por ejemplo, polímeros, para ayudar a las propiedades de formación de película y la sustantividad de la composición (por ejemplo, copolímero de eicoseno y vinilpirrolidona), agentes de opacidad, ajustadores de pH, propelentes, agentes reductores, secuestrantes, agentes blanqueantes y aclaradores de la piel (por ejemplo, hidroquinona, ácido kójico, ácido ascórbico, ascorbil-fosfato de magnesio, ascorbil-glucosamina), agentes acondicionadores de la piel (por ejemplo, humectantes, que incluyen misceláneos y oclusivos), agentes calmantes y/o de cicatrización de la piel (pantenol y derivados (por ejemplo, etilpantenol), aloe vera, ácido pantoténico y sus derivados, alantoína, bisabolol y glicirrizinato de dipotasio), agentes de tratamiento de la piel, espesantes y vitaminas y derivados de los mismos.

En cualquier realización de la presente invención, sin embargo, los agentes útiles en esta memoria pueden categorizarse por el beneficio que proporcionan o por su modo de acción postulado. Sin embargo, se va a entender que los agentes adicionales para usar en esta memoria pueden en algunos casos proporcionar más de un beneficio u operar por medio de más de un modo de acción. Por lo tanto, las clasificaciones en esta memoria se hacen por conveniencia y no pretenden limitar al agente a esa aplicación o aplicaciones particulares enumeradas.

Agentes de descamación

Una cantidad segura y efectiva de un agente de descamación puede añadirse a las composiciones de la presente invención, más preferiblemente de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 10%, incluso más preferiblemente de aproximadamente 0,2% a aproximadamente 5%, también preferiblemente de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 4% en peso de la composición. Los agentes de descamación mejoran los beneficios para la apariencia de la piel de la presente invención. Por ejemplo, los agentes de descamación tienden a mejorar la textura de la piel (por ejemplo, la tersura). Un sistema de descamación que es adecuado para usar en esta memoria contiene compuestos de sulfhidrido y tensioactivos zwitteriónicos y se describe en la patente de EE.UU. núm. 5.681.852 de Bissett. Otro sistema de descamación que es adecuado para usar en esta memoria contiene ácido salicílico y tensioactivos zwitteriónicos y se describe en la patente de EE.UU. núm. 5.652.228 de Bissett. Los tensioactivos zwitteriónicos tal como los descritos en estas solicitudes también son útiles como agentes descamadores en esta memoria, prefiriéndose particularmente la cetilbetaina.

Agentes anti-acné

Las composiciones de la presente invención pueden contener una cantidad segura y efectiva de uno o más agentes anti-acné. Ejemplos de agentes anti-acné útiles incluyen resorcinol, azufre, ácido salicílico, peróxido de benzoilo, eritromicina, zinc, etc. Ejemplos adicionales de agentes anti-acné adecuados se describen en más detalle en la patente de EE.UU. núm. 5.607.980, presentada por McAtee et al., el 4 de marzo de 1997.

Agentes anti-arrugas/agentes anti-atrofia

Las composiciones de la presente invención pueden contener además una cantidad segura y efectiva de uno o más agentes anti-arrugas o agentes anti-atrofia. Agentes anti-arrugas/anti-atrofia ejemplares adecuados para usar en las composiciones de la presente invención incluyen D y L aminoácidos que contienen azufre y sus derivados y sales, particularmente los N-acetil-derivados, un ejemplo preferido de los cuales es N-acetil-L-cisteína; tioles, por ejemplo, etanolol; hidroxiácidos (por ejemplo, alfa-hidroxiácidos tales como ácido láctico y ácido glicólico o beta-hidroxiácidos tales como ácido salicílico y derivados de ácido salicílico tales como el derivado de octanoilo), ácido fítico, ácido lipoico; ácido lisofosfatídico, agentes exfoliantes (por ejemplo fenol y similares), compuestos de vitamina B₃, retinoides y ácido hialurónico, que mejoran los beneficios de la apariencia del tejido epidérmico de la presente invención, especialmente en la regulación de la condición del tejido epidérmico, por ejemplo, condición de la piel.

Compuestos de vitamina B₃

Las composiciones de la presente invención pueden contener una cantidad segura y efectiva de un compuesto de vitamina B₃. Los compuestos de vitamina B₃ son particularmente útiles para regular la condición de la piel como se describe en la Serie de solicitud de EE.UU. núm. 08/834.010, presentada el 11 de abril de 1997 (correspondiente a la publicación internacional WO 97/39733 A1, publicada el 30 de octubre de 1997). Ejemplos de compuestos de vitamina B₃ adecuados se conocen bien en la técnica y están disponibles comercialmente a partir de un número de fuentes,

por ejemplo, the Sigma Chemical Company (San Luis, Mo.); ICN Biomedicals, Inc. (Irvin, Calif.) y Aldrich Chemical Company (Milwaukee, Wis.). Los compuestos de vitamina pueden incluirse como el material esencialmente puro, o como un extracto obtenido por aislamiento físico y/o químico adecuado de las fuentes naturales (por ejemplo, plantas).

Retinoides

- 5 Las composiciones de la presente invención pueden contener también un retinoide. Como se usa en esta memoria, "retinoide" incluye todos los análogos naturales y/o sintéticos de la vitamina A o compuestos parecidos al retinol que poseen la actividad biológica de la vitamina A en la piel además de los isómeros geométricos y estereoisómeros de estos compuestos. El retinoide es preferiblemente retinol, ésteres de retinol (por ejemplo, alquilésteres C₂-C₂₂ de retinol, que incluyen palmitato de retinilo, acetato de retinilo, propionato de retinilo), retinal, y/o ácido retinoico (que incluyen todos los ácidos trans-retinoicos y/o ácido 13-cis-retinoico), más preferiblemente retinoides distintos del ácido retinoico. Estos compuestos se conocen bien en la técnica y están disponibles comercialmente a partir de un número de fuentes, por ejemplo, Sigma Chemical Company (San Luis, Mo.), y Boehringer Mannheim (Indianapolis, Ind.). Otros retinoides que son útiles en esta memoria se describen en la Patente de EE.UU. núm. 4.677.120, presentada el 30 de junio de 1987 de Parish et al., la patente de EE.UU. núm. 4.885.311, presentada el 5 de diciembre de 1989 de Parish et al., la patente de EE.UU. núm. 5.049.584, presentada el 17 de septiembre de 1991 de Purcell et al.; la Patente de EE.UU. núm. 5.124.356, presentada el 23 de junio de 1992 de Purcell et al.; y la patente de EE.UU. núm. nueva emisión 34.075, presentada el 22 de septiembre de 1992 de Purcell et al. Otros retinoides adecuados son tocoferil-retinoato [éster de tocoferol de ácido retinoico (trans- o cis-), adapaleno {ácido 6-[3-(1-adamantil)-4-metoxifenil]-2-naftoico}, y tazaroteno (6-[2-(4,4-dimetiltiocroman-6-il)-etil]nicotinato de etilo). Los retinoides preferidos son retinol, palmitato de retinilo, acetato de retinilo, propionato de retinilo, retinal y combinaciones de los mismos.

Hidroxiácidos

Las composiciones de la presente invención pueden contener una cantidad segura y efectiva de un hidroxiácido. Los hidroxiácidos preferidos para usar en las composiciones de la presente invención incluyen ácido salicílico y derivados de ácido salicílico.

25 Anti-oxidantes/ inactivadores de radicales

Las composiciones de la presente invención pueden incluir una cantidad segura y efectiva de un anti-oxidante/inactivador de radicales. El anti-oxidante/inactivador de radicales es especialmente útil para proporcionar protección frente a la radiación UV que puede provocar incrustaciones o cambios de textura aumentados en el estrato córneo y frente a otros agentes ambientales que pueden provocar el daño de la piel.

- 30 Una cantidad segura y efectiva de un anti-oxidante/inactivador de radicales puede añadirse a las composiciones de la invención, preferiblemente de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 10%, más preferiblemente de aproximadamente 1% a aproximadamente 5%, de la composición.

- Pueden usarse anti-oxidantes/inactivadores de radicales tales como el ácido ascórbico (vitamina C) y sus sales, ésteres de ascorbilo de ácidos grasos, derivados de ácido ascórbico (por ejemplo, ascorbilfosfato de magnesio, ascorbilfosfato sódico, ascorbilsorbato), tocoferol (vitamina E), sorbato de tocoferol, acetato de tocoferol, otros ésteres de tocoferol, ácidos hidroxibenzoicos butilados y sus sales, ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (comercialmente disponible bajo el nombre comercial Trolox®), ácido gálico y sus alquilésteres, especialmente galato de propilo, ácido úrico y sus sales y alquilésteres, ácido sórbico y sus sales, ácido lipoico, aminas (por ejemplo, N,N-diethylhidroxilamina, amino-guanidina), compuestos de sulfhidrilo (por ejemplo, glutatión), ácido dihidroxifumárico y sus sales, pidolato de licina, pilolato de arginina, ácido nordihidrogluairético, bioflavonoides, curcumina, lisina, metionina, prolina, superóxido dismutasa, silimarina, extractos de té, extractos de piel/semilla de uva, melanina, y extractos de romero. Los anti-oxidantes/inactivadores de radicales preferidos se seleccionan de sorbato de tocoferol y otros ésteres de tocoferol, más preferiblemente sorbato de tocoferol. Por ejemplo, el uso de sorbato de tocoferol en composiciones tópicas y aplicables a la presente invención se describe en la patente de EE.UU. núm. 4.847.071, presentada el 11 de julio de 1989 de Donald L. Bissett, Rodney D. Bush y Ranjit Chatterjee.

45 Quelantes

- Las composiciones de la presente invención pueden contener además una cantidad segura y efectiva de un quelante o agente quelante. Como se usa en esta memoria, "quelante" o "agente quelante" significa un agente activo capaz de eliminar un ión metálico de un sistema formando un complejo de manera que el ión metálico no puede participar fácilmente en o catalizar reacciones químicas. La inclusión de un agente quelante es especialmente útil para proporcionar protección frente a la radiación UV que puede contribuir a incrustaciones o cambios de textura de la piel excesivos y frente a otros agentes ambientales que pueden provocar daño dérmico.

- Una cantidad segura y efectiva de un agente quelante puede añadirse a las composiciones de la invención, preferiblemente de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 10%, más preferiblemente de aproximadamente 1% a aproximadamente 5% de la composición. Los quelantes ejemplares que son útiles en esta memoria se describen en la patente de EE.UU. núm. 5.487.884, presentada el 30 de enero de 1996 de Bissett et al.; la Publicación internacional núm. 91/16035, Bush et al., publicada el 31 de octubre de 1995; y la Publicación internacional núm. 91/16034, Bush

et al., publicada el 31 de octubre de 1995. Los quelantes preferidos útiles en composiciones de la invención son furildioxima, furilmonoxima y derivados de los mismos.

Flavonoides

Las composiciones de la presente invención pueden contener opcionalmente un compuesto flavonoide. Los flavonoides se describen ampliamente en las patentes de EE.UU. núms. 5.686.082 y 5.686.367. Los flavonoides adecuados para usar en la presente invención son flavanonas seleccionadas de flavanonas no sustituidas, flavanonas mono-sustituidas y mezclas de las mismas; chalconas seleccionadas de chalconas no sustituidas, chalconas mono-sustituidas, chalconas di-sustituidas, chalconas tri-sustituidas, y mezclas de las mismas; flavonas seleccionadas de flavonas no sustituidas, flavonas mono-sustituidas, flavonas di-sustituidas y mezclas de las mismas; una o más isoflavonas; cumarinas seleccionadas de cumarinas no sustituidas, cumarinas mono-sustituidas, cumarinas di-sustituidas y mezclas de las mismas; cromonas seleccionadas de cromonas no sustituidas, cromonas mono-sustituidas, cromonas di-sustituidas y mezclas de las mismas; uno o más dicumaroles; una o más cromanonas; uno o más cromanoles; isómeros de los mismos (por ejemplo, isómeros cis/trans) de los mismos; y mezclas de los mismos. Mediante el término "sustituido" como se usa en esta memoria se entiende flavonoides en donde uno o más átomos de hidrógeno del flavonoide se ha sustituido independientemente con hidroxilo, alquilo C1-C8, alcoxilo C1-C4, 0-glicósido y similares o una mezcla de estos sustituyentes.

Ejemplos de flavonoides adecuados incluyen, aunque no están limitados a, flavanona no sustituida, mono-hidroxi-flavanonas (por ejemplo, 2'-hidroxiflavanona, 6-hidroxiflavanona, 7-hidroxiflavanona, etc.), mono-alcoxiflavanonas (por ejemplo, 5-metoxiflavanona, 6-metoxiflavanona, 7-metoxiflavanona, 4'-metoxiflavanona, etc.), chalcona no sustituida (especialmente trans-chalcona no sustituida), mono-hidroxichalconas (por ejemplo, 2'-hidroxichalcona, 4'-hidroxichalcona, etc.), di-hidroxichalconas (por ejemplo, 2',4'-dihidroxichalcona, 2',4'-dihidroxichalcona, 2,2'-dihidroxichalcona, 2',3'-dihidroxichalcona, 2',5'-dihidroxichalcona, etc.), y tri-hidroxichalconas (por ejemplo, 2',3',4'-trihidroxichalcona, 4,2',4'-trihidroxichalcona, 2,2',4'-trihidroxichalcona, etc.), flavona no sustituida, 7,2'-dihidroxiflavona, 3',4'-dihidroxinaftoflavona, 4'-hidroxiflavona, 5,6-benzoflavona y 7,8-benzoflavona, isoflavona no sustituida, daidzeina (7,4'-dihidroxi-isoflavona), 5,7-dihidroxi-4'-metoxi-isoflavona, isoflavonas de soja (una mezcla extraída de la soja), cumarina no sustituida, 4-hidroxicumarina, 7-hidroxicumarina, 6-hidroxi-4-metilcumarina, cromona no sustituida, 3-formilcromona, 3-formil-6-isopropilcromona, dicumarol no sustituido, cromanona no sustituida, cromanol no sustituido y mezclas de los mismos.

Se prefieren para usar en esta memoria la flavanona no sustituida, metoxiflavanonas, chalcona no sustituida, 2',4'-dihidroxichalcona y mezclas de las mismas. Se prefieren más la flavonona no sustituida, chalcona no sustituida (especialmente el isómero trans) y mezclas de las mismas.

Pueden ser materiales sintéticos u obtenerse como extractos de fuentes naturales (por ejemplo, plantas). El material de fuente natural puede además estar derivado adicionalmente (por ejemplo, un derivado de éster o éter preparado después de la extracción desde una fuente natural). Los compuestos flavonoides útiles en esta memoria están disponibles comercialmente a partir de un número de fuentes, por ejemplo, Indofine Chemical Company, Inc. (Somerville, N.J.), Steraloids, Inc. (Wilton, N.H.), y Aldrich Chemical Company, Inc. (Milwaukee, Wis.).

Agentes anti-inflamatorios

Puede añadirse una cantidad segura y efectiva de un agente anti-inflamatorio a las composiciones de la presente invención, preferiblemente de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 10%, más preferiblemente de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 5% de la composición. El agente anti-inflamatorio mejora los beneficios de la apariencia de la piel de la presente invención, por ejemplo, dichos agentes contribuyen a un tono o color de piel más uniforme y aceptable. La cantidad exacta de agente anti-inflamatorio a usar en las composiciones dependerá del agente anti-inflamatorio particular utilizado ya que dichos agentes varían ampliamente en potencia.

Pueden usarse agentes anti-inflamatorios esteroideos, que incluyen aunque no están limitados a, corticosteroides tales como hidrocortisona, hidroxiltriamcinolona, alfa-metil-dexametasona, dexametasona-fosfato, dipropionatos de beclometasona, valerato de clobetasol, desonida, desoximetasona, acetato de desoxicorticosterona, dexametasona, diclorisona, diacetato de diflorasona, valerato de diflucortolona, fluadrenolona, acetonida de flucorolona, fludrocortisona, pivalato de flumetasona, acetonida de fluosinolona, fluocinonida, butilésteres de flucortina, flucortolona, acetato de fluprednido (fluprednilideno), flurandrenolona, halcinonida, acetato de hidrocortisona, butirato de hidrocortisona, metilprednisolona, acetonida de triamcinolona, cortisona, cortodoxona, flucetonida, fludrocortisona, diacetato de difluorasona, fluradrenolona, fludrocortisona, diacetato de difluorasona, acetonida de fluradrenolona, medrisona, amcinafel, amcinafida, betametasona y el equilibrio de sus ésteres, clorprednisona, acetato de clorprednisona, clorcortelona, clescilonona, diclorisona, difluprednato, flucoronida, flunisolida, fluorometalona, fluperolona, fluprednisolona, valerato de hidrocortisona, ciclopentilpropionato de hidrocortisona, hidrocortamato, meprednisona, parametasona, prednisolona, prednisona, dipropionato de beclometasona, triamcinolona y mezclas de los mismos. El anti-inflamatorio esteroideo preferido para usar es hidrocortisona.

Una segunda clase de agentes anti-inflamatorios que es útil en las composiciones incluye los agentes anti-inflamatorios no esteroideos. La variedad de compuestos abarcados por este grupo se conoce bien por los expertos

en la técnica. Para la descripción detallada de la estructura química, síntesis, efectos secundarios, etc. de los agentes anti-inflamatorios no esteroideos, se puede consultar los textos estándar, que incluyen Anti-inflammatory and Anti-Rheumatic Drugs, K.D. Rainsford, Vol. I-III, CRC Press, Boca Ratón (1985), y Anti-inflammatory Agents, Chemistry and Pharmacology, 1, R.A. Scherrer, et al., Academic Press, Nueva York (1974).

5 Los agentes anti-inflamatorios no esteroideos específicos útiles en la composición de la invención incluyen, aunque no están limitados a:

1) Los oxicamos, tal como piroxicam, isoxicam, tenoxicam, sudoxicam, y CP-14.304;

2) los salicilatos, tales como aspirina, disalcida, benorilato, trilisato, safaprina, solprina, diflunisal y fendosal;

10 3) los derivados de ácido acético, tales como diclofenac, fenclofenac, indometacina, sulindac, tolmetina, isoxepac, furofenac, tiopinac, zidometacina, acematacina, fentiazac, zomepirac, clindanac, oxepinac, felbinac y cetorolac;

4) los fenamatos, tales como ácidos mefenámico, meclofenámico, flufenámico, niflúmico y tolfenámico;

5) los derivados de ácido propiónico, tales como ibuprofeno, naproxeno, benoxaprofeno, flurbiprofeno, cetoprofeno, fenoprofeno, fenbufeno, indoprofeno, piroprofeno, carprofeno, oxaprozina, pranoprofeno, miroprofeno, tioxaprofeno, suprofeno, alminoprofeno y tiaprofénico; y

15 6) los pirazoles, tales como fenilbutazona, oxifenbutazona, feprazona, azapropazona y trimetazona.

También pueden emplearse mezclas de estos agentes anti-inflamatorios no esteroideos, además de sales y ésteres dermatológicamente aceptables de estos agentes. Por ejemplo, etofenamato, un derivado de ácido flufenámico, es particularmente útil para la aplicación tópica. De los agentes anti-inflamatorios no esteroideos, se prefieren ibuprofeno, naproxeno, ácido flufenámico, etofenamato, aspirina, ácido mefenámico, ácido meclofenámico, piroxicam y felbinac; son más preferidos ibuprofeno, naproxeno, cetoprofeno, etofenamato, aspirina y ácido flufenámico.

25 Finalmente, los denominados agentes anti-inflamatorios "naturales" son útiles en métodos de la presente invención. Dichos agentes pueden obtenerse de forma adecuada como un extracto mediante aislamiento físico y/o químico adecuado a partir de fuentes naturales (por ejemplo, plantas, hongos, sub-productos de microorganismos) o pueden prepararse de forma sintética. Por ejemplo, pueden usarse cera de candelilla, bisabolol (por ejemplo, alfa-bisabolol), aloe vera, esteroides vegetales (por ejemplo, fitoesterol), Manjistha (extraída de plantas del género Rubia, particularmente Rubia Cordifolia), y Guggal (extraído de plantas del género Commiphora, particularmente Commiphora Mukul), extracto de nuez de cola, camomila, extracto de trébol rojo y extracto de gorgonia.

30 Agentes anti-inflamatorios adicionales útiles en esta memoria incluyen compuestos de la familia del regaliz (el género/especie vegetal Glycyrrhiza glabra), que incluye ácido glicirrético, ácido glicirricico y derivados de los mismos (por ejemplo sales y ésteres). Las sales adecuadas de los compuestos anteriores incluyen sales metálicas y de amonio. Los ésteres adecuados incluyen ésteres saturados o insaturados C₂-C₂₄ de los ácidos, preferiblemente C₁₀-C₂₄, más preferiblemente C₁₆-C₂₄. Ejemplos específicos de lo anterior incluyen extracto de regaliz soluble en aceite, los ácidos glicirricico y glicirrético en sí mismos, glicirricinato de monoamonio, glicirricinato de monopotasio, glicirricinato de dipotasio, ácido 1-beta-glicirrético, glicirretinato de estearilo y ácido 3-esteariloxi-glicirretínico y 3-succiniloxi-beta-glicirretinato disódico. Se prefiere el glicirretinato de estearilo.

Agentes anti-celulíticos

Las composiciones de la presente invención pueden contener además una cantidad segura y efectiva de un agente anti-celulítico. Los agentes adecuados pueden incluir, aunque no están limitados a, compuestos de xantina (por ejemplo, cafeína, teofilina, teobromina y aminofilina).

40 Anestésicos tópicos

Las composiciones de la presente invención pueden contener además una cantidad segura y efectiva de un anestésico tópico. Ejemplos de fármacos anestésicos tópicos incluyen benzocaína, lidocaína, bupivacaína, clorporcaína, dibucaína, etidocaína, mepivacaína, tetracaína, diclonina, hexilcaína, procaína, cocaína, ketamina, pramoxina, fenol y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

45 Agentes bronceadores

Las composiciones de la presente invención pueden contener un agente bronceador. Cuando está presente, es preferible que las composiciones contengan de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 20%, más preferiblemente de aproximadamente 2% a aproximadamente 7%, y aún más preferiblemente de aproximadamente 3% a aproximadamente 6% en peso de la composición, de dihidroxiacetona como un agente bronceador artificial.

50 Agentes aclaradores de la piel

Las composiciones de la presente invención pueden contener un agente aclarador de la piel. Cuando se usa, las composiciones contienen preferiblemente de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 10%, más preferiblemente de aproximadamente 0,2% a aproximadamente 5%, también preferiblemente de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 2% en peso de la composición, de un agente aclarador de la piel. Los agentes aclaradores de la piel adecuados incluyen los conocidos en la técnica, que incluyen ácido kójico, arbutina, ácido ascórbico y derivados de los mismos (por ejemplo, ascorbilfosfato de magnesio o ascorbilfosfato sódico) y extractos (por ejemplo, extracto de mora, extracto de placenta). Los agentes aclaradores de la piel adecuados para usar en esta memoria también incluyen los descritos en la Publicación PCT núm. 95/34280, en nombre de Hillebrand, que corresponde a la Solicitud PCT núm. U.S. 95/07432, presentada el 12 de junio de 1995; y la Serie de Solicitud de EE.UU. en tramitación núm. 08/390.152 presentada en nombre de Kvalnes, Mitchell A. DeLong, Barton J. Bradbury, Curtis B. Motley y John D. Carter, que corresponde a la Publicación PCT núm. 95/23780, publicada el 8 de septiembre de 1995.

Agentes calmantes de la piel y de cicatrización de la piel

Las composiciones de la presente invención pueden comprender un agente calmante de la piel o de cicatrización de la piel. Los agentes calmantes de la piel o de cicatrización de la piel adecuados para usar en esta memoria incluyen derivados de ácido pantoténico (que incluyen pantenol, dexpantenol, etilpantenol), aloe vera, alantoína, bisabolol y glicirricinato de dipotasio. Una cantidad segura y efectiva de un agente calmante de la piel o de cicatrización de la piel puede añadirse a la presente composición, preferiblemente, de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 30%, más preferiblemente de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 20%, aún más preferiblemente de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 10% en peso de la composición formada.

Agentes antimicrobianos y antifúngicos

Las composiciones de la presente invención pueden contener un agente antimicrobiano o antifúngico. Dichos agentes son capaces de destruir microbios, evitar el desarrollo de microbios o evitar la acción patógena de los microbios. Una cantidad segura y efectiva de un agente antimicrobiano o antifúngico puede añadirse a las actuales composiciones, preferiblemente, de aproximadamente 0,001% a aproximadamente 10%, más preferiblemente de aproximadamente 0,01% a aproximadamente 5%, y aún más preferiblemente de aproximadamente 0,05% a aproximadamente 2%.

Ejemplos de agentes antimicrobianos y antifúngicos incluyen fármacos de B-lactama, fármacos de quinolona, ciprofloxacina, norfloxacina, tetraciclina, eritromicina, amicacina, 2,4,4'-tricloro-2'-hidroxidifeniléter, 3,4,4'-triclorobanilida, fenoxietanol, fenoxipropanol, fenoxiisopropanol, doxiciclina, capreomicina, clorhexidina, clortetraciclina, oxitetraciclina, clindamicina, etambutol, isetionato de hexamidina, metronidazol, pentamidina, gentamicina, canamicina, lineomicina, metaciclina, metenamina, minociclina, neomicina, netilmicina, paromomicina, estreptomycin, tobramicina, miconazol, hidrocloreto de tetraciclina, eritromicina, zinc eritromicina, estolato de eritromicina, estearato de eritromicina, sulfato de amicacina, hidrocloreto de doxiciclina, sulfato de capreomicina, gluconato de clorhexidina, hidrocloreto de clorhexidina, hidrocloreto de clortetraciclina, hidrocloreto de oxitetraciclina, hidrocloreto de clindamicina, hidrocloreto de etambutol, hidrocloreto de metronidazol, hidrocloreto de pentamidina, sulfato de gentamicina, sulfato de canamicina, hidrocloreto de lineomicina, hidrocloreto de metaciclina, hipurato de metenamina, mandelato de metenamina, hidrocloreto de minociclina, sulfato de neomicina, sulfato de netilmicina, sulfato de paromomicina, sulfato de estreptomycin, sulfato de tobramicina, hidrocloreto de miconazol, cetaconazol, hidrocloreto de amanfadina, sulfato de amanfadina, octopirox, paraclorometaxilenol, nistatina, tolnaftato, zinc piritiona y clotrimazol.

Pueden usarse péptidos antimicrobianos adicionalmente.

Agentes de protección solar

La exposición a la luz ultravioleta puede dar por resultado la excesiva incrustación y cambios de textura del estrato córneo. Por lo tanto, las composiciones de la presente invención pueden contener opcionalmente un agente de protección solar. Como se usa en esta memoria, el "agente de protección solar" incluye tanto agentes de protección solar como bloqueadores solares físicos. Los agentes de protección solar adecuados pueden ser orgánicos o inorgánicos.

Los protectores solares inorgánicos útiles en esta memoria incluyen los siguientes óxidos metálicos; dióxido de titanio que tiene un tamaño de partícula primario promedio de aproximadamente 15 nm a aproximadamente 100 nm, óxido de zinc que tiene un tamaño de partícula primario promedio de aproximadamente 15 nm a aproximadamente 150 nm, óxido de zirconio que tiene un tamaño de partícula primario promedio de aproximadamente 15 nm a aproximadamente 150 nm, óxido de hierro que tiene un tamaño de partícula primario promedio de aproximadamente 15 nm a aproximadamente 500 nm, y mezclas de los mismos. Cuando se usa en esta memoria, los protectores solares inorgánicos están presentes en la cantidad de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 20%, preferiblemente de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 10%, más preferiblemente de aproximadamente 1% a aproximadamente 5% en peso de la composición.

Una amplia variedad de agentes de protección solar orgánicos convencionales son adecuados para usar en esta memoria. Sagarin et al., en el capítulo VIII, páginas 189 y posteriores, de *Cosmetics Science and Technology* (1972), describe numerosos agentes adecuados. Los agentes de protección solar adecuados específicos incluyen, por

ejemplo: ácido p-aminobenzoico, sus sales y sus derivados (ésteres de etilo, isobutilo, glicerilo; ácido p-dimetilaminobenzoico); antranilatos (es decir, o-amino-benzoatos; ésteres de metilo, mentilo, fenilo, bencilo, feniletilo, linalilo, terpinilo y ciclohexenilo); salicilatos (ésteres de amilo, fenilo, octilo, bencilo, mentilo, glicerilo y di-propilenglicol); derivados de ácido cinámico (ésteres de mentilo y bencilo, a-fenil-cinamonitrilo; piruvato de butilcinamoilo); derivados de ácido dihidroxicinámico (umbeliferona, metilumbeliferona, metilacetoumbeliferona); derivados de ácido trihidroxicinámico (esculetina, metilesculetina, dafnetina, y los glucósidos, esculina y dafnina); hidrocarburos (difenilbutadieno, estilbeno); dibenzalacetona y benzalacetofenona; naftolsulfonatos (sales sódicas de ácidos 2-naftol-3,6-disulfónico y de 2-naftol-6,8-disulfónico); ácido di-hidroxinaftóico y sus sales; o- y p-hidroxibifenildisulfonatos; derivados de cumarina (7-hidroxi, 7-metilo, 3-fenilo); diazoles (2-acetil-3-bromoindazol, fenilbenzoxazol, metilnaftoxazol, varios arilbenzotiazoles); sales de quinina (bisulfato, sulfato, cloruro, oleato y tannato); derivados de quinolina (sales de 8-hidroxi-quinolina, 2-fenilquinolina); benzofenonas hidroxi- o metoxi-sustituídas; ácidos úrico y violúrico; ácido tánico y sus derivados (por ejemplo, hexaetiléter); (butilcarbotoil)(6-propil-piperonil)éter; hidroquinona; benzofenonas (oxibenceno, sulisobenzona, dioxibenzona, benzoescorcinol, 2,2',4,4'-tetrahidroxibenzofenona, 2,2'-dihidroxi-4,4'-dimetoxibenzofenona, octabenzona; 4-isopropildibenzoilmetano; butilmetoxidibenzoilmetano; etocrileno; octocrileno; [3-(4'-metilbenzilidenbornan-2-ona), ácido tereftalilidenodialcanfórsulfónico y 4-isopropil-di-benzoilmetano.

Agentes acondicionadores

Las composiciones de la presente invención pueden contener un agente acondicionador seleccionado de humectantes, hidratantes o acondicionadores dérmicos. Una variedad de estos materiales puede emplearse y cada uno puede estar presente a un nivel de aproximadamente 0,01% a aproximadamente 20%, más preferiblemente de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 10% y aún más preferiblemente de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 7% en peso de la composición. Estos materiales incluyen, aunque no están limitados a, guanidina; urea; ácido glicólico y sales de glicolato (por ejemplo, amonio y alquilamonio cuaternario); ácido salicílico; ácido láctico y sales de lactato (por ejemplo, amonio y alquilamonio cuaternario); aloe vera en cualquiera de su variedad de formas (por ejemplo, gel de aloe vera); polihidroxialcoholes tales como sorbitol, manitol, xilitol, eritritol, glicerol, hexanotriol, butanotriol, propilenglicol, butilenglicol y similares; polietilenglicoles; azúcares (por ejemplo, melibiosa) y almidones; azúcar y derivados de almidón (por ejemplo, glucosa alcoxilada, fucosa, glucosamina); ácido hialurónico; lactamida monoetanolamina; acetamida monoetanolamina; pantenol; alantoína; y mezclas de los mismos. También son útiles en esta memoria los glicerol propoxilados descritos en la patente de EE.UU. núm. 4.976.953 de Orr et al, presentada el 11 de diciembre de 1990.

Agentes estructuradores

Las composiciones en esta memoria, y especialmente las emulsiones de esta memoria, pueden contener un agente estructurador. Los agentes estructuradores se prefieren particularmente en las emulsiones de aceite en agua de la presente invención. Sin estar limitados por la teoría, se cree que el agente estructurador ayuda a proporcionar características reológicas a la composición que contribuyen a la estabilidad de la composición. Por ejemplo, el agente estructurador tiende a ayudar en la formación de las estructuras de red de gel cristalino líquido. El agente estructurador puede también funcionar como un emulgente o tensioactivo. Las composiciones preferidas de esta invención contienen de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 20%, más preferiblemente de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 10%, aún más preferiblemente de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 9% de uno o más agentes estructuradores.

Los agentes estructuradores preferidos de la presente invención se seleccionan de ácido esteárico, ácido palmítico, alcohol de estearilo, alcohol cetílico, alcohol de behenilo, ácido esteárico, ácido palmítico, el polietilenglicoléter del alcohol de estearilo que tiene un promedio de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 unidades de óxido de etileno, el polietilenglicoléter de alcohol cetílico que tiene un promedio de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 unidades de óxido de etileno, y mezclas de los mismos. Los agentes estructuradores más preferidos de la presente invención se seleccionan de alcohol de estearilo, alcohol cetílico, alcohol de behenilo, el polietilenglicoléter de alcohol de estearilo que tiene un promedio de aproximadamente 2 unidades de óxido de etileno (steareth-2), el polietilenglicoléter del alcohol cetílico que tiene un promedio de aproximadamente 2 unidades de óxido de etileno, y mezclas de los mismos. Los agentes estructuradores incluso más preferidos se seleccionan de ácido esteárico, ácido palmítico, alcohol de estearilo, alcohol cetílico, alcohol de behenilo, steareth-2, y mezclas de los mismos.

Agentes espesantes (que incluyen espesantes y agentes gelificantes)

Las composiciones de la presente invención pueden contener uno o más agentes espesantes, preferiblemente de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 5%, más preferiblemente de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 4%, y aún más preferiblemente de aproximadamente 0,25% a aproximadamente 3% en peso de la composición.

Las clases no limitantes de agentes espesantes para usar en las composiciones de la invención incluyen los seleccionados de los siguientes: polímeros de ácido carboxílico (tales como los descritos en la patente de EE.UU. núm. 5.087.445, de Haffey et al, presentada el 11 de febrero de 1992; la patente de EE.UU. núm. 4.509.949 de Huang et al, presentada el 5 de abril de 1985; la patente de EE.UU. núm. 2.798.053 de Brown, presentada el 2 de julio de 1957; y en CTFA International Cosmetic Ingredient Dictionary, cuarta edición, 1991, págs. 12 y 80); polímeros de poliacrilato reticulado (tales como los descritos en la patente de EE.UU. núm. 5.100.660, de Hawe et al, presentada el

31 de marzo de 1992; la patente de EE.UU. núm. 4.849.484 de Heard, presentada el 18 de julio de 1989; la patente de EE.UU. núm. 4.835.206 de Farrar et al, presentada el 30 de mayo de 1989; la patente de EE.UU. núm. 4.628.078 de Glover et al presentada el 9 de diciembre de 1986; la patente de EE.UU. núm. 4.599.379 de Flesher et al presentada el 8 de julio de 1986; y el documento EP 228.868 de Farrar et al, publicada el 15 de julio de 1987); polímeros de poliacrilamida (tales como polímeros de poliacrilamida no iónicos que incluyen polímeros ramificados o no ramificados sustituidos y copolímeros de multi-bloque de acrilamidas y acrilamidas sustituidas con ácidos acrílicos y ácido acrílicos sustituidos); polisacáridos (que se refiere a agentes gelificantes que contienen un esqueleto de unidades de azúcar de repetición (es decir, carbohidrato), que incluyen celulosa, carboximetilhidroxietilcelulosa, carboxilato de propionato de acetato de celulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, metilhidroxietilcelulosa, celulosa microcristalina, sulfato de celulosa sódica y mezclas de las mismas); y gomas (tales como goma arábiga, agar, alga, ácido alginico, alginato de amonio, amilopectina, alginato de calcio, carragenano de calcio, carnitina, carragenano, dextrina, gelatina, goma de gelano, goma guar, cloruro de guar-hidroxipropiltrimonio, hectorita, ácido hialurónico, sílice hidratado, hidroxipropil-quitosano, hidroxipropil-guar, goma de karaya, kelp, goma de algarroba, goma de natto, alginato de potasio, carragenano de potasio, alginato de propilenglicol, goma de sclerotium, carboximetildextrano sódico, carragenano sódico, goma de tragacanto, goma de xantano y mezclas de los mismos).

Preparación de la composición

Las composiciones útiles para los métodos de la presente invención se preparan generalmente por métodos convencionales tales como se conocen en la técnica de fabricación de composiciones tópicas. Dichos métodos típicamente implican la mezcla de los ingredientes en una o más etapas a un estado relativamente uniforme, con o sin calentamiento, enfriamiento, aplicación de vacío, y similares.

Conservantes

Los conservantes pueden incorporarse en las composiciones de la presente invención para protegerlas frente al crecimiento de microorganismos potencialmente nocivos. Mientras está en la fase acuosa esos microorganismos tienden a crecer, los microorganismos pueden vivir también en la fase anhidra u oleosa. Por lo tanto, los conservantes, que tienen solubilidad tanto en agua como aceite, se emplean preferiblemente en las actuales composiciones. Los conservantes tradicionales adecuados para composiciones de esta invención son alquilésteres de ácido parahidroxibenzoico. Otros conservantes, que pueden usarse incluyen derivados de hidantoína, sales de propionato y una variedad de compuestos de amonio cuaternario.

Los conservantes particularmente preferidos son metilparabeno, imidazolidinilurea, deshidroacetato sódico, propilparabeno, etilendiamina-tetraacetato trisódico (EDTA), y alcohol bencilico. El conservante puede seleccionarse para evitar posibles incompatibilidades entre el conservante y otros ingredientes. Los conservantes se emplean preferiblemente en cantidades que oscilan de aproximadamente 0,01% a aproximadamente 2% en peso de la composición. Otros conservantes conocidos en la técnica pueden usarse en la presente invención.

Métodos de administración

Otro aspecto de la invención es proporcionar un método de administración de una composición de la invención, en donde las vesículas lipídicas dispersas que comprenden HA y opcionalmente colágeno se proporcionan a la capa dérmica de la piel de un paciente. El método incluye la etapa de poner en contacto la piel u otro sitio diana del sujeto con una composición que incluye una vesícula lipídica (es decir, liposoma paucilaminar no fosfolipídico) que tiene una cavidad que tiene HA encapsulado, donde dicha vesícula lipídica tiene aproximadamente 50 a 700 nm, en donde el HA está reticulado.

Las composiciones de la presente invención son útiles para regular y/o mejorar la condición de la piel de los mamíferos. Dicha regulación de las condiciones del tejido epidérmico puede incluir la regulación profiláctica y terapéutica. Por ejemplo, dichos métodos de regulación están dirigidos a espesar el tejido dérmico y evitar y/o retardar la atrofia de la piel de los mamíferos, evitar y/o retardar la aparición de arañas vasculares y/o manchas rojas en la piel de los mamíferos, evitar y/o retardar la aparición de círculos oscuros bajo los ojos de un mamífero, evitar y/o retardar la piel cetrina de la piel de los mamíferos, evitar y/o retardar la caída de la piel de los mamíferos, suavizar y/o alisar los labios de un mamífero, evitar y/o aliviar el picor en la piel de los mamíferos, regular la textura de la piel (por ejemplo, arrugas y líneas finas) y mejorar el color de la piel (por ejemplo, rojez, pecas).

Regular la condición del tejido epidérmico implica aplicar tópicamente al tejido epidérmico una cantidad segura y efectiva de una composición de la presente invención. La cantidad de la composición que se aplica, la frecuencia de la aplicación y el periodo de uso variará ampliamente dependiendo del nivel de colágeno (y, cuando están presentes, otros agentes del cuidado de la piel) de una composición dada y el nivel de regulación deseada, por ejemplo, a la luz del nivel de daño tisular epidérmico presente o que se espera que ocurra.

En una realización preferida, la composición se aplica de forma crónica a la piel. Por "aplicación tópica crónica" se entiende la aplicación tópica continuada de la composición durante un periodo extenso durante la vida del sujeto, preferiblemente durante un periodo de al menos aproximadamente una semana, más preferiblemente durante un periodo de al menos aproximadamente un mes, incluso más preferiblemente durante al menos aproximadamente tres

meses, incluso más preferiblemente durante al menos aproximadamente seis meses, y más preferiblemente aún durante al menos aproximadamente un año. Mientras que los beneficios se obtienen después de varios periodos máximos de uso (por ejemplo, cinco, diez o veinte años), se prefiere que la aplicación crónica continúe durante la vida del sujeto. Típicamente las aplicaciones estarían en el orden de aproximadamente una vez al día durante dichos periodos extensos, sin embargo la tasas de aplicación pueden variar de aproximadamente una vez por semana hasta aproximadamente tres veces por día o más.

Puede emplearse un amplio intervalo de cantidades de las composiciones de la presente invención para proporcionar un beneficio para la apariencia y/o tacto de la piel. Las cantidades de las actuales composiciones que se aplican típicamente por aplicación son, en mg de composición/cm² de piel, de aproximadamente 0,1 mg/cm² a aproximadamente 10 mg/cm². Una cantidad de aplicación particularmente útil es aproximadamente 1 mg/cm² a aproximadamente 2 mg/cm².

Mejorar y/o regular la condición del tejido epidérmico se practica preferiblemente aplicando una composición en forma de una loción, crema, gel, espuma, pomada, pasta, emulsión, pulverizado, acondicionador, tónico, cosmético, pintalabios, base, loción para después del afeitado, o similares para la piel, que se pretende preferiblemente que se deje en la piel u otra estructura de queratina para algún beneficio estético, profiláctico, terapéutico u otro beneficio (es decir, una composición "de aplicación prolongada"). Después de aplicar la composición a la piel, se deja preferiblemente en la piel durante un periodo de al menos aproximadamente 15 minutos, más preferiblemente al menos aproximadamente 30 minutos, incluso más preferiblemente al menos aproximadamente 1 hora, aún más preferiblemente durante al menos varias horas, por ejemplo, hasta aproximadamente 12 horas. Cualquier parte de la parte externa del cuerpo puede tratarse, por ejemplo, labios, área por debajo de los ojos, párpados, cuero cabelludo, cuello, torso, brazos, manos, piernas, pies, etc. La composición puede aplicarse con los dedos o con un instrumento o dispositivo (por ejemplo, almohadilla, bola de algodón, lápiz aplicador, aplicador por pulverización, y similares).

Otra aproximación para asegurar una dispersión continua de al menos un nivel mínimo de colágeno (y, cuando están presentes, al menos un agente del cuidado de la piel) a la capa dérmica es aplicar el compuesto mediante el uso de un parche aplicado, por ejemplo, a la cara. Dicha aproximación es particularmente útil para áreas de la piel problemáticas que necesitan tratamiento más intensivo (por ejemplo, área de patas de gallo faciales, líneas de la frente, área bajo el ojo, y similares). El parche puede ser oclusivo, semi-oclusivo o no oclusivo y puede ser adhesivo o no adhesivo. La composición puede estar contenida en el parche o aplicarse a la piel antes de la aplicación del parche. El parche puede incluir también agentes adicionales tales como iniciadores químicos para reacciones exotérmicas tales como las descritas en las patentes de EE.UU. números 5.821.250, 5.981.547 y 5.972.957 de Wu, et al. El parche se deja preferiblemente en la piel durante un periodo de al menos aproximadamente 5 minutos, más preferiblemente al menos aproximadamente 15 minutos, más preferiblemente aún al menos aproximadamente 30 minutos, incluso más preferiblemente al menos aproximadamente 1 hora, aún más preferiblemente por la noche como una forma de terapia nocturna.

Ejemplo 1 comparativo – Absorción del colágeno en la piel

El estudio evaluó las farmacocinéticas de absorción percutánea de ¹⁴C-Colágeno añadido a un liposoma. La absorción se midió en piel de la cara humana extirpada, *in vitro*, usando la técnica de dosis finita y las celdas de difusión de Franz.

El modelo de piel de cadáver humano *in vitro* ha probado que es una herramienta valiosa para el estudio de la absorción percutánea y la determinación de las farmacocinéticas de fármacos aplicados de forma tópica. El modelo usa piel de cadáver humano montado en células de difusión especialmente diseñadas para permitir que la piel se mantenga a una temperatura y humedad que coincidan con las condiciones *in vivo* típicas. Una dosis finita (por ejemplo, 4-7 mg/cm²) de formulación se aplica a la superficie externa de la piel y la absorción del fármaco se mide monitorizando su velocidad de aparición en la disolución del receptor que baña la superficie interna de la piel.

Artículo de ensayo – crema de día
Indicador – ¹⁴ C Colágeno (ARC 2005) (metil- ¹⁴ C)

El producto se probó en secciones de piel replicadas de tres donantes de piel diferentes, para la absorción percutánea de la formulación añadida con ¹⁴C-Colágeno durante un periodo por dosis de 48 horas. En momentos pre-seleccionados después de la dosificación, la disolución del depósito dérmico se eliminó en su totalidad, se sustituyó con disolución de receptor fresca, y una alícuota se guardó para el posterior análisis. Al completarse el estudio, los contenidos dérmicos y epidérmicos se evaluaron también. Las muestras se analizaron para el contenido en isótopo ¹⁴C mediante espectroscopia de centelleo líquido.

Tabla resumen: Resultados de absorción total de Novasome añadida con [^{14}C]-Colágeno a sobre el donante

Absorción percutánea de ^{14}C -Colágeno como radioisótopo a través de Piel de la cara humana extirpada durante 48 horas a partir de una única aplicación. Media $\pm$ DE (n = 3) como Masa total (μg) y Porcentaje de dosis aplicada

Fuente de la piel	Pen* total (μg)	Pen total (%)
Párpado	3,83 $\pm$ 2,40	42,96 $\pm$ 21,21
Pre-auricular	2,63 $\pm$ 0,56	19,63 $\pm$ 1,27
Datos combinados	3,03 $\pm$ 0,51	27,40 $\pm$ 7,81

* "Pen" es penetración

El colágeno radiomarcado se preparó por American Radiolabeled Chemicals, Inc. (ARC; San Luis, MO 63143). Brevemente, el patrocinador del estudio mandó su colágeno a ARC para el marcaje. ARC marcó el colágeno mediante metilación usando [^{14}C] formaldehído y cianoborohidruro sódico. Se indicó que el material radiomarcado tenía una actividad específica de 25 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$ y se proporcionó en un volumen de 1 mL de tampón de fosfato de potasio 0,01M (pH 7,2).

El material radiomarcado se secó primero por centrifugado al vacío (Speed Vac, Savant, Inc.) durante aproximadamente 3 horas, seguido por rehidratación en 50 μL de la Crema de día Novasome y se mezcló por extrusión cruzada por jeringa dual (100 μL) a través de una válvula de grifo de 3 vías 20 veces. La crema marcada se dejó equilibrar durante 24 h a temperatura ambiente antes del uso. La actividad específica final se midió como 0,1 $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ de formulación de crema con 3,82 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ de colágeno radiomarcado que contribuye a la base de la crema.

Preparación de la piel de estudio:

La piel de la cara extirpada humana (párpado y pre-auricular) sin signos obvios de enfermedad dérmica, obtenida después de cirugía estética, se usó en este estudio. Se limpió de todo tejido subcutáneo y el ~25% inferior de la dermis, se selló en bolsas de plástico impermeables al agua y se almacenó a $\leq -70^\circ\text{C}$ hasta que se usó. Antes del experimento, la piel se descongeló, y después se enjuagó con agua para eliminar cualquier sangre adherente u otro material de la superficie.

La piel de un único donante se cortó en múltiples secciones más pequeñas lo suficientemente grandes para encajar en las celdas de difusión de Franz (0,4 cm^2 – 0,8 cm^2). La cámara dérmica se llenó en toda su capacidad con una disolución de solución salina isotónica tamponada con fosfato (PBS), pH 7,4 $\pm$ 0,1, y la cámara epidérmica se dejó abierta al medio ambiente del laboratorio. Las células se colocaron entonces en un aparato de difusión en que la disolución dérmica se agitó magnéticamente a aproximadamente 600 RPM y su temperatura de la superficie de la piel se mantuvo a 32,0 $^\circ$ $\pm$ 1,0 $^\circ\text{C}$.

Para asegurar la integridad de cada sección de piel, se determinó su permeabilidad al agua tritiada antes de la aplicación de los productos de ensayo. Después de un breve periodo de equilibrio (0,5-1 hora), se hizo una capa de $^3\text{H}_2\text{O}$ (NEN, Boston, MA, sp. Act. ~0,5 $\mu\text{Ci}/\text{mL}$) sobre la parte superior de la piel con cuentagotas de manera que se cubrió toda la superficie expuesta (aproximadamente 100-500 μL). Después de 5 minutos la capa acuosa de $^3\text{H}_2\text{O}$ se eliminó. A los 30 minutos se recogió la disolución receptora y se analizó para el contenido radioactivo mediante conteo de centelleo líquido. Después del ensayo de integridad la disolución receptora se cambió múltiples veces para eliminar cualquier tritio residual medible.

Dosificación y recogida de la muestra

Antes de la administración de las formulaciones de ensayo tópicos a las secciones de la piel, la chimenea se eliminó de la celda de Franz para permitir el acceso total a la superficie epidérmica de la piel y la disolución se sustituyó con una disolución fresca de PBS.

Posteriormente, el producto de ensayo se aplicó a secciones replicadas de la piel del mismo donante. La dosificación se realizó usando un conjunto de pipetas de desplazamiento positivo para distribuir 5 μL de formulaciones/ cm^2 . Dada la piel disponible, se usaron tres tamaños de cámara con diferente área de dosificación (0,4, 0,5 y 0,8 cm^2). La dosis se extendió a lo largo de la superficie con la punta de la pipeta. De cinco a diez minutos después de la aplicación la parte de la chimenea de la celda de Franz se sustituyó. Las celdas de repuesto no se dosificaron, pero se muestrearon, para evaluar las sustancias de interferencia durante el análisis analítico.

A intervalos de tiempo pre-seleccionados después de la aplicación de la formulación de ensayo (0,5, 1, 3, 7, 19, 26, 43, 48 h) la disolución receptora se eliminó en su totalidad, se sustituyó con disolución fresca y se tomó una alícuota para el análisis.

Después de recogerse la última muestra, la superficie de la piel se lavó con agua desionizada con doble destilación para recoger la formulación no absorbida de la superficie de la piel. Después del lavado, la piel se quitó de la cámara, se separó en epidermis y dermis, y cada una se procesó para el posterior análisis para el contenido de isótopo.

Métodos analíticos

- 5 El análisis del contenido de isótopo ^{14}C de cada muestra fue mediante espectroscopia de centelleo líquido. Volúmenes de un mililitro de cada disolución receptora y cada disolución de lavado de la superficie recibieron 5-7 mL de fluido de centelleo. El tejido (epidermis y dermis) se disolvió en Soluene-350 (PerkinElmer; lote núm. 24-060203) durante toda la noche, después de lo cual cada muestra recibió 5-7 mL de fluido de centelleo.

- 10 Las muestras se cuantificaron para el contenido de ^{14}C por espectroscopia de centelleo líquido usando un contador de centelleo líquido Tri-Carb 3100TR de PerkinElmer. Cada muestra se contó durante no menos de 5 minutos cada una, por duplicado. Los conteos por minuto (CPM) se convirtieron automáticamente a desintegraciones por minuto (DPM) usando un método de corrección de neutralización patrón externo. Todos los datos se corrigieron por el fondo de isótopo a partir de muestras blanco.

Tabla 1: Resultados de la velocidad de penetración como flujo medio ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$)

Absorción percutánea de ^{14}C -Colágeno como radioisótopo a través de la piel de cadáver humano durante 48 horas a partir de una única aplicación (Media $\pm$ DE Párpado, Media $\pm$ DE Pre-auricular, n=1-2 donantes)

Tiempo (h)*	Párpado	Pre-auricular	Datos combinados
0,25	0,14 $\pm$ 0,10	0,04 $\pm$ 0,02	0,07 $\pm$ 0,04
0,75	0,20 $\pm$ 0,02	0,12 $\pm$ 0,00	0,15 $\pm$ 0,03
2,0	0,18 $\pm$ 0,01	0,15 $\pm$ 0,06	0,16 $\pm$ 0,03
5,0	0,21 $\pm$ 0,09	0,10 $\pm$ 0,04	0,14 $\pm$ 0,04
13,0	0,17 $\pm$ 0,07	0,07 $\pm$ 0,01	0,11 $\pm$ 0,03
22,5	0,23 $\pm$ 0,18	0,08 $\pm$ 0,00	0,13 $\pm$ 0,05
35,0	0,10 $\pm$ 0,01	0,07 $\pm$ 0,00	0,08 $\pm$ 0,01
45,5	0,30 $\pm$ 0,30	0,07 $\pm$ 0,01	0,15 $\pm$ 0,08

* Tiempo como punto medio entre muestras.

Tabla 2: Resultados de absorción total y equilibrio de masas

Absorción percutánea de ^{14}C -Colágeno como radioisótopo a través de la piel de cadáver humano durante 48 horas a partir de una única aplicación. Media $\pm$ DE párpado y Media $\pm$ DE pre-auricular como porcentaje de la dosis aplicada y la masa total (μg). (n=1-2 donantes)

Parámetro	Párpado	Pre-auricular	Datos combinados
Absorción total (μg)	3,83 $\pm$ 2,40	2,63 $\pm$ 0,56	3,03 $\pm$ 0,51
Dermis (μg)	0,02 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01	0,02 $\pm$ 0,01
Epidermis (μg)	0,13 $\pm$ 0,06	0,28 $\pm$ 0,13	0,23 $\pm$ 0,09
Lavado de superficie (μg)	5,37 $\pm$ 0,25	9,73 $\pm$ 1,65	8,28 $\pm$ 1,74
Absorción total (5)	42,96 $\pm$ 21,21	19,63 $\pm$ 1,27	27,40 $\pm$ 7,81
Dermis (%)	0,20 $\pm$ 0,11	0,18 $\pm$ 0,03	0,19 $\pm$ 0,02
Epidermis (%)	1,51 $\pm$ 0,48	2,01 $\pm$ 0,66	1,84 $\pm$ 0,42
Lavado de superficie (%)	63,14 $\pm$ 7,04	74,10 $\pm$ 0,48	70,45 $\pm$ 3,67
Recuperación total (%)	107,81 $\pm$ 14,76	95,92 $\pm$ 2,44	99,88 $\pm$ 4,21

Los datos indicaron que cuando ¹⁴C-Colágeno se incorpora en la formulación base de la crema de día Novasome, el radioisótopo penetra en y a través de la piel de la cara extirpada humana.

Se va a entender que mientras la invención se ha descrito en conjunto con la descripción detallada de la misma, la descripción precedente pretende ilustrar y no limitar el alcance de la invención, que se define por el alcance de las reivindicaciones anexas. Otros aspectos, ventajas y modificaciones están dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

A continuación se dan realizaciones numeradas según la presente invención.

Realización 1. Un liposoma que comprende al menos un componente seleccionado del grupo que consiste en ácido hialurónico y colágeno.

10 Realización 2. El liposoma, según la realización 1, que comprende ácido hialurónico.

Realización 3. El liposoma, según la realización 2, en el que el ácido hialurónico está reticulado.

Realización 4. El liposoma, según la realización 2, en el que el ácido hialurónico no está reticulado.

Realización 5. El liposoma, según la realización 1, en el que el ácido hialurónico es ácido hialurónico lineal de menos de 500 kDa.

15 Realización 6. El liposoma, según la realización 1, que comprende colágeno.

Realización 7. El liposoma, según la realización 6, en el que el colágeno es colágeno humano.

Realización 8. El liposoma, según la realización 6, en el que el colágeno es colágeno recombinante.

Realización 9. El liposoma, según la realización 6, en el que dicho colágeno es un derivado de colágeno.

Realización 10. El liposoma, según la realización 6, en el que dicho colágeno es un colágeno de Tipo I o Tipo III.

20 Realización 11. El liposoma, según la realización 6, en el que dicho colágeno tiene un tamaño de partículas menor que 800 nm.

Realización 12. El liposoma, según la realización 6, en el que dicho colágeno está en forma fibrilar.

Realización 13. El liposoma, según la realización 1, que comprende colágeno y ácido hialurónico.

25 Realización 14. El liposoma, según la realización 1, que además comprende al menos uno del grupo que consiste en agentes de descamación, agentes anti-acné, agentes anti-arrugas, compuestos de vitamina B3, retinoides, hidroxilácidos, anti-oxidantes, inactivadores de radicales, quelantes, flavonoides, agentes anti-inflamatorios, agentes anti-celulíticos, anestésicos tópicos, agentes bronceadores, agentes aclaradores de la piel, agentes calmantes de la piel y de cicatrización de la piel, agentes antimicrobianos y antifúngicos, agentes de protección solar, agentes acondicionadores, agentes estructuradores, agentes espesantes y conservantes.

30 Realización 15. El liposoma, según la realización 1, que es paucilaminar.

Realización 16. El liposoma, según la realización 1, que comprende tensioactivos no fosfolipídicos.

Realización 17. Una composición para suministrar un agente en la piel de un sujeto en donde dicha composición comprende una ciclodextrina que tiene asociado con ella el agente, en donde el agente se selecciona del grupo que consiste en colágeno y ácido hialurónico.

35 Realización 18. Un método para administrar un agente a la piel de un sujeto, comprendiendo el método la etapa de poner en contacto la piel del sujeto con una composición que comprende un vehículo que comprende una cavidad que tiene encapsulado en ella un agente seleccionado del grupo que consiste en colágeno y ácido hialurónico, en donde dicho vehículo es un liposoma o una ciclodextrina.

Realización 19. El método, según la realización 18, en el que dicho vehículo es un liposoma.

40 Realización 20. El método, según la realización 19, en el que el liposoma comprende ácido hialurónico.

Realización 21. El método, según la realización 19, en el que el liposoma comprende colágeno.

45 Realización 22. El método, según la realización 19, en el que el liposoma comprende además al menos uno del grupo que consiste en agentes de descamación, agentes anti-acné, agentes anti-arrugas, compuestos de vitamina B3, retinoides, hidroxilácidos, anti-oxidantes, inactivadores de radicales, quelantes, flavonoides, agentes anti-inflamatorios, agentes anti-celulíticos, anestésicos tópicos, agentes bronceadores, agentes aclaradores de la piel,

agentes calmantes de la piel y de cicatrización de la piel, agentes antimicrobianos y antifúngicos, agentes de protección solar, agentes acondicionadores, agentes estructuradores, agentes espesantes y conservantes.

Realización 23. El método, según la realización 19, en el que el liposoma es paucilaminar.

REIVINDICACIONES

1. Un liposoma paucilaminar no fosfolipídico que comprende una cavidad que tiene encapsulado en ella ácido hialurónico, en donde dicho liposoma tiene aproximadamente 50 a 950 nm de tamaño, en donde el ácido hialurónico está reticulado.
- 5 2. El liposoma, según la reivindicación 1, que además comprende colágeno.
3. El liposoma, según la reivindicación 1, en donde el ácido hialurónico es ácido hialurónico lineal de menos de 500 kDa.
4. El liposoma, según la reivindicación 1, que además comprende al menos uno del grupo que consiste en agentes de descamación, agentes anti-acné, agentes anti-arrugas, compuestos de vitamina B3, retinoides, hidroxiácidos, anti-oxidantes, inactivadores de radicales, quelantes, flavonoides, agentes anti-inflamatorios, agentes anti-celulíticos, anestésicos tópicos, agentes bronceadores, agentes aclaradores de la piel, agentes calmantes de la piel y de cicatrización de la piel, agentes antimicrobianos y antifúngicos, agentes de protección solar, agentes acondicionadores, agentes estructuradores, agentes espesantes y conservantes.
- 10 5. El liposoma, según la reivindicación 1, que comprende tensioactivos no fosfolipídicos.
6. Un método no terapéutico para administrar un agente a la piel de un sujeto, comprendiendo el método la etapa de poner en contacto la piel del sujeto con una composición que comprende un liposoma paucilaminar no fosfolipídico que comprende una cavidad que tiene encapsulado en ella ácido hialurónico, en donde dicho liposoma tiene aproximadamente 50 a 700 nm de tamaño, en donde el ácido hialurónico está reticulado.
- 15 7. El método no terapéutico según la reivindicación 6, donde el método facilita la penetración del ácido hialurónico en la piel de un sujeto y donde dicho ácido hialurónico penetra en la capa epidérmica de la piel.
- 20 8. El método no terapéutico según las reivindicaciones 6 ó 7, en el que el liposoma además comprende colágeno.
9. El método no terapéutico según la reivindicación 6, en el que el liposoma además comprende al menos uno del grupo que consiste en agentes de descamación, agentes anti-acné, agentes anti-arrugas, compuestos de vitamina B3, retinoides, hidroxiácidos, anti-oxidantes, inactivadores de radicales, quelantes, flavonoides, agentes anti-inflamatorios, agentes anti-celulíticos, anestésicos tópicos, agentes bronceadores, agentes aclaradores de la piel, agentes calmantes de la piel y de cicatrización de la piel, agentes antimicrobianos y antifúngicos, agentes de protección solar, agentes acondicionadores, agentes estructuradores, agentes espesantes y conservantes.
- 25