

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 771 048**

51 Int. Cl.:

A61Q 5/08 (2006.01)
A61Q 3/00 (2006.01)
A61K 8/66 (2006.01)
A61Q 19/02 (2006.01)
A61K 8/33 (2006.01)
A61K 9/34 (2006.01)
A61K 8/9706 (2007.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.05.2014 PCT/IL2014/050477**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **04.12.2014 WO14191995**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.05.2014 E 14732644 (1)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.09.2019 EP 3003493**

54 Título: **Composiciones cosméticas que contienen sistemas enzimáticos**

30 Prioridad:

27.05.2013 US 201361827685 P

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

06.07.2020

73 Titular/es:

**RAKUTO BIO TECHNOLOGIES LTD. (100.0%)
Kochav Yokneam, P.O. Box 219
20692 Yokneam Ilit, IL**

72 Inventor/es:

**BELINKY, PAULA;
KARMON, YORAM;
KRINFELD, BELLA y
LASSER, HAIM**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 771 048 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

Composiciones cosméticas que contienen sistemas enzimáticos

5 Campo y antecedentes de la invención

La presente invención, en algunas realizaciones de la misma, se refiere a nuevas composiciones, equipos y métodos cosméticos y, más en particular, pero no de manera exclusiva, a composiciones, equipos y métodos cosméticos, que utilizan un sistema enzimático para producir peróxido de hidrógeno en el sitio, y usos de los mismos en, por ejemplo, aclaramiento de la piel y/o el pelo.

El color de la piel humana se rige por la cantidad, calidad y distribución de melanina, un pigmento que también está presente en plantas y microorganismos.

15 La síntesis de melanina se inicia a partir del precursor L-tirosina, que se transforma en un segundo precursor dopaquinona a través de la acción de tirosinasa. La síntesis de melanina tiene lugar en melanosomas, que están presentes en células melanocíticas presentes en la capa basal epidérmica; la síntesis de melanina en estas células es inducida por luz ultravioleta (UV). Después de la síntesis, la melanina migra a células epidérmicas y se dispersa en las mismas, donde la melanina se descolora después de metabolismo dérmico y después se desprende en forma de suciedad en el momento de la renovación de la piel. La melanina tiene importancia clínica ya que protege la piel de los efectos adversos provocados por luz ultravioleta. Sin embargo, altos niveles de melanina pueden dar como resultado oscurecimiento no deseado de la piel, mientras que la distribución heterogénea de los mismos puede conducir a cloasma y pecas que pueden ser estéticamente desagradables.

25 Los productos de aclaramiento de la piel se han vuelto cada vez más populares en los últimos años. El objetivo principal de los productos de aclaramiento de la piel es aclarar o blanquear la piel o tratar trastornos de la pigmentación tales como cloasma, pecas, marcas de embarazo y manchas de la edad. Están disponibles en la actualidad varios tipos de productos de aclaramiento de la piel.

30 Los productos basados en la degeneración y muerte de células pigmentarias normalmente incluyen productos químicos agresivos, tales como hidroquinona, 4-isopropilcatecol y éter monobencílico de hidroquinona, que promueven el blanqueamiento de la piel, el aclaramiento o el apagado de la pigmentación de la piel. Otros agentes que están disponibles habitualmente para blanqueamiento de la piel incluyen ácido kójico y derivados del mismo, que inhibe la producción de melanina y una variedad de extractos tales como regaliz (*Glycyrrhiza glabra*) que incluyen glabridina que disminuye la actividad de oxidación de las células creadoras de melanina en la piel de manera similar al ácido kójico.

Otros productos de aclaramiento se basan en la inhibición de tirosinasa, la enzima que transforma el precursor L-tirosina en un segundo precursor dopaquinona. Este grupo de productos incluye arbutina, un compuesto de glucosa hidroquinona, que es capaz de inhibir la tirosinasa al quelar iones de cobre, suprimiendo de este modo la tautomerización de dopacromo a 5,6-dihidroxiindol (DHI) y ácido 5,6-dihidroxiindol-2-carboxílico (DHICA). Melanostat es otro producto de aclaramiento que actúa a través de tirosinasa. Melanostat es un péptido sintético que actúa en la desactivación de la melanogénesis en melanocitos.

45 Varios compuestos antioxidantes que pueden inhibir la producción de melanina también se utilizan en productos de aclaramiento. Ya que la síntesis de melanina implica una reacción de oxidación, el bloqueo de la oxidación en diversos puntos de tirosina/DOPA a melanina inhibe en última instancia la síntesis de melanina. Por ejemplo, el ácido L-ascórbico (vitamina C) actúa como un agente reductor en intermedios de melanina y bloquea las reacciones oxidativas; otros antioxidantes utilizados por productos de aclaramiento incluyen bioflavonoides, que normalmente se extraen de morera o regaliz.

Sin embargo, los productos de aclaramiento de la piel disponibles en la actualidad son normalmente ineficaces y pueden ser perjudiciales para la piel, ya que una aplicación externa continua de estos productos puede conducir a leucodermia permanente y efectos secundarios tales como discromatosis y erupción cutánea.

55 Los consumidores usan con frecuencia productos cosméticos para cuidar su piel. La piel áspera y/o agrietada e hiperpigmentaciones (tales como manchas de la edad, pecas y manchas pardas asociadas con exposición a la luz solar, envejecimiento de la piel o daño ambiental a la piel humana) son áreas que los consumidores normalmente quieren tratar. El blanqueamiento de la piel es de interés particular en determinadas poblaciones asiáticas.

60 La publicación de solicitud de patente de los Estados Unidos n.º 20050013784 desvela una mascarilla de tratamiento que comprende un sustrato insoluble en agua y una composición líquida que comprende un agente que cambia el tono de la piel y un agente espesante hidrosoluble.

65 En la actualidad están disponibles mascarillas de tratamiento, que incluyen peróxido de hidrógeno, de Reviva Labs (p. ej., mascarilla de oxígeno, mascarilla de oxígeno de papaya verde y peróxido de hidrógeno, REV-11305).

- 5 La publicación de solicitud de patente internacional WO 2004/052275 desvela métodos para producir lignina peroxidasa y métodos y composiciones cosméticas adecuadas para aclaramiento de la piel y el pelo, así como equipos y un artículo de fabricación que incluye principios activos para aclaramiento de la piel y el pelo.
- 10 La publicación de solicitud de patente internacional WO 2012/153336 desvela equipos y métodos para aclarar la piel de un sujeto, usando una mascarilla que comprende un activador oxidante tal como peróxido de hidrógeno y una composición cosmética que comprende una lignina peroxidasa; o una mascarilla que comprende una lignina peroxidasa y una composición cosmética que comprende el activador oxidante.
- 15 La crema nocturna Luminaze™ (Base de datos GNPD n.º de referencia 1889052), de Syneron Beauty, comprende ligninasa fúngica y peróxido de hidrógeno, para su uso para dar brillo a la piel.
- 20 La patente de los Estados Unidos n.º 8.426.158 describe métodos para aumentar la hidrólisis de un material celulósico hidrolizando el material celulósico con una composición enzimática en presencia de un polipéptido que tiene actividad peroxidasa, siendo la actividad peroxidasa para reducir la inhibición de la hidrólisis por peróxidos generados durante la fermentación.
- 25 Se forma peróxido de hidrógeno en la saliva por oxidación de glucosa por la glucosa oxidasa. El peróxido de hidrógeno actúa como sustrato para la lactoperoxidasa en la saliva, que forma intermedios bactericidas oxidados tales como hipotiocianato, hipobromito e hipoyodito a partir de tiocianato, bromuro y yoduro, respectivamente.
- 30 La publicación de solicitud de patente internacional WO 88/002600 describe una composición bactericida que comprende una enzima formadora de peróxido de hidrógeno tal como glucosa oxidasa, una peroxidasa tal como lactoperoxidasa, un tiocianato y lisozima. Se pretende que el peróxido de hidrógeno generado durante el uso, en combinación con la peroxidasa, convierta el tiocianato en hipotiocianato, atenuando de este modo las bacterias de modo que sean lisadas por la lisozima.
- 35 Midda y Cooksey [J Clin Periodontol 1986, 13: 950-956] describen enjuagues bucales y dentífricos que contienen amiloglucosidasa y glucosa oxidasa para producir peróxido de hidrógeno a partir de hidratos de carbono fermentables en la dieta, que a su vez convierte tiocianato en hipotiocianato en presencia de lactoperoxidasa salival, inhibiendo de este modo las bacterias.
- 40 El dentífrico Enzycal™ (Curaprox) contiene lactoperoxidasa, glucosa oxidasa y amiloglucosidasa, para fortalecer el efecto antibacteriano de la saliva [Br Dent J 2008, 205: 681].
- 45 El dentífrico y el enjuague bucal Biotene™ (GlaxoSmithKline) contienen glucosa oxidasa, lactoferrina, lactoperoxidasa, lisozima.
- 50 La patente de los Estados Unidos n.º 5.607.681 describe composiciones antimicrobianas que contienen yoduro, tiocianato, glucosa oxidasa, D-glucosa y opcionalmente también una peroxidasa tal como lactoperoxidasa. Las composiciones son para su uso como conservantes o como agentes activos en productos de higiene oral, desodorantes y anticaspa. Las composiciones pueden proporcionarse como polvos secos no reactivos y soluciones no acuosas que pueden diluirse para obtener actividad antimicrobiana.
- 55 La patente de los Estados Unidos n.º 6.214.339 describe el tratamiento de la otitis externa en perros y gatos mediante la administración al oído externo de una composición no acuosa que contiene un sustrato oxidable tal como glucosa y una enzima oxidorreductasa tal como glucosa oxidasa, para producir peróxido de hidrógeno al encontrarse con el ambiente del oído externo. La composición contiene además una sal de yoduro y una peroxidasa tal como la lactoperoxidasa para producir hipoyodito a partir del peróxido de hidrógeno.
- 60 La patente de los Estados Unidos n.º 7.833.290 describe un método para teñir fibras queratinosas mediante tratamiento con un compuesto tal como hematoxilina, hemateína, brazilina y brazileína; una sal metálica; un bicarbonato; y peróxido de hidrógeno o un sistema que genera peróxido de hidrógeno, tal como peróxido de urea, peróxidos metálicos, perboratos, percarbonatos y oxidasas en presencia de un sustrato adecuado.
- 65 La publicación de solicitud de patente alemana n.º 102005041443 describe una composición con un agente colorante y/o de brillo del pelo y otra composición con un agente oxidante, tal como persulfatos, cloritos, peróxido de hidrógeno, iones metálicos, yoduros, quinonas o enzimas específicas (p. ej., peroxidases, oxidorreductasas de 2 electrones).
- La publicación de solicitud de patente alemana n.º 102009045798 describe un equipo para aclaramiento de la piel, que comprende una composición con una enzima productora de H₂O₂ y otra composición con una peroxidasa y un sustrato de la enzima productora de H₂O₂.
- Los antecedentes adicionales incluyen Hugoson *et al.* [Odontol Rev 1974, 25: 69-80]; patente de los Estados Unidos n.º 7.981.166; y las publicaciones de solicitud de patente de los Estados Unidos n.º 20040161435 y 20090130040.

Sumario de la invención

5 Los presentes inventores han ideado y practicado con éxito una metodología que evita la necesidad de incluir peróxido de hidrógeno en composiciones y equipos cosméticos y en composiciones y equipos que contienen lignina peroxidasa en particular.

10 Según un aspecto de algunas realizaciones de la invención, se proporciona una composición cosmética para aclarar la piel y/o el pelo de un sujeto, comprendiendo la composición una lignina peroxidasa, una enzima productora de peróxido de hidrógeno y un sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno.

15 Según un aspecto de algunas realizaciones de la invención, se proporciona un equipo para aclarar la piel y/o el pelo de un sujeto, comprendiendo el equipo una enzima productora de peróxido de hidrógeno, un sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno y una lignina peroxidasa, en donde al menos una de las enzimas productoras de peróxido de hidrógeno, el sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno y la lignina peroxidasa forma parte de una composición que se envasa individualmente dentro del equipo, según se define en las reivindicaciones adjuntas.

20 Según un aspecto de algunas realizaciones de la invención, se proporciona un método cosmético para aclarar la piel y/o el pelo de un sujeto, comprendiendo el método poner en contacto una región de la piel y/o el pelo del sujeto con una composición que comprende una lignina peroxidasa, una enzima productora de peróxido de hidrógeno y un sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno, aclarando de este modo la piel y/o el pelo del sujeto.

25 Según un aspecto de algunas realizaciones de la invención, se proporciona una composición cosmética o farmacéutica para su aplicación a la piel, el pelo y/o una uña de un sujeto, comprendiendo la composición una enzima productora de peróxido de hidrógeno y un sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno.

30 Según un aspecto de algunas realizaciones de la invención, se proporciona un equipo para aplicar una composición cosmética o farmacéutica a la piel, el pelo y/o una uña de un sujeto, comprendiendo la composición cosmética o farmacéutica peróxido de hidrógeno, comprendiendo el equipo una primera composición que comprende una enzima productora de peróxido de hidrógeno y una segunda composición que comprende un sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno.

35 Según un aspecto de algunas realizaciones de la invención, se proporciona un método para administrar peróxido de hidrógeno a la piel, el pelo y/o una uña de un sujeto, comprendiendo el método poner en contacto una región de la piel, el pelo y/o una uña del sujeto con una composición que comprende una enzima productora de peróxido de hidrógeno y un sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno, generando de este modo peróxido de hidrógeno en la piel, el pelo y/o la uña.

40 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, una concentración de lignina peroxidasa en la composición está en un intervalo de 1,25 a 125 unidades/gramo.

45 También se describen métodos con una concentración de la enzima productora de peróxido de hidrógeno en la composición en un intervalo de 0,125 a 1250 unidades/gramo.

Los inventores también describen métodos con una concentración del sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno en la composición en un intervalo de 0,0175 μ moles/gramo a 175 μ moles/gramo.

50 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la composición comprende además un mediador de oxidación.

Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, el mediador de oxidación se selecciona del grupo que consiste en alcohol veratrílico, veratrol y 1,4-dimetoxibenceno.

55 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, una concentración del mediador de oxidación en la composición está en un intervalo de 0,03 μ moles/gramo a 300 μ moles/gramo.

60 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la enzima productora de peróxido de hidrógeno se selecciona del grupo que consiste en una glucosa oxidasa, una hexosa oxidasa, una colesterol oxidasa, una aril alcohol oxidasa, una L-gulonolactona oxidasa, una galactosa oxidasa, una piranosa-2-oxidasa, una piridoxina-4-oxidasa, una alcohol oxidasa, una 2-hidroxiácido oxidasa, una colina oxidasa, una oxidasa de alcohol de cadena larga, una glicerol-3-fosfato oxidasa, una D-arabinono-1,4-lactona oxidasa, una vainillil alcohol oxidasa, una alditol oxidasa, una prosolanapirona II oxidasa, una paromamina 6'-oxidasa, una glioxal oxidasa, una veratril alcohol oxidasa, una alcohol deshidrogenasa, una celobiosa deshidrogenasa, una aldehído oxidasa, una oxalato oxidasa, una aril aldehído oxidasa, una dihidroorotato oxidasa, una pirroloquinolina-quinona

sintasa, una L-aminoácido oxidasa, una L-glutamato oxidasa, una poliamina oxidasa, una NAD(P)H oxidasa, una urato oxidasa, una hidroxilamina oxidasa, una tiol oxidasa, una glutatión oxidasa, una citocromo c oxidasa, una xantina oxidasa y una superóxido dismutasa.

5 Según las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la enzima productora de peróxido de hidrógeno comprende glucosa oxidasa y el sustrato comprende D-glucosa.

Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la lignina peroxidasa es isoenzima H1 o una forma modificada de isoenzima H2.

10 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la lignina peroxidasa es una lignina peroxidasa de un hongo de podredumbre blanca.

15 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la lignina peroxidasa es un extracto de un hongo *Phanerochaete chrysosporium*.

Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la lignina peroxidasa se expresa de manera recombinante.

20 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la lignina peroxidasa comprende una secuencia polipeptídica expuesta en la SEQ ID NO: 1.

25 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la composición cosmética está en una forma seleccionada del grupo que consiste en una mascarilla, un suero, una loción, una crema, un champú, un gel y un tónico.

Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la composición comprende además un vehículo cosméticamente aceptable y/o vehículo farmacéuticamente aceptable.

30 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la composición comprende además un vehículo cosméticamente aceptable.

Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la composición se envasa en un recipiente hermético.

35 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, el recipiente hermético está configurado para administrar la composición sin entrada de aire en el recipiente.

40 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la enzima productora de peróxido de hidrógeno forma parte de una primera composición del equipo y el sustrato forma parte de una segunda composición del equipo, envasándose la primera y segunda composiciones individualmente dentro del equipo.

45 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la primera composición comprende además lignina peroxidasa.

Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la segunda composición comprende además lignina peroxidasa.

50 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la lignina peroxidasa forma parte de una tercera composición dentro del equipo, envasándose la tercera composición individualmente dentro del equipo.

55 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la enzima productora de peróxido de hidrógeno y el sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno se envasan juntos en un envase hermético dentro del equipo.

Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, el envase hermético es un recipiente configurado para administrar la composición sin entrada de aire en el recipiente.

60 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, una concentración de lignina peroxidasa en una composición que comprende la lignina peroxidasa está en un intervalo de 2,5 a 250 unidades/gramo.

65 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, el equipo comprende un mediador de oxidación, la enzima productora de peróxido de hidrógeno, el sustrato de dicha enzima

productora de peróxido de hidrógeno y la lignina peroxidasa.

Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, el mediador de oxidación forma parte de una composición que comprende la lignina peroxidasa.

5 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, una concentración del mediador de oxidación en la composición está en un intervalo de 0,06 μ moles/gramo a 600 μ moles/gramo.

10 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, una concentración de la enzima productora de peróxido de hidrógeno en una composición que comprende la enzima está en un intervalo de 0,25 a 2500 unidades/gramo.

15 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, una concentración del sustrato en una composición que comprende el sustrato está en un intervalo de 0,035 μ moles/gramo a 350 μ moles/gramo.

20 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, el equipo comprende:

una primera composición que comprende lignina peroxidasa a una concentración en un intervalo de 2,5 a 250 unidades/gramo y glucosa oxidasa a una concentración en un intervalo de 2,5 a 250 unidades/gramo; y
una segunda composición que comprende D-glucosa a una concentración en un intervalo de 0,35 μ moles/gramo a 35 μ moles/gramo.

25 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la composición que se envasa individualmente dentro del equipo está en una forma seleccionada del grupo que consiste en una mascarilla, un suero, una loción, una crema, un champú, un gel y un tónico.

30 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la composición que se envasa individualmente dentro del equipo comprende además un vehículo cosméticamente aceptable.

35 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la composición está formada por una lignina peroxidasa, una enzima productora de peróxido de hidrógeno y un sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno envasados dentro de un equipo descrito anteriormente en el presente documento.

40 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, el contacto se efectúa al menos cinco veces.

Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, el contacto se efectúa una o dos veces al día.

45 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la composición se forma poniendo en contacto la región de la piel y/o el pelo con la enzima productora de peróxido de hidrógeno y/o el sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno después de poner en contacto la región de la piel y/o el pelo con la lignina peroxidasa.

50 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la piel comprende piel facial.

55 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la piel comprende una región de la piel expuesta al sol.

Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, el aclaramiento de la piel comprende aclarar el tono de toda la piel.

60 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la piel comprende un tono de piel desigual, mancha o manchas oscuras, peca o pecas, melasma, hiperpigmentación, descoloración de la piel, mancha o manchas de la edad, marca o marcas de acné y/o una cicatriz.

65 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la composición comprende además al menos un agente que presenta una actividad cosmética o farmacéutica en presencia de peróxido de hidrógeno.

Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, el al menos un agente se selecciona del grupo que consiste en una peroxidasa y un precursor de colorante oxidativo.

5 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la composición se selecciona del grupo que consiste en una composición blanqueadora, una composición de tinte para el pelo, una composición antimicrobiana y una composición para eliminación de olores.

10 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, el equipo comprende además al menos un agente que presenta una actividad cosmética o farmacéutica en presencia de peróxido de hidrógeno.

15 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la primera composición comprende glucosa oxidasa a una concentración en un intervalo de 2,5 a 250 unidades/gramo y la segunda composición comprende D-glucosa a una concentración en un intervalo de 0,35 μ moles/gramo a 35 μ moles/gramo.

20 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la primera composición y la segunda composición están cada una de manera independiente en una forma seleccionada del grupo que consiste en una mascarilla, un suero, una loción, una crema, un champú, un gel y un tónico.

Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la primera composición y la segunda composición comprenden además un vehículo cosméticamente aceptable y/o vehículo farmacéuticamente aceptable.

25 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la composición está formada por una enzima productora de peróxido de hidrógeno y un sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno envasados dentro de un equipo descrito anteriormente en el presente documento.

30 Según algunas de cualquiera de las realizaciones de la invención, y cualquier combinación de las mismas, la composición de un método como se ha descrito anteriormente en el presente documento es cualquiera de las composiciones descritas en el presente documento, incluyendo una cualquiera de las realizaciones de las mismas, en cualquier combinación.

35 A menos que se definan de otra manera, todos los términos técnicos y/o científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que el entendido habitualmente por un experto en la materia a la que pertenece la invención. Aunque pueden usarse métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento en la práctica o el ensayo de realizaciones de la invención, a continuación, se describen métodos y/o materiales ilustrativos. En caso de conflicto, la memoria descriptiva de la patente, incluyendo las definiciones, prevalecerá. Además, los materiales, métodos y ejemplos son solamente ilustrativos y no se pretende que sean necesariamente limitantes.

Breve descripción de los dibujos

45 Algunas realizaciones de la invención se describen en el presente documento, únicamente a modo de ejemplo, haciendo referencia a los dibujos adjuntos. Haciendo referencia específica ahora a los dibujos en detalle, se subraya que los detalles mostrados son a modo de ejemplo y para fines de análisis ilustrativo de realizaciones de la invención. En este sentido, la descripción tomada con los dibujos hace evidente para los expertos en la materia cómo se pueden practicar realizaciones de la invención.

50 En los dibujos:

La FIG. 1 presenta imágenes que muestran una crema enzimática ilustrativa que comprende 25 unidades/gramo de fracción H1 de isoenzima lignina peroxidasa (LIP), 25 unidades/gramo de glucosa oxidasa (GOX) y 6 mmol/kg de alcohol veratrílico (VA) con 140 μ g/ml de melanina (LIP/VA/GOX) y una crema activadora ilustrativa que comprende 3,5 mmol/kg de glucosa (GLU), una crema enzimática de control que comprende 25 unidades/gramo de fracción H1 de isoenzima LIP y 6 mmol/kg de VA con 140 μ g/ml de melanina (LIP/VA) y crema activadora de control que comprende 3,53 mmol/kg de H₂O₂, así como una mezcla de la enzima ilustrativa y la crema activadora (LIP/VA/GOX/GLU) y una mezcla de la enzima de control y la crema activadora (LIP/VA/H₂O₂);

60 Las FIG. 2A y 2B presentan gráficos de barras que muestran valores para un índice de melanina (FIG. 2A) y un índice de eritema (FIG. 2B) en diversas regiones faciales de un sujeto los días 0, 7 y 21 de un tratamiento que comprende la administración dos veces al día de isoenzima LIP HI, glucosa oxidasa y glucosa, según una realización ilustrativa de la invención (*p<0,05 frente al día 0);

65 Las FIG. 3A y 3B presentan gráficos de barras que muestran valores para un índice de melanina (FIG. 3A) y un índice de eritema (FIG. 3B) en diversas regiones faciales de un sujeto los días 0 y 21 de un tratamiento que comprende la administración dos veces al día de isoenzima LIP HI, glucosa oxidasa y glucosa, según una realización ilustrativa de la invención (*p<0,05 frente al día 0);

- Las FIG. 4A y 4B presentan gráficos de barras que muestran valores para un índice de melanina (FIG. 4A) y un índice de eritema (FIG. 4B) en diversas regiones faciales de un sujeto los días 0, 7 y 21 de un tratamiento que comprende la administración dos veces al día de isoenzima LIP HI, glucosa oxidasa y glucosa, según una realización ilustrativa de la invención (* $p < 0,05$ frente al día 0);
- 5 Las FIG. 5A y 5B presentan gráficos de barras que muestran valores para un índice de melanina (FIG. 5A) y un índice de eritema (FIG. 5B) en diversas regiones faciales de un sujeto los días 0, 7 y 21 de un tratamiento que comprende la administración dos veces al día de isoenzima LIP HI, glucosa oxidasa y glucosa, según una realización ilustrativa de la invención (* $p < 0,05$ frente al día 0, # $p < 0,05$ frente al día 7);
- 10 Las FIG. 6A y 6B presentan gráficos de barras que muestran valores para un índice de melanina (FIG. 6A) y un índice de eritema (FIG. 6B) en diversas regiones faciales de un sujeto los días 0, 7 y 21 de un tratamiento que comprende la administración dos veces al día de isoenzima LIP HI, glucosa oxidasa y glucosa, según una realización ilustrativa de la invención (* $p < 0,05$ frente al día 0, # $p < 0,05$ frente al día 7);
- 15 Las FIG. 7A y 7B presentan gráficos de barras que muestran valores para un índice de melanina (FIG. 7A) y un índice de eritema (FIG. 7B) en diversas regiones faciales de un sujeto los días 0, 7 y 21 de un tratamiento que comprende la administración dos veces al día de isoenzima LIP HI, glucosa oxidasa y glucosa, según una realización ilustrativa de la invención (* $p < 0,05$ frente al día 0, # $p < 0,05$ frente al día 7);
- 20 Las FIG. 8A y 8B presentan gráficos de barras que muestran valores para un índice de melanina (FIG. 8A) y un índice de eritema (FIG. 8B) en diversas regiones faciales de un sujeto los días 0 y 7 de un tratamiento que comprende la administración dos veces al día de isoenzima LIP HI, glucosa oxidasa y glucosa, según una realización ilustrativa de la invención (* $p < 0,05$ frente al día 0);
- 25 Las FIG. 9A y 9B presentan gráficos de barras que muestran valores para un índice de melanina (FIG. 9A) y un índice de eritema (FIG. 9B) en diversas regiones faciales de un sujeto los días 0, 7 y 21 de un tratamiento que comprende la administración dos veces al día de isoenzima LIP H1, glucosa oxidasa y glucosa, según una realización ilustrativa de la invención (* $p < 0,05$ frente al día 0, # $p < 0,05$ frente al día 7; aumento del índice de eritema en las mejillas el día 21 debido a irritación no relacionada con el tratamiento);
- 30 Las FIG. 10A y 10B presentan gráficos que muestran el índice de melanina de la piel pigmentada (FIG. 10A) y no pigmentada (FIG. 10B) después de 0, 4, 6 y 8 semanas de un tratamiento que comprende la administración dos veces al día de isoenzima LIP HI, glucosa oxidasa y glucosa, según una realización ilustrativa de la invención (** $p < 0,01$ ($p = 0,001$ en la FIG. 10A y $p = 0,007$ en la FIG. 10B), *** $p < 0,001$);
- 35 La FIG. 11 presenta una escala análoga visual que muestra uniformidad de pigmentación de la piel, según lo valorado por un dermatólogo, después de 0, 4, 6 y 8 semanas de un tratamiento que comprende la administración dos veces al día de isoenzima LIP HI, glucosa oxidasa y glucosa, según una realización ilustrativa de la invención (0 = uniforme, homogénea, 10 = desigual, con manchas, moteada, * $p < 0,05$);
- 40 La FIG. 12 presenta una escala análoga visual que muestra la claridad de la piel, según lo valorado por un dermatólogo, después de 0, 4, 6 y 8 semanas de un tratamiento que comprende la administración dos veces al día de isoenzima LIP HI, glucosa oxidasa y glucosa, según una realización ilustrativa de la invención (0 = clara, homogénea, 10 = mate, opaca, * $p < 0,05$, ** $P < 0,01$);
- 45 La FIG. 13 presenta una escala análoga visual que muestra aclaramiento/brillo de la piel, según lo valorado por un dermatólogo, después de 0, 4, 6 y 8 semanas de un tratamiento que comprende la administración dos veces al día de isoenzima LIP HI, glucosa oxidasa y glucosa, según una realización ilustrativa de la invención (0 = aspecto claro/brillante, 10 = mate, sin brillo, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$);
- 50 La FIG. 14 presenta una escala análoga visual que muestra el tono de la piel, según lo valorado por un dermatólogo, después de 0, 4, 6 y 8 semanas de un tratamiento que comprende la administración dos veces al día de isoenzima LIP HI, glucosa oxidasa y glucosa, según una realización ilustrativa de la invención (0 = homogénea, color de piel saludable, 10 = desigual, apariencia descolorida, * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$);
- 55 La FIG. 15 presenta una escala análoga visual que muestra la luminosidad de la piel, según lo valorado por un dermatólogo, después de 0, 4, 6 y 8 semanas de un tratamiento que comprende la administración dos veces al día de isoenzima LIP HI, glucosa oxidasa y glucosa, según una realización ilustrativa de la invención (0 = radiante, apariencia luminosa, 10 = mate, sin brillo, apariencia cetrina, *** $p < 0,001$);
- La FIG. 16 presenta una escala análoga visual que muestra la apariencia general de la piel, según lo valorado por un dermatólogo, después de 0, 4, 6 y 8 semanas de un tratamiento que comprende la administración dos veces al día de isoenzima LIP HI, glucosa oxidasa y glucosa, según una realización ilustrativa de la invención (0 = aspecto saludable, 10 = aspecto poco saludable, *** $p < 0,001$); y
- La FIG. 17 presenta fotografías de sujetos antes (punto de referencia) y después de 8 semanas de un tratamiento que comprende la administración dos veces al día de isoenzima LIP H1, glucosa oxidasa y glucosa, según una realización ilustrativa de la presente invención.

Descripción de realizaciones específicas de la invención

- 60 La presente invención, en algunas realizaciones de la misma, se refiere a nuevas composiciones, equipos y métodos cosméticos y, más en particular, pero no de manera exclusiva, a composiciones, equipos y métodos cosméticos productores de peróxido de hidrógeno, y a usos de los mismos en, por ejemplo, aclaramiento de la piel y/o el pelo.

- 65 Antes de explicar al menos una realización de la invención en detalle, debe entenderse que la invención no se limita necesariamente en su aplicación a los detalles expuestos en la siguiente descripción o ilustrados por los ejemplos. La invención tiene capacidad para otras realizaciones o puede practicarse o llevarse a cabo de diversas maneras.

5 Se han desvelado previamente métodos para aclarar la piel de un sujeto, usando peróxido de hidrógeno y una lignina peroxidasa (véase, por ejemplo, publicación de solicitud de patente internacional WO 2012/153336, analizada anteriormente en el presente documento). Dichos métodos requieren la utilización de composiciones que contienen peróxido de hidrógeno.

Muchas otras composiciones y métodos cosméticos incluyen o utilizan peróxido de hidrógeno.

10 Sin embargo, se ha reconocido recientemente que la utilización de peróxido de hidrógeno en aplicaciones cosméticas no es deseable.

15 En una búsqueda de metodologías en las que se evite la necesidad de utilizar composiciones que contengan peróxido de hidrógeno, los presentes inventores han concebido, ideado y practicado con éxito una nueva metodología que utiliza un sistema enzimático para generar peróxido de hidrógeno tras su aplicación. De manera más específica, los presentes inventores han utilizado una enzima productora de peróxido de hidrógeno y un sustrato de la misma, para generar peróxido de hidrógeno en el sitio, inmediatamente antes de la aplicación de una composición o un sistema que los contenga y/o durante la aplicación de una composición o sistema que los contenga. El sistema enzimático es fácilmente controlable manteniendo la enzima y el sustrato separados, hasta que se desee la generación de peróxido de hidrógeno y/o manteniendo la enzima y el sustrato inactivos entre sí, por almacenamiento en ausencia de oxígeno. La metodología desvelada en el presente documento es ventajosa porque es capaz de generar el peróxido de hidrógeno gradualmente en el sitio, donde se consume, de modo que una concentración de peróxido de hidrógeno permanezca baja y estable a lo largo del tiempo.

20 Al reducir la presente invención a la práctica, los inventores han demostrado la eficacia de un sistema enzimático para generar peróxido de hidrógeno para activar lignina peroxidasa para aclarar la piel.

25 Por tanto, como se muestra en la sección de ejemplos a continuación, los presentes inventores han diseñado una composición cosmética que comprende lignina peroxidasa y una composición activadora que comprende glucosa, que cuando se aplican juntos (p. ej., en una región de la piel de un sujeto) da como resultado un efecto blanqueador significativo como resultado de la reducción en el contenido de melanina (figuras 1-9B), debido a la interacción de lignina peroxidasa con peróxido de hidrógeno generado por la glucosa oxidasa y glucosa.

30 Estos resultados demuestran la eficacia del uso de un sistema de enzima/sustrato para generar peróxido de hidrógeno en el sitio (es decir, en o sobre una región del cuerpo donde se pretende que reaccione (p. ej., con melanina en una reacción catalizada por peroxidasa).

35 Según un aspecto de algunas realizaciones de la invención, se proporciona una composición cosmética o farmacéutica para aplicación tópica (p. ej., para aplicación en la piel, el pelo y/o las uñas de un sujeto). Según algunas realizaciones de la presente invención, la composición comprende un sistema enzimático productor de peróxido de hidrógeno, concretamente, una enzima productora de peróxido de hidrógeno y un sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno.

40 Como se usa a lo largo del presente documento, el término "cosmético" con respecto a cualquiera de las composiciones, equipos y métodos (y cualquier otro aspecto) divulgados en el presente documento, se refiere a composiciones, equipos y métodos que mejoran la apariencia u olor del cuerpo humano.

45 En algunas realizaciones, el término "cosmético" sigue la definición de las autoridades reguladoras de todo el mundo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el término "cosmético" sigue la definición de la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA), como "destinado a ser aplicado al cuerpo humano para limpiar, embellecer, promover el atractivo o alterar la apariencia sin afectar la estructura o las funciones del cuerpo".

El sistema enzimático productor de peróxido de hidrógeno:

50 Como se usa a lo largo del presente documento, la expresión "enzima productora de peróxido de hidrógeno" se refiere a una enzima que cataliza una reacción en la que el peróxido de hidrógeno es un producto.

55 Como se usa a lo largo del presente documento, el "sustrato" de una enzima productora de peróxido de hidrógeno se refiere a cualquier compuesto distinto de O₂ o agua que actúa como sustrato para la reacción mencionada anteriormente catalizada por la enzima productora de peróxido de hidrógeno en la que el peróxido de hidrógeno es un producto. El "sustrato" puede ser un único compuesto o una pluralidad de compuestos. La pluralidad de compuestos puede interactuar con la enzima como parte de diferentes reacciones o la enzima cataliza una única reacción que utiliza una pluralidad de compuestos como sustratos.

60 En algunas realizaciones, la enzima cataliza una reacción en la que el sustrato se oxida y O₂ se reduce a peróxido de hidrógeno.

En algunas realizaciones, la enzima cataliza una reacción en la que el sustrato se reduce y el agua se oxida a peróxido de hidrógeno.

5 Los ejemplos de enzimas productoras de peróxido de hidrógeno que pueden usarse en realizaciones de la invención incluyen, sin limitación:

una oxidoreductasa EC 1.1.3 tal como, por ejemplo, una glucosa oxidasa (EC 1.1.3.4), una hexosa oxidasa (EC 1.1.3.5), una colesterol oxidasa (EC 1.1.3.6), una aril alcohol oxidasa (EC 1.1.3.7), una L-gulonolactona oxidasa (EC 1.1.3.8), una galactosa oxidasa (EC 1.1.3.9), una piranososa-2-oxidasa (EC 1.1.3.10), una piridoxina-4-oxidasa (EC 1.1.3.12), una alcohol oxidasa (EC 1.1.3.13), un 2-hidroxiácido oxidasa (EC 1.1.3.15), una colina oxidasa (EC 1.1.3.17), una alcohol oxidasa de cadena larga (EC 1.1.3.20), una glicerol-3-fosfato oxidasa (EC 1.1.3.21), una D-arabinono-1,4-lactona oxidasa (EC 1.1.3.37), una vainillil alcohol oxidasa (EC 1.1.3.38), una alditol oxidasa (EC 1.1.3.41), una prosolanapirona II oxidasa (EC 1.1.3.42), una paromamina 6'-oxidasa (EC 1.1.3.43), una glioxal oxidasa y una veratril alcohol oxidasa; una alcohol deshidrogenasa (EC 1.1.99.8); una celobiosa deshidrogenasa (EC 1.1.99.18);
 una oxidoreductasa EC 1.2.3 tal como, por ejemplo, una aldehído oxidasa (EC 1.2.3.1), una oxalato oxidasa (EC 1.2.3.4) y una aril aldehído oxidasa (EC 1.2.3.9);
 una oxidoreductasa EC 1.3.3 tal como, por ejemplo, una dihidroorotato oxidasa (EC 1.3.3.1) y una pirroloquinolina-quinona sintasa (EC 1.3.3.11);
 una oxidoreductasa EC 1.4.3 tal como, por ejemplo, una L-aminoácido oxidasa (EC 1.4.3.2) y una L-glutamato oxidasa (1.4.3.11);
 una oxidoreductasa EC 1.5.3 tal como, por ejemplo, una poliamina oxidasa (1.5.3.11); una oxidoreductasa EC 1.6.3 tal como, por ejemplo, una NAD(P)H oxidasa (1.6.3.1);
 una oxidoreductasa EC 1.7.3 tal como, por ejemplo, una urato oxidasa (EC 1.7.3.3) y una hidroxilamina oxidasa (EC 1.7.3.4);
 una oxidoreductasa EC 1.8.3 tal como, por ejemplo, una tiol oxidasa (EC 1.8.3.2) y una glutatión oxidasa (EC 1.8.3.3); una oxidoreductasa EC 1.9.3, tal como, por ejemplo, una citocromo c oxidasa (EC 1.9.3.1); una oxidoreductasa EC 1.17.3 tal como, por ejemplo, una xantina oxidasa (EC 1.17.3.2); y una superóxido dismutasa (EC 1.15.1.1).

30 La nomenclatura de EC en el presente documento es según la Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular.

En algunas realizaciones, la enzima productora de peróxido de hidrógeno es una o más de una oxidoreductasa EC 1.1.3, una oxidoreductasa EC 1.2.3, una oxidoreductasa EC 1.3.3, una oxidoreductasa EC 1.4.3, una oxidoreductasa EC 1.5.3, una oxidoreductasa EC 1.6.3, una oxidoreductasa EC 1.7.3, una oxidoreductasa EC 1.8.3, una oxidoreductasa EC 1.9.3 y una oxidoreductasa EC 1.17.3 (p. ej., tal como una oxidoreductasa descrita en el presente documento).

En algunas realizaciones, se incluye una superóxido dismutasa para producir peróxido de hidrógeno a partir de superóxido, en combinación con una fuente de superóxido. En algunas realizaciones, la fuente de superóxido es una enzima que produce superóxido, por ejemplo, una NAD(P)H oxidasa y/o una xantina oxidasa.

En algunas realizaciones, la enzima productora de peróxido de hidrógeno produce superóxido. Como el superóxido normalmente reacciona en una medida considerable para formar peróxido de hidrógeno (p. ej., por dismutación), en el presente documento se considera que la producción de superóxido abarca la producción de peróxido de hidrógeno.

Los sustratos adecuados de la enzima productora de peróxido de hidrógeno serán evidentes para el experto.

En realizaciones ilustrativas, la enzima es una glucosa oxidasa (EC 1.1.3.4) y el sustrato comprende D-glucosa.

En algunas realizaciones, la enzima es una hexosa oxidasa (EC 1.1.3.5) y el sustrato comprende D-glucosa, D-galactosa, D-manosa, maltosa, lactosa y/o celobiosa.

En algunas realizaciones, la enzima es una colesterol oxidasa (EC 1.1.3.6) y el sustrato comprende colesterol.

En algunas realizaciones, la enzima es una aril alcohol oxidasa (EC 1.1.3.7) y el sustrato comprende un alcohol aromático primario.

En algunas realizaciones, la enzima es una L-gulonolactona oxidasa (EC 1.1.3.8) y el sustrato comprende L-gulonolactona.

En algunas realizaciones, la enzima es una galactosa oxidasa (EC 1.1.3.9) y el sustrato comprende un alcohol primario (p. ej., metanol, etanol, n-propanol, n-butanol, isobutanol), un monosacárido, un oligosacárido y/o un polisacárido.

65 En algunas realizaciones, la enzima es una piranososa-2-oxidasa (EC 1.1.3.10) y el sustrato comprende una aldopiranososa (p. ej., D-glucosa, D-xilosa, D-galactosa), L-sorbosa y/o 1,5-anhidroglucitol, y/o disacáridos de las

ES 2 771 048 T3

- mismas. Debe apreciarse que la piranosa-2-oxidasa es una fuente natural de peróxido de hidrógeno para activar la lignina celulosa.
- 5 En algunas realizaciones, la enzima es una piridoxina-4-oxidasa (EC 1.1.3.12) y el sustrato comprende piridoxina.
- En algunas realizaciones, la enzima es una alcohol oxidasa (EC 1.1.3.13) y el sustrato comprende un alcohol primario (p. ej., metanol, etanol, n-propanol, n-butanol, isobutanol).
- 10 En algunas realizaciones, la enzima es una 2-hidroxiácido oxidasa (EC 1.1.3.15) y el sustrato comprende un (S)-2-hidroxiácido (p. ej., glicolato, 2-hidroxi-glutarato) y/o un (S)-2-aminoácido.
- En algunas realizaciones, la enzima es una colina oxidasa (EC 1.1.3.17) y el sustrato comprende colina y/o glicina betaína aldehído.
- 15 En algunas realizaciones, la enzima es una alcohol oxidasa de cadena larga (EC 1.1.3.20) y el sustrato es un alcohol de cadena larga (p. ej., un alcohol graso).
- En algunas realizaciones, la enzima es una glicerol-3-fosfato oxidasa (EC 1.1.3.21) y el sustrato comprende glicerol-3-fosfato.
- 20 En algunas realizaciones, la enzima es una D-arabinono-1,4-lactona oxidasa (EC 1.1.3.37) y el sustrato comprende L-gulono-1,4-lactona, D-arabinono-1,4-lactona y/o L-galactono-1,4-lactona.
- En algunas realizaciones, la enzima es una vainillil alcohol oxidasa (EC 1.1.3.38) y el sustrato comprende un 4-alilfenol, un alcohol 4-hidroxibencílico (p. ej., alcohol vainílico), un 4-hidroxibenzamina y/o un 4-(metoximetil)fenol.
- 25 En algunas realizaciones, la enzima es una alditol oxidasa (EC 1.1.3.41) y el sustrato comprende un alditol (p. ej., xilitol, D-sorbitol).
- 30 En algunas realizaciones, la enzima es una prosolanapirona II oxidasa (EC 1.1.3.42) y el sustrato comprende prosolanapirona II.
- En algunas realizaciones, la enzima es una paromamina 6'-oxidasa (EC 1.1.3.43) y el sustrato comprende paromamina y/o 6'''-desamino-6'''hidroxineomicina C.
- 35 En algunas realizaciones, la enzima es una veratril alcohol oxidasa y el sustrato es un alcohol primario (4-metoxi)-aromático (p. ej., alcohol veratrilico).
- En algunas realizaciones, la enzima es una glioxal oxidasa y el sustrato es glioxal, un alquil glioxal (p. ej., metil glioxal) y/o celobiosa.
- 40 En algunas realizaciones, la enzima es una alcohol deshidrogenasa (EC 1.1.99.8) y el sustrato comprende un alcohol primario (p. ej., metanol, etanol, n-propanol, n-butanol, isobutanol).
- 45 En algunas realizaciones, la enzima es una celobiosa deshidrogenasa (EC 1.1.99.18) y el sustrato comprende celobiosa, un cello-oligosacárido, lactosa y/o D-glucosil-1,4-β-D-manosa.
- En algunas realizaciones, la enzima es una aldehído oxidasa (EC 1.2.3.1) y el sustrato comprende un aldehído.
- 50 En algunas realizaciones, la enzima es una oxalato oxidasa (EC 1.2.3.4) y el sustrato comprende oxalato.
- En algunas realizaciones, la enzima es una aril aldehído oxidasa (EC 1.2.3.9) y el sustrato comprende un aldehído aromático (p. ej., benzaldehído, vainillina).
- 55 En algunas realizaciones, la enzima es una dihidroorotato oxidasa (EC 1.3.3.1) y el sustrato comprende dihidroorotato.
- En algunas realizaciones, la enzima es una pirroloquinolina-quinona sintasa (EC 1.3.3.11) y el sustrato comprende 6-(2-amino-2-carboxietil)-7,8-dioxo-1,2,3,4,7,8-hexahidroquinolina-2,4-dicarboxilato.
- 60 En algunas realizaciones, la enzima es una L-aminoácido oxidasa (EC 1.4.3.2) y el sustrato comprende un L-aminoácido.
- En algunas realizaciones, la enzima es una L-glutamato oxidasa (1.4.3.11) y el sustrato comprende L-glutamato.
- 65 En algunas realizaciones, la enzima es una poliamina oxidasa (1.5.3.11) y el sustrato comprende Ni-acetilespermina.

ES 2 771 048 T3

En algunas realizaciones, la enzima es una NAD(P)H oxidasa (1.6.3.1) y el sustrato comprende NADH y/o nadph.

En algunas realizaciones, la enzima es una urato oxidasa (EC 1.7.3.3) y el sustrato comprende urato.

5 En algunas realizaciones, la enzima es una hidroxilamina oxidasa (EC 1.7.3.4) y el sustrato comprende una hidroxilamina.

En algunas realizaciones, la enzima es una tiol oxidasa (EC 1.8.3.2) y el sustrato comprende un grupo tiol.

10 En algunas realizaciones, la enzima es una glutatión oxidasa (EC 1.8.3.3) y el sustrato comprende glutatión y/o cisteína.

En algunas realizaciones, la enzima es una citocromo c oxidasa (EC 1.9.3.1) y el sustrato comprende ferrocitocromo c.

15 En algunas realizaciones, la enzima es una xantina oxidasa (EC 1.17.3.2) y el sustrato comprende xantina y/o hipoxantina.

20 La enzima productora de peróxido de hidrógeno descrita en el presente documento (p. ej., glucosa oxidasa) puede obtenerse, por ejemplo, de un proveedor comercial, mediante extracción de una fuente natural y/o mediante expresión recombinante. Se describen procedimientos generales para expresar una proteína en detalle a continuación en el presente documento y se pueden usar para expresar una enzima productora de peróxido de hidrógeno descrita en el presente documento.

25 *Las composiciones productoras de peróxido de hidrógeno:*

Una composición productora de peróxido de hidrógeno como se describe en el presente documento produce peróxido de hidrógeno siempre que la enzima productora de peróxido de hidrógeno y su sustrato entren en contacto entre sí en presencia de oxígeno (o aire) y/o agua.

30 Debe entenderse que una composición productora de peróxido de hidrógeno según una cualquiera de las realizaciones relacionadas con dichas composiciones (p. ej., como se describe en esta sección) puede utilizar un sistema productor de peróxido de hidrógeno según una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento relacionadas con dichos sistemas.

35 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, cualquiera de las composiciones descritas en el presente documento se prepara en el sitio, es decir, en el sitio de aplicación (p. ej., piel, pelo y/o uña) del sujeto, poniendo en contacto diferentes componentes de la composición entre sí. En algunas realizaciones, la generación de peróxido de hidrógeno comienza solo al entrar en contacto la enzima productora de peróxido de hidrógeno con el sustrato de la misma en el sitio.

40 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la composición se prepara en el sitio de aplicación (p. ej., piel, pelo y/o uña) del sujeto, poniendo en contacto el sitio de aplicación con una parte de la composición que comprende la enzima y poniendo en contacto a continuación el sitio de aplicación con una parte de la composición que comprende el sustrato de la enzima, o viceversa, poniendo en contacto el sitio de aplicación con una parte de la composición que comprende el sustrato de la enzima y poniendo en contacto a continuación el sitio de aplicación con una parte de la composición que comprende la enzima.

45 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la composición se prepara poco antes de entrar en contacto con el sitio de aplicación (p. ej., piel, pelo y/o uña) del sujeto, poniendo en contacto una parte de la composición que comprende el sustrato de la enzima con una parte de la composición que comprende el sustrato de la enzima y poniendo en contacto a continuación la composición resultante con el sitio de aplicación (p. ej., piel, pelo y/o uñas) de un sujeto.

50 La composición puede prepararse a partir de componentes envasados en un equipo, como se describe con más detalle a continuación en el presente documento.

55 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la composición se envasa en un recipiente y se puede usar bastante después de su envasado.

60 En algunas de cualquiera de estas realizaciones, una composición comprende la enzima productora de peróxido de hidrógeno en contacto con su sustrato, pero se inhibe la producción por la enzima en la composición de peróxido de hidrógeno debido a la falta de oxígeno en el recipiente.

65 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el recipiente es hermético, para limitar la cantidad de oxígeno que la enzima puede usar para producir peróxido de hidrógeno.

En el presente documento, el término "hermético" se refiere a un envase y/o recipiente sellado de tal manera que no haya aberturas que permitan la entrada o salida de gases tales como oxígeno, y en donde el envase y/o recipiente esté formado por un material que es sustancialmente impermeable a dichos gases.

5 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el aire se expulsa del envase y/o recipiente antes de sellar, por ejemplo, sometiendo el envase y/o recipiente a una presión reducida y/o purgando el envase y/o recipiente con un gas que no contiene oxígeno (p. ej., nitrógeno).

10 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el recipiente hermético está configurado para distribuir la composición (p. ej., distribuir más de una vez) sin entrada de aire en el recipiente, para evitar la producción de peróxido de hidrógeno en el recipiente después de distribuir parte de la composición.

15 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el recipiente tiene un volumen que disminuye tras la distribución, de modo que el recipiente tiene poco o ningún espacio para que entre aire, incluso cuando el volumen de la composición en el recipiente disminuye tras la distribución. Los ejemplos de dichos recipientes incluyen, por ejemplo, un tubo flexible (p. ej., similar a un tubo de pasta de dientes) que distribuye una composición cuando se somete a presión, y un recipiente que comprende un pistón que se mueve cuando se distribuye una composición.

20 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una abertura del recipiente (p. ej., una boquilla) comprende una válvula configurada para abrirse solo cuando una composición sale del recipiente a través de la abertura, momento en el cual la composición que se distribuye obstruye la entrada de aire a través de la abertura.

25 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una composición comprende la enzima productora de peróxido de hidrógeno en contacto con su sustrato, pero se inhibe la producción por la enzima en la composición de peróxido de hidrógeno debido a la falta de agua o humedad en el recipiente. Se conocen bien en la técnica medios para envasado en un entorno sin humedad.

30 En realizaciones donde la composición se envasa en un recipiente, el recipiente puede identificarse para su uso en cualquier aplicación cosmética que requiera peróxido de hidrógeno, como se describe con más detalle a continuación en el presente documento.

35 Las concentraciones de la enzima productora de peróxido de hidrógeno y el sustrato de la misma pueden seleccionarse para dar como resultado una velocidad adecuada de producción de peróxido de hidrógeno. El experto en la materia puede determinar una tasa adecuada de peróxido de hidrógeno basándose en una concentración deseada (p. ej., concentración en estado estacionario) de peróxido de hidrógeno (que dependerá del uso pretendido de la composición) y en una tasa a la que se consume el peróxido de hidrógeno, que dependerá, por ejemplo, en una concentración y reactividad de compuestos que reaccionan con peróxido de hidrógeno (p. ej., agentes tales como los descritos en el presente documento).

40 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el contexto de una composición productora de peróxido de hidrógeno, una concentración de la enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., glucosa oxidasa) en la composición está en un intervalo de 0,125 a 1250 unidades/gramo. En la realización de la invención, la concentración está en un intervalo de 1,25 a 125 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 4 a 40 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 6 a 20 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración es de aproximadamente 12,5 unidades/gramo.

45 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el contexto de una composición productora de peróxido de hidrógeno, una concentración de la enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., glucosa oxidasa) en la composición está en un intervalo de 1,25 a 1250 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 4 a 1250 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 12,5 a 1250 unidades/gramo.

50 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el contexto de una composición productora de peróxido de hidrógeno, una concentración de la enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., glucosa oxidasa) en la composición está en un intervalo de 0,125 a 125 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 0,125 a 40 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 0,125 a 12,5 unidades/gramo.

55 Como se usa en el presente documento y en la técnica, una "unidad" de una enzima se refiere a una cantidad de la enzima que cataliza una conversión de 1 micromol de un sustrato (p. ej., un sustrato como se describe en el presente documento) por minuto, a una temperatura de 25 °C y a concentraciones de sustrato que producen una tasa de conversión máxima.

En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 6 a 20 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima es de aproximadamente 12,5 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la enzima es glucosa oxidasa y el sustrato es glucosa.

- 5 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el contexto de una composición productora de peróxido de hidrógeno, una concentración de la enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., glucosa oxidasa) en la composición está en un intervalo de 0,125 a 1250 unidades/gramo y una concentración del sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., glucosa) en la composición está en un intervalo de 0,0175 a 6 µmoles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 1,25 a 125 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 4 a 40 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 6 a 20 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima es de aproximadamente 12,5 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la enzima es glucosa oxidasa y el sustrato es glucosa.
- 10
- 15 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el contexto de una composición productora de peróxido de hidrógeno, una concentración de la enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., glucosa oxidasa) en la composición está en un intervalo de 0,125 a 1250 unidades/gramo y una concentración del sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., glucosa) en la composición está en un intervalo de 0,5 a 6 µmoles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 1,25 a 125 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 4 a 40 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 6 a 20 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima es de aproximadamente 12,5 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la enzima es glucosa oxidasa y el sustrato es glucosa.
- 20
- 25 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el contexto de una composición productora de peróxido de hidrógeno, una concentración de la enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., glucosa oxidasa) en la composición está en un intervalo de 0,125 a 1250 unidades/gramo y una concentración del sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., glucosa) en la composición está en un intervalo de 1,75 a 175 µmoles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 1,25 a 125 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 4 a 40 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 6 a 20 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima es de aproximadamente 12,5 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la enzima es glucosa oxidasa y el sustrato es glucosa.
- 30
- 35 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el contexto de una composición productora de peróxido de hidrógeno, una concentración de la enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., glucosa oxidasa) en la composición está en un intervalo de 0,125 a 1250 unidades/gramo y una concentración del sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., glucosa) en la composición está en un intervalo de 0,0175 a 1,75 µmoles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 1,25 a 125 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 4 a 40 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 6 a 20 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima es de aproximadamente 12,5 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la enzima es glucosa oxidasa y el sustrato es glucosa.
- 40
- 45 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el contexto de una composición productora de peróxido de hidrógeno, una concentración de la enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., glucosa oxidasa) en la composición está en un intervalo de 0,125 a 1250 unidades/gramo y una concentración del sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., glucosa) en la composición está en un intervalo de 1 a 3,5 µmoles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 1,25 a 125 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 4 a 40 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 6 a 20 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima es de aproximadamente 12,5 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la enzima es glucosa oxidasa y el sustrato es glucosa.
- 50
- 55 Debe observarse que para una cualquiera de las realizaciones relacionadas con una composición como se describe en el presente documento, puede utilizarse una cualquiera de las enzimas productoras de peróxido de hidrógeno, incluyendo cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento con respecto a las mismas, en cualquier combinación, (a menos que se indique otra cosa).
- 60 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones y cualquiera de los aspectos descritos en el presente documento, la composición es para obtener peróxido de hidrógeno en sí mismo como agente activo. El peróxido de hidrógeno puede estar destinado, por ejemplo, a aclarar un sitio corporal tópico de un sujeto (p. ej., una región de la piel, pelo y/o uñas de un sujeto) mediante reacción directa (p. ej., blanqueamiento) con el sitio corporal tópico, a presentar una actividad antimicrobiana o a presentar una actividad de eliminación de olores (p. ej., eliminación del olor a mofeta).
- 65

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones y cualquiera de los aspectos descritos en el presente documento, la composición comprende además al menos un agente que presenta una actividad cosmética o farmacéutica en presencia de peróxido de hidrógeno. En alguna realización, la composición es para obtener la actividad de dicho agente, generando peróxido de hidrógeno en presencia del agente.

En el presente documento, "un agente que presenta una actividad cosmética o farmacéutica en presencia de peróxido de hidrógeno" abarca agentes que se activan en presencia de peróxido de hidrógeno. Por "activado" se entiende que el agente está modificado químicamente (p. ej., oxidado) en presencia de peróxido de hidrógeno y su forma oxidada presenta una actividad cosmética o farmacéutica deseada; o el agente es una enzima que requiere peróxido de hidrógeno para presentar su actividad (p. ej., requiere peróxido de hidrógeno como sustrato o como coactivador).

Los ejemplos no limitantes de agentes que presentan una actividad cosmética o farmacéutica en presencia de peróxido de hidrógeno incluyen, por ejemplo, peroxidasas y precursores de colorantes oxidativos.

Los precursores de colorantes oxidativos son compuestos que reaccionan para formar un colorante (p. ej., un colorante permanente) tras la oxidación, por ejemplo, para su uso en la tinción del pelo. El peróxido de hidrógeno se usa habitualmente para oxidar dichos precursores de colorantes y los expertos conocerán muchos precursores de colorantes oxidativos adecuados y sus usos precisos. En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la composición comprende al menos un precursor de colorante oxidativo para teñir el pelo.

Las peroxidasas son enzimas que catalizan la formación de un compuesto reactivo, tal como una especie reactiva de oxígeno (ROS), en presencia de peróxido de hidrógeno. Una peroxidasa potencia de este modo la reactividad del peróxido de hidrógeno, convirtiéndolo en un compuesto más reactivo. Dicha composición puede ser útil, por ejemplo, para aclarar un sitio corporal tópico por reacción del compuesto reactivo con el sitio corporal, para presentar una actividad antimicrobiana o para presentar una actividad de eliminación de olores (p. ej., eliminación del olor a mofeta) mejorada.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una peroxidasa oxida tiocianato a hipotiocianato y/o al menos un haluro (p. ej., cloruro, bromuro y/o yoduro) a un hipohalito (p. ej., hipoclorito, hipobromito y/o hipoyodito). Los ejemplos de dichas peroxidasas incluyen, sin limitación, mieloperoxidasa y peroxidasa de eosinófilos (que pueden oxidar, cada una, por ejemplo, tiocianato, cloruro, bromuro y yoduro), lactoperoxidasa (que puede oxidar, por ejemplo, tiocianato, bromuro y yoduro), ovoperoxidasa y vanadio bromoperoxidasa (que pueden oxidar, por ejemplo, bromuro y yoduro), bromoperoxidasa de *Murex* (que puede oxidar, por ejemplo, bromuro), peroxidasa de rábano picante (que puede oxidar, por ejemplo, tiocianato y yoduro) y peroxidasa tiroidea (que puede oxidar, por ejemplo, yoduro).

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la composición comprende además un sustrato (p. ej., tiocianato, cloruro, bromuro, yoduro y/o un mediador de oxidación como se describe en el presente documento) que se oxida en presencia de peróxido de hidrógeno y la peroxidasa.

En el presente documento, la expresión "mediador de oxidación" se refiere a una molécula que facilita una reacción redox catalizada por la peroxidasa, por ejemplo, aumentando el potencial oxidativo y/o la estabilidad de una peroxidasa, y/o actuando como un cofactor de la peroxidasa y/o actuando como un sustrato de la peroxidasa que forma un producto intermedio reactivo (p. ej., un radical libre). Los mediadores oxidantes incluyen compuestos (p. ej., compuestos aromáticos) capaces de estabilizar electrones (p. ej., por deslocalización) transferidos durante una reacción catalizada por la peroxidasa.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la peroxidasa oxida un sustrato (p. ej., tiocianato, cloruro, bromuro, yoduro) presente en o sobre el sitio corporal tópico en presencia de peróxido de hidrógeno.

Otras actividades cosméticas o farmacéuticas de peroxidasas también pueden utilizarse en el contexto de cualquiera de las realizaciones de este aspecto de la invención.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la peroxidasa es capaz, en presencia de peróxido de hidrógeno, de degradar melanina en un sujeto (p. ej., en piel y/o pelo). En algunas realizaciones, es necesaria la presencia de un mediador de oxidación para que la peroxidasa degrade melanina en presencia de peróxido de hidrógeno. La degradación de melanina es útil para aclarar la piel y/o el pelo. La lignina peroxidasa es una peroxidasa ilustrativa capaz de degradar melanina.

Sin quedar ligados a ninguna teoría particular, se cree que algunas peroxidasas (p. ej., lignina peroxidasa) degradan melanina oxidando un mediador de oxidación (que actúa como sustrato) para formar un radical libre y el radical libre reacciona después para degradar melanina.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones y cualquiera de los aspectos descritos en el presente

documento, la composición es una composición de tinte para el pelo. En el presente documento, la expresión "composición de tinte para el pelo" se refiere a cualquier composición usada en la coloración (p. ej., tinción permanente) del pelo, incluyendo composiciones que comprenden un tinte para el pelo y/o precursor del mismo y composiciones que no comprenden un tinte para el pelo o precursor del mismo, pero que están destinados a ponerse en contacto con un tinte para el pelo y/o precursor del mismo (p. ej., en el pelo).

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones y cualquiera de los aspectos descritos en el presente documento, la composición es una composición para eliminar olores, por ejemplo, para eliminar el olor a mofeta (p. ej., de la piel, el pelo y/o las uñas). En algunas realizaciones, la composición de eliminación de olores comprende además un detergente (p. ej., lauril sulfato de sodio) y/o un agente alcalino (p. ej., bicarbonato de sodio).

En alguna realización de cualquiera de las realizaciones y cualquiera de los aspectos descritos en el presente documento, la composición es una composición antimicrobiana. En el presente documento, la expresión "composición antimicrobiana" se refiere a cualquier composición para matar o inhibir de otro modo animales microscópicos, plantas, hongos, bacterias, arqueobacterias y/o virus.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones y cualquiera de los aspectos descritos en el presente documento, la composición es una composición blanqueadora. En el presente documento, la expresión "composición blanqueadora" se refiere a cualquier composición para eliminar al menos una parte de un color e incluye, por ejemplo, composiciones para aclarar la piel y/o partes de la piel, composiciones para decolorar el pelo y composiciones para eliminar manchas de las uñas.

Como se ejemplifica en el presente documento, la lignina peroxidasa es capaz de degradar melanina, aclarando de este modo la piel y/o el pelo.

La lignina peroxidasa es un agente ilustrativo que presenta una actividad cosmética en presencia de peróxido de hidrógeno.

En algunas realizaciones, se utiliza lignina peroxidasa en combinación con una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento para una composición y/o enzima productora de peróxido de hidrógeno, y cualquier combinación de las mismas.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la piel para aclarar comprende piel facial (p. ej., frente y/o mejillas).

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la piel para aclarar comprende una región de piel expuesta al sol (p. ej., una región bronceada).

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, aclarar la piel comprende aclarar el tono completo de la piel.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la piel para aclarar comprende una parte relativamente oscura de la piel, por ejemplo, piel que comprende un tono desigual, uno o más puntos oscuros, una o más pecas, melasma, hiperpigmentación de la piel, descoloración de la piel, una o más manchas de la edad, una o más marcas de acné y/o una cicatriz.

Como se describe en el presente documento, se puede determinar una concentración deseada de peróxido de hidrógeno seleccionando concentraciones adecuadas de enzima productora de peróxido de hidrógeno y el sustrato de la misma y compuestos que reaccionan con peróxido de hidrógeno (si hay alguno descrito en el presente documento).

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una composición para obtener peróxido de hidrógeno en sí mismo (p. ej., una composición blanqueadora) tiene concentraciones de ingredientes seleccionados para dar como resultado una concentración relativamente alta de peróxido de hidrógeno, por ejemplo, de 0,5 a 12 por ciento en peso. En algunas realizaciones, la concentración de peróxido de hidrógeno no es más de 6 por ciento en peso. En algunas realizaciones, la concentración de peróxido de hidrógeno no es más de 3 por ciento en peso. Se puede obtener una concentración relativamente alta de peróxido de hidrógeno, por ejemplo, minimizando la presencia de compuestos que reaccionan con peróxido de hidrógeno y/o seleccionando mayor concentración del componente del sistema enzimático, como se describe en el presente documento.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una composición que comprende un agente que presenta una actividad en presencia de peróxido de hidrógeno (p. ej., como se describe en el presente documento) tiene concentraciones de ingredientes seleccionados para dar como resultado una concentración de peróxido de hidrógeno adecuada para obtener la actividad del agente. En algunas realizaciones, la concentración de peróxido de hidrógeno es relativamente baja, por ejemplo, no más de 0,5 por ciento en peso. En algunas realizaciones, la concentración de peróxido de hidrógeno no es más de 0,1 por ciento en peso. En algunas

realizaciones, la concentración de peróxido de hidrógeno no es más de 0,02 por ciento en peso. Debe apreciarse que el agente puede ayudar a mantener una concentración relativamente baja de peróxido de hidrógeno al reaccionar con el peróxido de hidrógeno. El agente puede reaccionar de manera continua con el peróxido de hidrógeno generado de manera que se mantenga continuamente una concentración baja de peróxido de hidrógeno.

5 La baja concentración de peróxido de hidrógeno puede ser especialmente ventajosa, por ejemplo, en una composición comprende un agente (p. ej., una proteína tal como una peroxidasa) que puede ser sensible a (p. ej., verse afectado negativamente por) altas concentraciones de peróxido y/o que puede ser muy eficaz en la reacción con peróxido de hidrógeno. Dichos agentes que pueden verse afectados negativamente por altas concentraciones de peróxido de hidrógeno incluyen, por ejemplo, determinadas peroxidases (p. ej., lignina peroxidasa), que son conocidas por, por ejemplo, experimentar "suicidio" en presencia de altas concentraciones de peróxido de hidrógeno.

Equipos para obtener la composición productora de peróxido de hidrógeno:

15 Debe entenderse que una composición productora de peróxido de hidrógeno según una cualquiera de las realizaciones relacionadas con dichas composiciones puede obtenerse usando un equipo según una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento relacionadas con dichos equipos (p. ej., como se describe en esta sección). El experto será capaz de seleccionar un equipo adecuado como se describe en el presente documento para obtener cualquier composición deseada descrita en el presente documento, basándose en la orientación proporcionada en el presente documento.

20 Para una cualquiera de las realizaciones que describen un equipo, puede utilizarse una cualquiera de las enzimas y/o composiciones productoras de peróxido de hidrógeno, incluyendo una cualquiera de las realizaciones respectivas de las mismas, y cualquier combinación de las mismas.

25 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, cualquiera de las composiciones descritas en el presente documento puede considerarse como una composición de dos (o más) partes, en la que una parte de la composición comprende una enzima productora de peróxido de hidrógeno como se describe en el presente documento y una parte de la composición comprende un sustrato de la enzima.

30 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la composición de dos partes se envasa en un equipo y se identifica para su uso en cualquier aplicación cosmética o farmacéutica que utilice peróxido de hidrógeno, ya sea por sí solo o en combinación con otro agente, como se describe en el presente documento.

35 Según un aspecto de algunas realizaciones de la invención, se proporciona un equipo para formar y/o aplicar (por vía tópica) a un sitio corporal tópico de un sujeto una composición cosmética o farmacéutica, como se describe en el presente documento, en donde la composición cosmética o farmacéutica comprende peróxido de hidrógeno (p. ej., de acuerdo con un método descrito en el presente documento).

40 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la composición se envasa en el equipo de manera que todos sus componentes se envasen juntos en un recipiente, en condiciones que inhiban la formación de peróxido de hidrógeno, como se describe en el presente documento. En algunas de estas realizaciones, una vez que la composición se ha distribuido desde el recipiente y se ha aplicado en el sitio corporal, su exposición al aire y/o la humedad promueve una reacción entre la enzima productora de peróxido de hidrógeno y su sustrato y se produce peróxido de hidrógeno.

45 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una parte de la composición que comprende una enzima productora de peróxido de hidrógeno y una parte de la composición que comprende el sustrato se envasan individualmente dentro del equipo, de modo que la composición se forma una vez que estas dos partes de la composición se han mezclado.

50 Por "envasado individualmente" se entiende que no hay contacto directo entre las partes de la composición (o la primera y segunda composiciones como se describen en el presente documento) cuando están en el equipo.

55 Por ejemplo, cada parte de la composición (p. ej., una primera composición y una segunda composición, como se describe en el presente documento), se envasa individualmente dentro de un recipiente sellado en el equipo. El recipiente puede estar hecho de, p. ej., plástico, madera, nailon, vidrio, tejido, metal, cuero y/o papel metálico.

60 Uno o más de los recipientes pueden incluir medios para distribuir su contenido, ya sea directamente al sitio corporal tópico o a un receptáculo para mezclar con otras partes de la composición que se envasan individualmente dentro del equipo. Como alternativa, el equipo comprende además medios para distribuir el contenido de uno o más de los recipientes y/o medios para mezclar el contenido del recipiente y medios para distribuir la mezcla obtenida en el sitio corporal tópico.

65 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el equipo comprende

5 una primera composición que comprende una enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., como se describe en el presente documento) y una segunda composición que comprende un sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., como se describe en el presente documento). En algunas realizaciones, la primera y segunda composiciones del equipo se envasan individualmente en el equipo. La primera composición y la segunda composición del equipo se pueden combinar para preparar la composición cosmética o farmacéutica (p. ej., una composición descrita en el presente documento) en la que la enzima entra en contacto con el sustrato, produciendo de este modo peróxido de hidrógeno en la composición.

10 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el equipo comprende además al menos un agente que presenta una actividad cosmética o farmacéutica en presencia de peróxido de hidrógeno (p. ej., como se describe en el presente documento). El agente o los agentes pueden estar incluidos dentro de la primera composición, la segunda composición y/o en una tercera composición dentro del equipo, que se envasa individualmente en el equipo. La primera composición y la segunda composición y la tercera composición opcional del equipo pueden combinarse para preparar la composición cosmética o farmacéutica que comprende el agente o los agentes (p. ej., como se describe en el presente documento).

15 La combinación de la primera y segunda composiciones del equipo puede efectuarse inmediatamente antes de la aplicación al sitio corporal tópico (p. ej., entre 1 minuto y 10 minutos antes de la aplicación) o durante la aplicación al sitio corporal tópico.

20 Minimizar un intervalo temporal entre la combinación de las composiciones puede ser ventajoso para evitar una situación en la que se produce peróxido de hidrógeno en presencia de un agente, tal como una peroxidasa o un precursor de colorante oxidativo, que reacciona con el peróxido de hidrógeno (p. ej., como se describe en el presente documento) cuando la composición no está en contacto con el sitio corporal tópico, ya que dicha situación podría dar como resultado consumo no productivo (p. ej., un residuo) del peróxido de hidrógeno.

25 La combinación de la primera y segunda composiciones del equipo durante la aplicación puede efectuarse, por ejemplo, mediante coadministración de la primera y segunda composiciones del equipo al sitio corporal tópico.

30 Por "coadministración" se entiende que la primera y segunda composiciones se administran por vía tópica al sitio corporal al mismo tiempo (simultáneamente) o, que la primera y segunda composiciones del equipo se administran secuencialmente, en cualquier orden, por lo que el intervalo temporal entre la administración de la primera composición y la administración de la segunda composición puede variar de 0,1 minutos a 5 minutos. En algunas realizaciones, el intervalo temporal no es mayor de 2 minutos.

35 Si se incluye una tercera composición en el equipo, puede combinarse con la primera y segunda composición antes de la aplicación al sitio corporal o administrarse conjuntamente al sitio corporal con la primera y segunda composiciones.

40 La tercera composición puede administrarse conjuntamente con la primera y/o segunda composición, antes de la administración de la primera y/o segunda composición o a continuación, siendo el intervalo temporal entre administraciones como se ha descrito anteriormente en el presente documento.

45 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el equipo incluye además instrucciones escritas sobre cómo usar una composición o composiciones en el mismo, por ejemplo, una cantidad de una composición para aplicar, una secuencia en la que se van a aplicar diferentes composiciones, un momento y/o frecuencia de aplicaciones y/o una duración del tratamiento (p. ej., como se describe en el presente documento).

50 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el equipo comprende además una composición de lavado, tal como un lavado facial, para limpiar un sitio corporal tópico antes de entrar en contacto con una composición descrita en el presente documento.

55 Según realizaciones ejemplares, el lavado facial comprende los ingredientes presentados en la tabla 1:

Tabla 1: Lavado facial según realizaciones ilustrativas

Ingrediente	Intervalo de peso en porcentaje
Agua	25 - 50 %
Propanodiol	10 - 25 %
Glicerina	10 - 25 %
Ácido esteárico	10 - 25 %
Ácido mirístico	5 - 10 %
Hidróxido de potasio	5 - 10 %
Ácido láurico	1 - 5 %
Decil glucósido	1 - 5 %
Diestearato de glicol	1 - 5 %
Estearato de glicerilo	1 - 5 %
Estearato de PEG-100	1 - 5 %
Cera de abejas sintética	1 - 5 %
Cocoil glicinato de potasio	0 - 0,1 %
Hidroxitolueno butilado (BHT)	0 - 0,1 %
Lignina peroxidasa	0 - 0,1 %

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el equipo incluye instrucciones de uso adecuadas y marcadores que indican la aprobación por una agencia reguladora para el uso indicado, como se describe en el presente documento.

Aplicaciones cosméticas de una composición productora de peróxido de hidrógeno:

Como se ejemplifica en el presente documento, al proporcionar una enzima productora de peróxido de hidrógeno en contacto con su sustrato, las composiciones descritas en el presente documento son eficaces para administrar peróxido de hidrógeno a una superficie.

Según un aspecto de realizaciones de la invención, se proporciona un método para administrar por vía tópica peróxido de hidrógeno a un sitio corporal tópico de un sujeto (p. ej., a la piel, el pelo y/o las uñas de un sujeto). El método, según algunas de estas realizaciones, se efectúa poniendo en contacto un sitio corporal tópico, o una región del mismo, del sujeto con una composición (p. ej., una composición descrita en el presente documento) que comprende una enzima productora de peróxido de hidrógeno y un sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno. En algunas realizaciones, la composición está formada por una enzima productora de peróxido de hidrógeno y un sustrato de la misma envasados dentro de un equipo como se describe en el presente documento.

Debe entenderse que un método para administrar por vía tópica peróxido de hidrógeno según una cualquiera de las realizaciones relacionadas con dicho método (p. ej., como se describe en esta sección) puede utilizar un sistema productor de peróxido de hidrógeno y/o un equipo según una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento relacionadas con dichos sistemas y/o equipos.

Como se usa en el presente documento, las expresiones "tópico" y "por vía tópica" se refieren a un sitio corporal tópico, como se define en el presente documento, incluyendo, por ejemplo, a la administración de una composición por aplicación en un sitio corporal tópico y a composiciones para administración de dicha manera.

En el presente documento, la expresión "sitio corporal tópico" o "sitio tópico del cuerpo" se refiere a una superficie cutánea (incluyendo cualquier región particular de la superficie cutánea) y/o pelo (incluyendo todo el pelo y/o cualquier región particular del pelo) de cualquier parte del cuerpo y/o la superficie de una uña (incluyendo todas las uñas de las manos y/o los pies y/o cualquier uña individual y/o una región de las mismas). La piel puede ser de cualquier parte del cuerpo, por ejemplo, piel facial, piel del cuello, piel del brazo, piel de la mano, piel del torso y/o piel de la pierna. El pelo puede ser, por ejemplo, cabello, vello facial y/o vello púbico. Esta expresión abarca también una región determinada o parte de una superficie cutánea (p. ej., una parte de la piel facial, una parte de la piel de un brazo o una pierna) o de un pelo (p. ej., una parte de vello facial, cabello o vello púbico), como se describe con más detalle en otra parte del presente documento.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la piel de un sitio corporal tópico no incluye membranas mucosas tales como las de la boca, labios, párpados, orejas, área genital y ano.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la composición se forma poniendo en contacto el sitio corporal tópico o una región del mismo con la enzima productora de peróxido de hidrógeno y/o el sustrato de la misma después de poner en contacto el sitio corporal tópico o una región del mismo con el agente que presenta una actividad cosmética o farmacéutica en presencia de peróxido de hidrógeno. En dicha

secuencia, el peróxido de hidrógeno solo se generará en presencia del agente que presenta una actividad cosmética o farmacéutica en presencia de peróxido de hidrógeno, lo que puede permitir una utilización más eficaz del peróxido de hidrógeno.

5 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la composición se forma poniendo en contacto el sitio corporal tópico con la enzima productora de peróxido de hidrógeno antes de poner en contacto el sitio corporal tópico con el sustrato.

10 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la composición se forma poniendo en contacto el sitio corporal tópico con la enzima productora de peróxido de hidrógeno después de poner en contacto el sitio corporal tópico con el sustrato.

15 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la composición se forma poniendo en contacto el sitio corporal tópico con la enzima productora de peróxido de hidrógeno simultáneamente con la puesta en contacto del sitio corporal tópico con el sustrato.

20 El agente que presenta una actividad cosmética o farmacéutica en presencia de peróxido de hidrógeno puede ponerse en contacto con el sitio corporal tópico (o región del mismo) antes, después o simultáneamente con la puesta en contacto de la región tópica con cualquiera de los otros componentes, por ejemplo, coadministrando (como se define en el presente documento) el agente con la enzima productora de peróxido de hidrógeno y/o el sustrato de la misma.

25 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el método es para teñir el pelo y el método comprende además poner en contacto el pelo con al menos un precursor de colorante oxidativo para teñir el pelo, como se describe en el presente documento.

30 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el método comprende además poner en contacto el sitio corporal tópico con una peroxidasa (p. ej., como se describe en el presente documento). Dicho método puede ser útil, por ejemplo, para aclarar un sitio corporal tópico, para presentar una actividad antimicrobiana o para presentar una actividad de eliminación de olores mejorada (p. ej., como se describe en el presente documento).

35 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el método comprende además poner en contacto el sitio corporal tópico con un sustrato y/o mediador de oxidación de la peroxidasa (p. ej., como se describe en el presente documento).

40 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el método es para eliminar el olor a mofeta (p. ej., de un sitio corporal tópico). En algunas realizaciones, el método comprende además poner en contacto el sitio corporal tópico con un detergente (p. ej., lauril sulfato de sodio) y/o un agente alcalino (p. ej., bicarbonato de sodio).

45 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el método es para obtener una actividad antimicrobiana, por ejemplo, formando una composición antimicrobiana (p. ej., como se describe en el presente documento).

50 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el método es para blanquear un sitio corporal tópico o una región del mismo, por ejemplo, formando una composición de blanqueamiento (p. ej., como se describe en el presente documento). El método puede comprender, por ejemplo, aclarar la piel y/o partes de la piel, blanquear el pelo y/o eliminar manchas de las uñas.

55 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el método es para aclarar la piel facial (p. ej., frente y/o mejillas).

60 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el método es para aclarar una región cutánea expuesta al sol (p. ej., una región bronceada).

65 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el método es para aclarar el tono de toda la piel.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el método es para aclarar una parte relativamente oscura de la piel, por ejemplo, piel que comprende un tono desigual, uno o más puntos oscuros, una o más pecas, melasma, hiperpigmentación de la piel, descoloración de la piel, una o más manchas de la edad, una o más marcas de acné y/o una cicatriz.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el método se realiza repetidas veces, opcionalmente incluso de manera indefinida, para responder a la formación repetida de color, tal como melanina de nueva formación en la piel, nuevo crecimiento de pelo oscuro, formación de manchas crónicas en

las uñas, etc.

5 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el método se efectúa poniendo en contacto la región tópica con la composición al menos 5 veces. En algunas realizaciones, el método se efectúa poniendo en contacto la región tópica con la composición al menos 10 veces. En algunas realizaciones, el método se efectúa poniendo en contacto la región tópica con la composición al menos 20 veces. En algunas realizaciones, el método se efectúa poniendo en contacto la región tópica con la composición al menos 50 veces. En algunas realizaciones, el método se efectúa poniendo en contacto la región tópica con la composición al menos 100 veces. En algunas realizaciones, el método se efectúa poniendo en contacto la región tópica con la composición al menos 200 veces.

15 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el método se efectúa poniendo en contacto la región tópica una vez o dos veces al día. En realizaciones ilustrativas, la puesta en contacto se efectúa dos veces al día.

20 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el método se efectúa durante al menos una semana. En algunas realizaciones, el método se efectúa durante al menos dos semanas. En algunas realizaciones, el método se efectúa durante al menos tres semanas. En algunas realizaciones, el método se efectúa durante al menos cuatro semanas. En algunas realizaciones, el método se efectúa durante al menos seis semanas. En algunas realizaciones, el método se efectúa durante al menos ocho semanas. En algunas realizaciones, el método se efectúa durante al menos tres meses. En algunas realizaciones, el método se efectúa durante al menos cuatro meses. En algunas realizaciones, el método se efectúa durante al menos seis meses. En algunas realizaciones, el método se efectúa durante al menos un año.

25 La dosificación y el ciclo de tratamiento dependerán del tipo de tratamiento y la gravedad de una afección que se trate, durando el ciclo de tratamiento de un día a varias semanas o más o hasta que se efectúe la curación o se logre la disminución de la afección que se trate.

30 La cantidad de una composición que se va a administrar dependerá, por supuesto, del sujeto que se trate, el grado de una afección que se trate, la forma de administración, el criterio de un médico que la recete o un esteticista o el consumidor, el efecto deseado de la composición, etc.

35 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, se limpia el sitio corporal tópico (p. ej., con un lavado, como se describe en el presente documento) antes del contacto con una composición descrita en el presente documento.

En realizaciones donde el método es, por ejemplo, para blanquear o teñir el pelo, el método se puede efectuar una vez, para lograr un efecto deseado, y puede repetirse una vez que el efecto deseado se ha reducido o disminuido.

40 En realizaciones donde el método es, por ejemplo, para tratar una infección, el tratamiento se efectúa una vez, hasta que se elimina la infección, y se efectúa el número de administraciones y la duración del tratamiento hasta que se efectúe la cura.

45 *Composiciones productoras de peróxido de hidrógeno, métodos y equipos para aclarar la piel y/o el pelo:*

50 Una realización ilustrativa de las composiciones, los métodos y los equipos descritos en el presente documento es una composición para aclarar un sitio corporal tópico tal como la piel y/o el pelo en la que se usa una composición productora de peróxido de hidrógeno como se describe en el presente documento en combinación con lignina peroxidasa.

Debe entenderse que se pueden utilizar una composición, un método y/o un equipo según una cualquiera de las realizaciones relacionadas con dichas composiciones, métodos y/o equipos para aclarar la piel y/o el pelo, como se describe en el presente documento (p. ej., en esta sección).

55 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, se proporciona una composición cosmética para aclarar un sitio corporal tópico tal como la piel y/o el pelo de un sujeto (p. ej., como se describe en el presente documento), comprendiendo la composición una lignina peroxidasa, una enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., como se describe en el presente documento) y un sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., como se describe en el presente documento).

60 Según otro aspecto de realizaciones descritas en el presente documento, se proporciona un método cosmético para aclarar un sitio corporal tópico tal como la piel y/o el pelo de un sujeto (p. ej., como se describe en el presente documento), comprendiendo el método poner en contacto una región tópica de un sujeto con una composición que comprende una lignina peroxidasa, una enzima productora de peróxido de hidrógeno y un sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., una composición que contiene lignina peroxidasa descrita en el presente documento). En algunas realizaciones, la composición está formada por una lignina peroxidasa, una enzima

productora de peróxido de hidrógeno y un sustrato de la misma envasada dentro de un equipo descrito en el presente documento.

5 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la composición se forma poniendo en contacto la región tópica con la enzima productora de peróxido de hidrógeno y/o el sustrato de la misma después de poner en contacto la región tópica con la lignina peroxidasa. En dicha secuencia, solo se generará peróxido de hidrógeno en presencia de la lignina peroxidasa, lo que puede permitir una utilización más eficaz del peróxido de hidrógeno.

10 Pueden proporcionarse composiciones que comprenden lignina peroxidasa, como se describe en el presente documento, en concentraciones mayores y ser recetadas por un médico como una composición farmacéutica o cosmética para tratar trastornos de la pigmentación cutánea tales como melasma, cloasma, ocronosis y lentigo, y/o para aclarar el tono de toda la piel.

15 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el método se efectúa poniendo en contacto la región tópica con la composición al menos 5 veces. En algunas realizaciones, el método se efectúa poniendo en contacto la región tópica con la composición al menos 10 veces. En algunas realizaciones, el método se efectúa poniendo en contacto la región tópica con la composición al menos 20 veces. En algunas realizaciones, el método se efectúa poniendo en contacto la región tópica con la composición al menos 50 veces. En algunas realizaciones, el método se efectúa poniendo en contacto la región tópica con la composición al menos 100 veces. En algunas realizaciones, el método se efectúa poniendo en contacto la región tópica con la composición al menos 100 veces.

25 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el método se efectúa poniendo en contacto la región tópica una vez o dos veces al día. En realizaciones ilustrativas, la puesta en contacto se efectúa dos veces al día.

30 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el método se efectúa durante al menos una semana. En algunas realizaciones, el método se efectúa durante al menos dos semanas. En algunas realizaciones, el método se efectúa durante al menos tres semanas. En algunas realizaciones, el método se efectúa durante al menos cuatro semanas. En algunas realizaciones, el método se efectúa durante al menos seis semanas. En algunas realizaciones, el método se efectúa durante al menos ocho semanas. En algunas realizaciones, el método se efectúa durante al menos tres meses. En algunas realizaciones, el método se efectúa durante al menos cuatro meses. En algunas realizaciones, el método se efectúa durante al menos seis meses. En algunas realizaciones, el método se efectúa durante al menos un año.

40 La dosificación y el ciclo del tratamiento dependerán del grado de color (p. ej., pigmentación) en la región para tratar, por ejemplo, un grado de pigmentación cutánea en un trastorno de pigmentación cutánea (p. ej., cloasma, melasma, ocronosis y lentigo), el tono del color de la piel, el tono de la piel y/o la sensibilidad de la piel, durando el ciclo de tratamiento de varios días a varias semanas o más, o hasta que se efectúe la cura o se logre disminución del trastorno cutáneo.

45 La cantidad de una composición que se va a administrar dependerá, por supuesto, del sujeto que se trate, el grado de una afección que se trate, la forma de administración, el criterio de un médico que la recete o un esteticista o el consumidor, etc.

Lignina peroxidasa:

50 Debe entenderse que la lignina peroxidasa según una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento relacionada con lignina peroxidasa (p. ej., como se describe en esta sección) puede usarse en combinación con un sistema enzimático productor de peróxido de hidrógeno según una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento en relación con dicho sistema.

55 Como se usa en el presente documento, la expresión "lignina peroxidasa" se refiere a una enzima que desempeña un papel importante en la degradación de la lignina. La lignina peroxidasa es capaz de catalizar la oxidación de sustratos con alto potencial redox. Esta habilidad única es coherente con un sitio activo hemo de baja densidad electrónica, que está indicado por alto potencial redox [Cai y Tien, J Biotechnol 1993, 30: 79-90].

60 Los ejemplos de lignina peroxidases se clasifican como EC 1.11.1.14.

La peroxidasa de manganeso (EC 1.11.1.13) está implicada en la degradación de lignina en basidiomicetos (p. ej., *Phanerochaete chrysosporium*), y también se define en el presente documento como una peroxidasa degradante de lignina.

65 Se produce lignina peroxidasa en diversos organismos y las secuencias codificantes de las enzimas lignina peroxidasa están disponibles en GenBank a través del protocolo de transferencia de hipertexto ://World Wide Web (punto) ncbi

(punto) nlm (punto) nih (punto) gov/. Por ejemplo, lignina peroxidasa de *Phanerochaete chrysosporium* (SEQ ID NO: 1); *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv [n.º de referencia de GenBank NP_216416.1 (SEQ ID NO: 2 (polipéptido) y SEQ ID NO: 3 (polinucleótido)]; *Mycobacterium bovis* AF2122/97 [n.º de referencia de GenBank NP_855586.1 (SEQ ID NO: 4 (polipéptido) y SEQ ID NO: 5 (polinucleótido)]; *Mycobacterium bovis* BCG c. Pasteur 1173P2 [n.º de referencia de GenBank YP_978029.1 (SEQ ID NO: 6 (polipéptido) y SEQ ID NO: 7 (polinucleótido)]; *Mycobacterium bovis* BCG c. Tokyo 172 [n.º de referencia de GenBank YP_002644977.1 (SEQ ID NO: 8 (polipéptido) y SEQ ID NO: 9 (polinucleótido)]; *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra [n.º de referencia de GenBank YP_001283231.1 (SEQ ID NO: 10 (polipéptido) y SEQ ID NO: 11 (polinucleótido)]; *Mycobacterium ulcerans* Agy99 [n.º de referencia de GenBank YP_908214.1 (SEQ ID NO: 12 (polipéptido) y SEQ ID NO: 13 (polinucleótido)]; *Mycobacterium marinum* M [n.º de referencia de GenBank YP_001848608.1 (SEQ ID NO: 14 (polipéptido) y SEQ ID NO: 15 (polinucleótido)]; *Mycobacterium tuberculosis* KZN 1435 [n.º de referencia de GenBank YP_003032055.1 (SEQ ID NO: 16 (polipéptido) y SEQ ID NO: 17 (polinucleótido)]; *Mycobacterium tuberculosis* F11 [n.º de referencia de GenBank YP_001287866.1 (SEQ ID NO: 18 (polipéptido) y SEQ ID NO: 19 (polinucleótido)]; ligninasa de *P. chrysosporium* (CKG4) [n.º de referencia de GenBank M18743.1 (SEQ ID NO: 20 (polipéptido) y SEQ ID NO: 21 (polinucleótido)]; *Phanerochaete chrysosporium* (anamorfo: *Sporotrichum pruinosum*) [n.º de referencia de GenBank M80213.1 (SEQ ID NO: 22 (polipéptido) y SEQ ID NO: 23 (polinucleótido)]; *Phanerochaete sordida* ylpB [n.º de referencia de GenBank AB455007.1 (SEQ ID NO: 24 (polipéptido) y SEQ ID NO: 25 (polinucleótido)]; *Phanerochaete chrysosporium* (anamorfo: *Sporotrichum pruinosum*) [n.º de referencia de GenBank M77508.1 (SEQ ID NO: 26 (polipéptido) y SEQ ID NO: 27 (polinucleótido)].

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la lignina peroxidasa es una lignina peroxidasa de un hongo de podredumbre blanca, por ejemplo, una lignina peroxidasa extraída de un hongo de podredumbre blanca o una proteína recombinante procedente de una lignina peroxidasa de hongo de podredumbre blanca.

En el presente documento y en la técnica, la expresión "hongo de podredumbre blanca" se refiere a hongos capaces de descomponer la lignina en la madera. Como dicho proceso deja con frecuencia la celulosa de color claro de la madera, dichos hongos normalmente provocan que la madera atacada adquiera un color más claro.

Los ejemplos de hongos de podredumbre blanca que producen una lignina peroxidasa adecuada incluyen, sin limitación, *Phanerochaete* (p. ej., *Phanerochaete chrysosporium*, *Phanerochaete sordida*), *Trametes* (p. ej., *Trametes versicolor*) y *Ganoderma*.

Según algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones de la invención, la enzima lignina peroxidasa usada según algunas realizaciones de la invención es la isoforma de lignina peroxidasa HI, que presenta actividades de oxidación de melanina tanto *in vitro* como *in vivo* [documento WO 2004/052275].

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una concentración de lignina peroxidasa en la composición está en un intervalo de 1,25 a 125 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 4 a 40 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 6 a 20 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración es de aproximadamente 12,5 unidades/gramo.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una concentración de lignina peroxidasa en la composición está en un intervalo de 4 a 125 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 6 a 125 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 12,5 a 125 unidades/gramo.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una concentración de lignina peroxidasa en la composición está en un intervalo de 1,25 a 40 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 1,25 a 20 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 1,25 a 12,5 unidades/gramo.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una concentración de lignina peroxidasa en la composición está en un intervalo de 1,25 a 125 unidades/gramo y una concentración de la enzima productora de peróxido de hidrógeno en la composición está en un intervalo de 0,125 a 1250 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de lignina peroxidasa está en un intervalo de 1,25 a 40 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de lignina peroxidasa está en un intervalo de 4 a 125 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de lignina peroxidasa está en un intervalo de 4 a 40 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de lignina peroxidasa está en un intervalo de 6 a 20 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de lignina peroxidasa es de aproximadamente 12,5 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la enzima productora de peróxido de hidrógeno es glucosa oxidasa.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una concentración de lignina peroxidasa en la composición está en un intervalo de 1,25 a 125 unidades/gramo y una concentración de la enzima productora de peróxido de hidrógeno en la composición está en un intervalo de 1,25 a 1250 unidades/gramo.

cultiva en un fermentador de reactor de tanque agitado (STR) inmovilizando al mismo tiempo en espuma de poliuretano o en suspensión [Dosoretz *et al.*, Appl Environ Microbiol 1993, 59: 1919-26].

Según algunas realizaciones de la invención, el fermentador está conectado a un sistema de refrigeración para mantener una temperatura de cultivo de 37 °C y se agita a una velocidad de 50-300 rpm (revoluciones por minuto), más preferentemente, 100-200 rpm, más preferentemente a 160 rpm. Con el fin de aumentar el rendimiento de la actividad lignina peroxidasa, el fermentador se airea a una velocidad de aireación de 0,1-1 litro de aire por litro de medio de cultivo por minuto. Según las configuraciones preferidas en la actualidad, el fermentador se airea a una velocidad de aireación de 0,2 litros de aire por litro de medio de cultivo por minuto.

El *Phanemchaete chrysosporium* se cultiva en condiciones de cultivo desprovistas de iones de manganeso y que contienen glicerol como fuente de carbono. Según algunas realizaciones de la invención, el glicerol se proporciona en un intervalo de concentración de 3-20 gramos por litro. Según algunas realizaciones de la invención, el glicerol se proporciona a una concentración de 6 gramos por litro.

Durante el proceso de purificación de la isoenzima de lignina peroxidasa HI del hongo anterior, la actividad enzimática de la proteína purificada se prueba adicionalmente mediante un cambio en la absorbancia a 310 nm que se produce debido a la oxidación de alcohol veratrílico aldehído veratrílico.

Como la isoenzima de lignina peroxidasa HI puede resultar de una desfosforilación postraduccional de la isoenzima H2 [Kuan y Tien, J Biol Chem 1989, 264: 20350-20355], la lignina peroxidasa usada según algunas realizaciones de la invención puede prepararse desfosforilando la isoenzima de lignina peroxidasa H2.

Según algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones de la invención, la lignina peroxidasa se puede expresar de manera recombinante usando una construcción de ácido nucleico diseñada para expresar la secuencia codificante de lignina peroxidasa en una célula hospedadora. Se proporcionan ejemplos no limitantes de dichas secuencias de ácido nucleico en las SEQ ID NO: 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25 y 27.

Se describen en detalle en el presente documento procedimientos generales para expresar una proteína tal como lignina peroxidasa.

Según algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones de la invención, la lignina peroxidasa se expresa en células bacterianas modificadas para expresar la lignina peroxidasa como se desvela en la patente de los Estados Unidos n.º 5.200.338. Por ejemplo, una célula bacteriana, tal como, *E. coli*, puede transformarse con un vector de expresión que incluye la secuencia codificante de lignina peroxidasa situada bajo el control regulador de un promotor constitutivo fuerte (p. ej., SP6) (p. ej., codificando un polipéptido que tiene la SEQ ID NO: 1). Después de la expresión, las células bacterianas pueden lisarse y la lignina peroxidasa puede recogerse usando técnicas cromatográficas (véase, Billman-Jacobe [Curr Opin Biotechnol 1996, 7: 500-4]; Harris y Emtage [Microbiol. Sci. 1986, 3: 28-31], para detalles adicionales).

La lignina peroxidasa según algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones de la invención puede extraerse de líneas celulares de mamífero tales como células HeLa. En este caso, la secuencia codificante de lignina peroxidasa se sitúa bajo un promotor de mamífero fuerte (p. ej., CMV) en un vector de expresión adecuado (p. ej., pCDNA3.1, Invitrogen Life Technologies, Frederick, MD, Estados Unidos). Tras la transfección de células HeLa con el vector de expresión, el producto de expresión de lignina peroxidasa puede extraerse de las células o el medio (p. ej., modificando la secuencia de lignina peroxidasa para incluir una señal de secreción) mediante técnicas convencionales de purificación y cromatografía (véase Cunha y Aires-Barros [Mol. Biotechnol. 2002, 20: 29-40] para más detalles).

Expresión de proteínas:

Una construcción de ácido nucleico (también denominada en el presente documento "vector de expresión") usada en algunas realizaciones de la invención (p. ej., para expresar una lignina peroxidasa o enzima productora de peróxido de hidrógeno descrita en el presente documento) incluye secuencias adicionales que hacen que este vector sea adecuado para replicación e integración en procariotas, eucariotas o preferentemente ambos (p. ej., vectores lanzaderas). Además, los vectores de clonación habituales también pueden contener una secuencia de inicio de la transcripción y la traducción, terminador de la transcripción y la traducción y una señal de poliadenilación. A modo de ejemplo, dichas construcciones normalmente incluirán una LTR 5', un sitio de unión a ARNt, una señal de envasado, un origen de síntesis de ADN de segunda cadena y una LTR 3' o una parte de la misma.

La construcción de ácido nucleico de algunas realizaciones de la invención incluye normalmente una secuencia señal para la secreción del péptido de una célula hospedadora en la que se coloca. Preferentemente, la secuencia señal para este fin es una secuencia señal de mamífero o la secuencia señal de las variantes polipeptídicas de algunas realizaciones de la invención.

Los promotores eucariotas normalmente contienen dos tipos de secuencias de reconocimiento, la caja TATA y los elementos promotores cadena arriba. Se cree que la caja TATA, ubicada 25-30 pares de bases cadena arriba del sitio

de inicio de la transcripción, está implicada en la dirección de la ARN polimerasa para comenzar la síntesis de ARN. Los otros elementos promotores cadena arriba determinan la velocidad a la que se inicia la transcripción.

5 Los elementos potenciadores pueden estimular la transcripción hasta 1.000 veces de promotores homólogos o heterólogos ligados. Los potenciadores están activos cuando se colocan cadena abajo o cadena arriba del sitio de inicio de la transcripción. Muchos elementos potenciadores procedentes de virus tienen una amplia gama de huéspedes y son activos en una diversidad de tejidos. Por ejemplo, el potenciador génico temprano SV40 es adecuado para muchos tipos de células. Otras combinaciones de potenciador/promotor que son adecuadas para algunas realizaciones de la invención incluyen las procedentes del virus del poliovirus, citomegalovirus (CMV) humano o murino, la repetición a largo plazo de diversos retrovirus tales como virus de la leucemia murina, virus del sarcoma murino o de Rous y VIH. Véase, Enhancers and Eukaryotic Expression, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y. 1983.

15 En la construcción del vector de expresión, el promotor se sitúa preferentemente aproximadamente a la misma distancia del sitio de inicio de la transcripción heterólogo que desde el sitio de inicio de la transcripción en su entorno natural. Como se conoce en la técnica, sin embargo, se puede acomodar alguna variación en esta distancia sin pérdida de la función del promotor.

20 También se pueden añadir secuencias de poliadenilación al vector de expresión para aumentar la eficacia de traducción de ARNm (p. ej., traducción de ARNm de lignina peroxidasa). Son necesarios dos elementos de secuencia distintos para poliadenilación precisa y eficaz: Secuencias ricas en GU o U ubicadas cadena abajo del sitio de poliadenilación y una secuencia muy conservada de seis nucleótidos, AAUAAA, ubicada 11-30 nucleótidos cadena arriba. Las señales de terminación y poliadenilación que son adecuadas para algunas realizaciones de la invención incluyen las derivadas de SV40.

25 Además de los elementos ya descritos, el vector de expresión de algunas realizaciones de la invención puede contener normalmente otros elementos especializados destinados a aumentar el nivel de expresión de ácidos nucleicos clonados o a facilitar la identificación de células que portan el ADN recombinante. Por ejemplo, varios virus animales contienen secuencias de ADN que promueven la replicación cromosómica adicional del genoma vírico en tipos celulares permisivos. Los plásmidos que portan estos replicones víricos se replican de manera episómica siempre que los factores adecuados sean proporcionados por genes portados en el plásmido o con el genoma de la célula hospedadora.

30 El vector puede incluir o no un replicón eucariota. Si está presente un replicón eucariota, entonces el vector es amplificable en células eucariotas usando el marcador seleccionable adecuado. Si el vector no comprende un replicón eucariota, no es posible la amplificación episómica. En su lugar, el ADN recombinante se integra en el genoma de la célula modificada por ingeniería genética, donde el promotor dirige la expresión del ácido nucleico deseado.

40 El vector de expresión de algunas realizaciones de la invención puede incluir además secuencias polinucleotídicas adicionales que permiten, por ejemplo, la traducción de varias proteínas a partir de un solo ARNm, tal como un sitio interno de entrada al ribosoma (IRES) y secuencias para la integración genómica del promotor-polipéptido quimérico.

45 Como se ha mencionado anteriormente en el presente documento, se pueden usar diversas células procariontas o eucariotas como sistemas de expresión de hospedador para expresar los polipéptidos de algunas realizaciones de la invención. Estas incluyen, pero sin limitación, microorganismos, tales como bacterias transformadas con un vector de expresión recombinante de ADN de bacteriófago, ADN plasmídico o ADN cosmídico que contiene la secuencia codificante; levadura transformada con vectores de expresión en levadura recombinantes que contienen la secuencia codificante; sistemas de células vegetales infectadas con vectores de expresión de virus recombinante (p. ej., virus del mosaico de la coliflor, CaMV; virus del mosaico del tabaco, TMV) o transformados con vectores de expresión de plásmidos recombinantes, tales como el plásmido Ti, que contiene la secuencia codificante. También se pueden usar sistemas de expresión de mamíferos para expresar los polipéptidos de algunas realizaciones de la invención.

50 Los ejemplos de vectores de expresión de mamíferos incluyen, pero sin limitación, pcDNA3, pcDNA3.1(+/-), pGL3, pZeoSV2(+/-), pSecTag2, pDisplay, pEF/myc/cyto, pCMV/myc/cyto, pCR3.1, pSinRep5, DH26S, DHBB, pNMT1, pNMT41, pNMT81, que están disponibles en Invitrogen, pCI que está disponible en Promega, pMbac, pPbac, pBK-RSV y pBK-CMV que están disponibles en Strategene, pTRES que está disponible en Clontech y sus derivados.

55 También se pueden usar vectores de expresión que contienen elementos reguladores de virus eucariotas tales como retrovirus. Los vectores SV40 incluyen pSVT7 y pMT2. Los vectores procedentes del virus del papiloma bovino incluyen pBV-1MTHA y los vectores procedentes del virus de Epstein Bar incluyen pHEBO y p2O5. Otros vectores ilustrativos incluyen pMSG, pAV009/A⁺, pMTO10/A⁺, pMAMneo-5, pDSVE de baculovirus y cualquier otro vector que permita la expresión de proteínas bajo la dirección del promotor temprano de SV-40, promotor tardío de SV-40, promotor de metalotioneína, promotor del virus del tumor mamario murino, promotor del virus del sarcoma de Rous, promotor de la polihedrina u otros promotores que se ha mostrado que son eficaces para la expresión en células eucariotas.

65

Se pueden usar diversos métodos para introducir el vector de expresión de algunas realizaciones de la invención en células madre. Dichos métodos se describen en general en Sambrook *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Springs Harbor Laboratory, Nueva York (1989, 1992), en Ausubel *et al.*, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley and Sons, Baltimore, Md. (1989), Chang *et al.*, Somatic Gene Therapy, CRC Press, Ann Arbor, Mich. (1995), Vega *et al.*, Gene Targeting, CRC Press, Ann Arbor Mich. (1995), Vectors: A Survey of Molecular Cloning Vectors and Their Uses, Butterworths, Boston Mass. (1988) y Gilboa *et al.* [Biotechniques 4 (6): 504-512, 1986] e incluyen, por ejemplo, transfección estable o transitoria, electroporación e infección con vectores víricos recombinantes. Además, véanse las patentes de los Estados Unidos n.º 5.464.764 y 5.487.992 para métodos de selección positivo-negativo.

La introducción de ácidos nucleicos mediante infección vírica ofrece varias ventajas con respecto a otros métodos tales como electroporación, ya que se puede obtener mayor eficacia de transfección debido a la naturaleza infecciosa de los virus.

Además de contener los elementos necesarios para la transcripción y traducción de la secuencia codificante insertada, la construcción de expresión de algunas realizaciones de la invención también puede incluir secuencias modificadas por ingeniería genética para mejorar la estabilidad, producción, purificación, rendimiento o toxicidad del péptido expresado. Por ejemplo, se puede obtener mediante ingeniería genética la expresión de una proteína de fusión o una proteína de fusión escindible que comprende la proteína de lignina peroxidasa H1 o H2 de algunas realizaciones de la invención y una proteína heteróloga se puede diseñar. Dicha proteína de fusión se puede diseñar de manera que la proteína de fusión se pueda aislar fácilmente mediante cromatografía de afinidad; p. ej., mediante inmovilización en una columna específica para la proteína heteróloga. Cuando se genera mediante ingeniería genética un sitio de escisión entre la proteína de lignina peroxidasa H1 o H2 y la proteína heteróloga, la proteína de lignina peroxidasa se puede liberar de la columna cromatográfica mediante tratamiento con una enzima o un agente adecuado que altere el sitio de escisión [p. ej., véase Booth *et al.* (1988) Immunol. Lett. 19:65-70; y Gardella *et al.*, (1990) J. Biol. Chem. 265:15854-15859].

Como se ha mencionado anteriormente en el presente documento, se pueden usar diversas células procariontas o eucariotas como sistemas de expresión de hospedador para expresar los polipéptidos de algunas realizaciones de la invención. Estas incluyen, pero sin limitación, microorganismos, tales como bacterias transformadas con un vector de expresión recombinante de ADN de bacteriófago, ADN plasmídico o ADN cosmídico que contiene la secuencia codificante; levadura transformada con vectores de expresión en levadura recombinantes que contienen la secuencia codificante; sistemas de células vegetales infectadas con vectores de expresión de virus recombinante (p. ej., virus del mosaico de la coliflor, CaMV; virus del mosaico del tabaco, TMV) o transformados con vectores de expresión de plásmidos recombinantes, tales como el plásmido Ti, que contiene la secuencia codificante. También se pueden usar sistemas de expresión de mamíferos para expresar los polipéptidos de algunas realizaciones de la invención.

Los ejemplos de construcciones bacterianas incluyen la serie pET de vectores de expresión de *E. coli* [Studier *et al.* (1990) Methods in Enzymol. 185:60-89].

En levadura, se pueden usar varios vectores que contienen promotores constitutivos o inducibles, como se desvela en la solicitud de patente de los Estados Unidos n.º: 5.932.447. Como alternativa, se pueden usar vectores que promueven la integración de secuencias de ADN extrañas en el cromosoma de levadura.

En casos donde se usan vectores de expresión de plantas, la expresión de la secuencia codificante puede ser impulsada por varios promotores. Por ejemplo, se pueden usar promotores víricos tales como los promotores de ARN 35S y ARN 19S de CaMV [Brisson *et al.* (1984) Nature 310: 511-514] o el promotor de la proteína de cubierta para TMV [Takamatsu *et al.* (1987) EMBO J. 6: 307-311]. Como alternativa, se pueden usar promotores vegetales tales como la subunidad pequeña de RUBISCO [Coruzzi *et al.* (1984) EMBO j. 3: 1671-1680 y Brogli *et al.*, (1984) Science 224: 838-843] o promotores de choque térmico, por ejemplo, hsp17.5-E o hsp17.3-B de soja [Gurley *et al.* (1986) Mol. Cell. Biol. 6: 559-565]. Estas construcciones pueden introducirse en células vegetales usando plásmido Ti, plásmido Ri, vectores víricos de plantas, transformación directa de ADN, microinyección, electroporación y otras técnicas bien conocidas por el experto en la materia. Véase, por ejemplo, Weissbach y Weissbach, 1988, Methods for Plant Molecular Biology, Academic Press, NY, sección VIII, págs. 421-463.

Algunas realizaciones de la invención también pueden usar otros sistemas de expresión tales como sistemas de células hospedadoras de insectos y mamíferos que son bien conocidos en la técnica y se describen adicionalmente a continuación en el presente documento.

La recuperación del polipéptido recombinante se efectúa después de un tiempo adecuado en cultivo. La expresión "recuperación del polipéptido recombinante" se refiere a recoger todo el medio de fermentación que contiene el polipéptido y no necesita implicar etapas adicionales de separación o purificación. A pesar de lo anterior, los polipéptidos de algunas realizaciones de la invención pueden purificarse usando diversas técnicas convencionales de purificación de proteínas, tales como, pero sin limitación, cromatografía de afinidad, cromatografía de intercambio iónico, filtración, electroforesis, cromatografía de interacción hidrófoba, cromatografía de filtración en gel, cromatografía de fase inversa, cromatografía con concanavalina A, cromatoenfoco y solubilización diferencial.

Un equipo que contiene lignina peroxidasa:

5 Según otro aspecto de algunas realizaciones de la invención, se proporciona un equipo para aclarar un sitio corporal tópico tal como piel y/o pelo de un sujeto (p. ej., de acuerdo con un método descrito en el presente documento). El equipo comprende una lignina peroxidasa (p. ej., como se describe en el presente documento), una enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., como se describe en el presente documento) y un sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., como se describe en el presente documento). Al menos una de la lignina peroxidasa, enzima productora de peróxido de hidrógeno y sustrato de la misma forma parte de una composición que se envasa individualmente dentro del equipo.

15 Debe entenderse que un equipo que contiene lignina peroxidasa descrito en el presente documento (p. ej., en esta sección) puede contener una lignina peroxidasa según una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento relacionadas con lignina peroxidasa y puede contener un sistema productor de peróxido de hidrógeno (p. ej., enzima y/o sustrato) según una cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento relacionadas con dicho sistema y/o con un equipo que contiene dicho sistema.

20 En la realización descrita en el presente documento, la enzima productora de peróxido de hidrógeno forma parte de una primera composición y el sustrato forma parte de una segunda composición, en donde la primera composición y la segunda composición se envasan individualmente dentro del equipo. Es decir, la enzima y sustrato de la misma están en composiciones separadas dentro del equipo y no hay ningún contacto entre la enzima y el sustrato mientras están en el equipo.

25 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la segunda composición comprende además la lignina peroxidasa (p. ej., la lignina peroxidasa está envasada dentro de la misma composición que el sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno). En dichas realizaciones, la primera composición también se denomina "activador", ya que da como resultado la activación de lignina peroxidasa cuando se pone en contacto con la segunda composición que contiene lignina peroxidasa.

30 En realizaciones ilustrativas, la primera composición comprende además la lignina peroxidasa (p. ej., la lignina peroxidasa está envasada dentro de la misma composición que la enzima productora de peróxido de hidrógeno). En dichas realizaciones, la primera composición también se denomina formulación "enzimática" (p. ej., "crema enzimática"), ya que comprende las dos enzimas activas. La segunda composición también se denomina "activador", ya que da como resultado la activación de lignina peroxidasa cuando se pone en contacto con la primera composición que contiene lignina peroxidasa.

35 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la lignina peroxidasa forma parte de una tercera composición dentro del equipo, en donde la tercera composición se envasa individualmente dentro del equipo.

40 En cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, cada una de la primera composición descrita en el presente documento, la segunda composición descrita en el presente documento y cualquier otra parte de la composición productora de peróxido de hidrógeno descrita en el presente documento también puede denominarse en el presente documento formulación, que está envasada dentro del equipo, por lo que mezclar estas formulaciones da como resultado la formación de cualquiera de las composiciones productoras de peróxido de hidrógeno, como se describe en el presente documento.

45 La primera composición y la segunda composición y la tercera composición opcional del equipo pueden combinarse para preparar una composición cosmética que comprende una lignina peroxidasa, una enzima productora de peróxido de hidrógeno y un sustrato de la misma (p. ej., como se describe en el presente documento).

50 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la enzima productora de peróxido de hidrógeno y el sustrato de la misma se envasan juntos (p. ej., como parte de una única composición) en un envase hermético dentro del equipo (p. ej., un recipiente hermético descrito en el presente documento). La lignina peroxidasa puede envasarse junto con la enzima productora de peróxido de hidrógeno y sustrato de la misma o envasarse por separado.

55 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una concentración de lignina peroxidasa en una composición en el equipo que comprende la lignina peroxidasa está en un intervalo de 2,5 a 250 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 8 a 80 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 12 a 40 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración es de aproximadamente 25 unidades/gramo.

60 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una concentración de lignina peroxidasa en una composición en el equipo que comprende la lignina peroxidasa está en un intervalo de 8 a 250 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 12 a 250 unidades/gramo.

En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 25 a 250 unidades/gramo.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una concentración de lignina peroxidasa en una composición en el equipo que comprende la lignina peroxidasa está en un intervalo de 2,5 a 80 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 2,5 a 40 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 2,5 a 25 unidades/gramo.

Según algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el equipo comprende además un mediador de oxidación (p. ej., como se describe en el presente documento).

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el mediador de oxidación es parte de una composición en el equipo que comprende la lignina peroxidasa. En algunas realizaciones, tanto la lignina peroxidasa como el mediador de oxidación son parte de la primera composición. En algunas realizaciones, tanto la lignina peroxidasa como el mediador de oxidación son parte de la segunda composición. En algunas realizaciones, tanto la lignina peroxidasa como el mediador de oxidación son parte de la tercera composición.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el mediador de oxidación se envasa por separado de la composición en el equipo que comprende lignina peroxidasa. En algunas realizaciones, la lignina peroxidasa es parte de la primera composición o tercera composición descrita en el presente documento y el mediador de oxidación es parte de la segunda composición. En algunas realizaciones, la lignina peroxidasa es parte de la segunda composición o tercera composición descrita en el presente documento y el mediador de oxidación es parte de la primera composición.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una concentración del mediador de oxidación en la composición en el equipo que comprende el mediador de oxidación está en el intervalo de 0,06 μ moles/gramo a 600 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 0,6 a 60 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 2 a 20 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 4 a 10 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración es de aproximadamente 6 μ moles/gramo.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una concentración del mediador de oxidación en la composición en el equipo que comprende el mediador de oxidación está en el intervalo de 0,6 μ moles/gramo a 600 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 2 a 600 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 6 a 600 μ moles/gramo.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una concentración del mediador de oxidación en la composición en el equipo que comprende el mediador de oxidación está en el intervalo de 0,06 μ moles/gramo a 60 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 0,06 a 60 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 0,06 a 6 μ moles/gramo.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una concentración del mediador de oxidación en la composición en el equipo que comprende el mediador de oxidación está en un intervalo de 0.06 μ moles/gramo a 600 μ moles/gramo y una concentración de lignina peroxidasa en una composición en el equipo que comprende la lignina peroxidasa está en un intervalo de 2,5 a 250 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración del mediador de oxidación está en un intervalo de 0,06 a 60 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración del mediador de oxidación está en un intervalo de 0,6 a 600 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración del mediador de oxidación está en un intervalo de 0,6 a 60 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración del mediador de oxidación está en un intervalo de 2 a 20 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración del mediador de oxidación está en un intervalo de 4 a 10 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración del mediador de oxidación es de aproximadamente 6 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, el mediador de oxidación se selecciona del grupo que consiste en alcohol veratrílico, veratrol y 1,4-dimetoxibenceno. En algunas realizaciones, el mediador de oxidación es alcohol veratrílico. En algunas realizaciones, el mediador de oxidación y la lignina peroxidasa están comprendidos por la misma composición.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una concentración del mediador de oxidación en la composición en el equipo que comprende el mediador de oxidación está en un intervalo de 0.06 μ moles/gramo a 600 μ moles/gramo y una concentración de lignina peroxidasa en una composición en el equipo que comprende la lignina peroxidasa está en un intervalo de 8 a 250 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración del mediador de oxidación está en un intervalo de 0,06 a 60 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración del mediador de oxidación está en un intervalo de 0,6 a 600 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración del mediador de oxidación está en un intervalo de 0,6 a 60 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración del mediador de oxidación está en un intervalo de 2 a 20 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración del mediador de oxidación está en un intervalo de 4 a 10 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración del mediador de oxidación es de aproximadamente 6 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, el mediador de oxidación se selecciona del grupo que consiste en alcohol veratrílico, veratrol y 1,4-dimetoxibenceno. En algunas realizaciones, el mediador de oxidación es alcohol veratrílico. En algunas realizaciones,

realizaciones, la concentración del mediador de oxidación está en un intervalo de 4 a 10 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración del mediador de oxidación es de aproximadamente 6 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, el mediador de oxidación se selecciona del grupo que consiste en alcohol veratrílico, veratrol y 1,4-dimetoxibenceno. En algunas realizaciones, el mediador de oxidación es alcohol veratrílico. En algunas realizaciones, el mediador de oxidación y la lignina peroxidasa están comprendidos por la misma composición.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una concentración del mediador de oxidación en la composición en el equipo que comprende el mediador de oxidación está en un intervalo de 0,06 μ moles/gramo a 600 μ moles/gramo y una concentración de lignina peroxidasa en una composición en el equipo que comprende la lignina peroxidasa está en un intervalo de 25 a 250 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración del mediador de oxidación está en un intervalo de 0,06 a 60 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración del mediador de oxidación está en un intervalo de 0,6 a 600 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración del mediador de oxidación está en un intervalo de 0,6 a 60 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración del mediador de oxidación está en un intervalo de 2 a 20 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración del mediador de oxidación está en un intervalo de 4 a 10 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración del mediador de oxidación es de aproximadamente 6 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, el mediador de oxidación se selecciona del grupo que consiste en alcohol veratrílico, veratrol y 1,4-dimetoxibenceno. En algunas realizaciones, el mediador de oxidación es alcohol veratrílico. En algunas realizaciones, el mediador de oxidación y la lignina peroxidasa están comprendidos por la misma composición.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una concentración del mediador de oxidación en la composición en el equipo que comprende el mediador de oxidación está en un intervalo de 0,06 μ moles/gramo a 600 μ moles/gramo y una concentración de lignina peroxidasa en una composición en el equipo que comprende la lignina peroxidasa está en un intervalo de 2,5 a 25 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración del mediador de oxidación está en un intervalo de 0,06 a 60 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración del mediador de oxidación está en un intervalo de 0,6 a 600 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración del mediador de oxidación está en un intervalo de 0,6 a 60 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración del mediador de oxidación está en un intervalo de 2 a 20 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración del mediador de oxidación está en un intervalo de 4 a 10 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración del mediador de oxidación es de aproximadamente 6 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, el mediador de oxidación se selecciona del grupo que consiste en alcohol veratrílico, veratrol y 1,4-dimetoxibenceno. En algunas realizaciones, el mediador de oxidación es alcohol veratrílico. En algunas realizaciones, el mediador de oxidación y la lignina peroxidasa están comprendidos por la misma composición.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una concentración de la enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., glucosa oxidasa) en una composición en cualquiera de los equipos descritos en el presente documento (p. ej., una primera composición descrita en el presente documento) está en un intervalo de 0,25 a 2500 unidades/gramo. En la realización de la invención, la concentración está en un intervalo de 2,5 a 250 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 8 a 80 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 12 a 40 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración es de aproximadamente 25 unidades/gramo.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una concentración de la enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., glucosa oxidasa) en una composición en el equipo (p. ej., una primera composición descrita en el presente documento) está en un intervalo de 2,5 a 2500 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 8 a 2500 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 25 a 2500 unidades/gramo.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una concentración de la enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., glucosa oxidasa) en una composición en el equipo (p. ej., una primera composición descrita en el presente documento) está en un intervalo de 0,25 a 250 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 0,25 a 80 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración está en un intervalo de 0,25 a 25 unidades/gramo.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una concentración de lignina peroxidasa en una composición en el equipo que comprende la lignina peroxidasa está en un intervalo de 2,5 a 250 unidades/gramo y una concentración de la enzima productora de peróxido de hidrógeno en una composición en el equipo (p. ej., una primera composición descrita en el presente documento) está en un intervalo de 0,25 a 2500 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de lignina peroxidasa está en un intervalo de 2,5 a 80 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de lignina peroxidasa está en un intervalo de 8 a 250 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de lignina peroxidasa está en un intervalo de 8 a 80 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de lignina peroxidasa está en un intervalo de 12 a 40 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de lignina peroxidasa es de aproximadamente 25 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la enzima productora de peróxido de hidrógeno y la lignina peroxidasa están comprendidas por la misma composición. En algunas realizaciones, la enzima productora de peróxido de hidrógeno es glucosa oxidasa.

5 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una concentración de lignina peroxidasa en una composición en el equipo que comprende la lignina peroxidasa está en un intervalo de 2,5 a 250 unidades/gramo y una concentración de la enzima productora de peróxido de hidrógeno en una composición en el equipo (p. ej., una primera composición descrita en el presente documento) está en un intervalo de 8 a 80 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de lignina peroxidasa está en un intervalo de 2,5 a 80 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de lignina peroxidasa está en un intervalo de 8 a 250 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de lignina peroxidasa está en un intervalo de 8 a 80 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de lignina peroxidasa está en un intervalo de 12 a 40 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de lignina peroxidasa es de aproximadamente 25 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la enzima productora de peróxido de hidrógeno y la lignina peroxidasa están comprendidas por la misma composición. En algunas realizaciones, la enzima productora de peróxido de hidrógeno es glucosa oxidasa.

15 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una concentración del sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., glucosa) en una composición en cualquiera de los equipos descritos en el presente documento (p. ej., una segunda composición descrita en el presente documento) está en un intervalo de 0,035 μ moles/gramo a 350 μ moles/gramo. En la realización de la invención, la concentración está en un intervalo de 0,35 a 35 μ moles/gramo. En alguna realización, la concentración está en un intervalo de 1 a 12 μ moles/gramo. En alguna realización, la concentración está en un intervalo de 2 a 7 μ moles/gramo. En alguna realización, la concentración es de aproximadamente 3,5 μ moles/gramo.

25 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una concentración del sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., glucosa) en una composición en el equipo (p. ej., una segunda composición descrita en el presente documento) está en un intervalo de 0,35 μ moles/gramo a 350 μ moles/gramo. En alguna realización, la concentración está en un intervalo de 1 a 350 μ moles/gramo. En alguna realización, la concentración está en un intervalo de 3,5 a 350 μ moles/gramo.

30 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una concentración del sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., glucosa) en una composición en el equipo (p. ej., una segunda composición descrita en el presente documento) está en un intervalo de 0,035 μ moles/gramo a 35 μ moles/gramo. En alguna realización, la concentración está en un intervalo de 0,035 a 12 μ moles/gramo. En alguna realización, la concentración está en un intervalo de 0,035 a 3,5 μ moles/gramo.

35 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una concentración de la enzima productora de peróxido de hidrógeno en una composición en cualquiera de los equipos descritos en el presente documento (p. ej., una primera composición descrita en el presente documento) está en un intervalo de 0,25 a 2500 unidades/gramo y una concentración del sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno en una composición en el equipo (p. ej., una segunda composición descrita en el presente documento) está en un intervalo de 0,035 μ moles/gramo a 350 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 0,25 a 250 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 2,5 a 250 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 2,5 a 250 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 8 a 80 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 12 a 40 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima es de aproximadamente 25 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la enzima es glucosa oxidasa y el sustrato es glucosa. En algunas realizaciones, la enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., glucosa oxidasa) y el sustrato (p. ej., glucosa) están comprendidos por composiciones separadas en el equipo.

50 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una concentración de la enzima productora de peróxido de hidrógeno en una composición en cualquiera de los equipos descritos en el presente documento (p. ej., una primera composición descrita en el presente documento) está en un intervalo de 0,25 a 2500 unidades/gramo y una concentración del sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno en una composición en el equipo (p. ej., una segunda composición descrita en el presente documento) está en un intervalo de 0,35 μ moles/gramo a 350 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 0,25 a 250 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 2,5 a 2500 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 2,5 a 250 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 8 a 80 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 12 a 40 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima es de aproximadamente 25 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la enzima es glucosa oxidasa y el sustrato es glucosa. En algunas realizaciones, la enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., glucosa oxidasa) y el sustrato (p. ej., glucosa) están comprendidos por composiciones separadas en el equipo.

65 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una concentración de la enzima productora de peróxido de hidrógeno en una composición en cualquiera de los equipos descritos en el presente documento (p. ej., una primera composición descrita en el presente documento) está en un intervalo de 0,25

En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 12 a 40 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima es de aproximadamente 25 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la enzima es glucosa oxidasa y el sustrato es glucosa. En algunas realizaciones, la enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., glucosa oxidasa) y el sustrato (p. ej., glucosa) están comprendidos por composiciones separadas en el equipo.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una concentración de la enzima productora de peróxido de hidrógeno en una composición en cualquiera de los equipos descritos en el presente documento (p. ej., una primera composición descrita en el presente documento) está en un intervalo de 0,25 a 2500 unidades/gramo y una concentración del sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno en una composición en el equipo (p. ej., una segunda composición descrita en el presente documento) está en un intervalo de 3,5 μ moles/gramo a 350 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 0,25 a 250 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 2,5 a 2500 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 2,5 a 250 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 8 a 80 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 12 a 40 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima es de aproximadamente 25 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la enzima es glucosa oxidasa y el sustrato es glucosa. En algunas realizaciones, la enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., glucosa oxidasa) y el sustrato (p. ej., glucosa) están comprendidos por composiciones separadas en el equipo.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una concentración de la enzima productora de peróxido de hidrógeno en una composición en cualquiera de los equipos descritos en el presente documento (p. ej., una primera composición descrita en el presente documento) está en un intervalo de 0,25 a 2500 unidades/gramo y una concentración del sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno en una composición en el equipo (p. ej., una segunda composición descrita en el presente documento) está en un intervalo de 0,035 μ moles/gramo a 3,5 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 0,25 a 250 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 2,5 a 2500 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 2,5 a 250 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 8 a 80 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 12 a 40 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima es de aproximadamente 25 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la enzima es glucosa oxidasa y el sustrato es glucosa. En algunas realizaciones, la enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., glucosa oxidasa) y el sustrato (p. ej., glucosa) están comprendidos por composiciones separadas en el equipo.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una concentración de la enzima productora de peróxido de hidrógeno en una composición en cualquiera de los equipos descritos en el presente documento (p. ej., una primera composición descrita en el presente documento) está en un intervalo de 0,25 a 2500 unidades/gramo y una concentración del sustrato de la enzima productora de peróxido de hidrógeno en una composición en el equipo (p. ej., una segunda composición descrita en el presente documento) está en un intervalo de 2 μ moles/gramo a 7 μ moles/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 0,25 a 250 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 2,5 a 2500 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 2,5 a 250 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 8 a 80 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima está en un intervalo de 12 a 40 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la concentración de enzima es de aproximadamente 25 unidades/gramo. En algunas realizaciones, la enzima es glucosa oxidasa y el sustrato es glucosa. En algunas realizaciones, la enzima productora de peróxido de hidrógeno (p. ej., glucosa oxidasa) y el sustrato (p. ej., glucosa) están comprendidos por composiciones separadas en el equipo.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la primera composición del equipo comprende glucosa oxidasa a una concentración en un intervalo de 2,5 a 250 unidades/gramo (p. ej., una concentración de glucosa oxidasa descrita en el presente documento) y la segunda composición del equipo comprende D-glucosa a una concentración en un intervalo de 0,35 μ moles/gramo a 35 μ moles/gramo (p. ej., una concentración de glucosa descrita en el presente documento).

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la primera composición del equipo comprende glucosa oxidasa a una concentración en un intervalo de 2,5 a 250 unidades/gramo (p. ej., una concentración de glucosa oxidasa descrita en el presente documento) y lignina peroxidasa a una concentración de 2,5 a 250 unidades/gramo (p. ej., una concentración de lignina peroxidasa descrita en el presente documento); y la segunda composición del equipo comprende D-glucosa a una concentración en un intervalo de 0,35 μ moles/gramo a 35 μ moles/gramo (p. ej., una concentración de glucosa descrita en el presente documento).

Los equipos descritos en el presente documento pueden incluir composiciones adicionales (p. ej., composiciones cosméticas), además de las composiciones que comprenden uno o más principios activos como se describe en el

presente documento (p. ej., un agente que presenta una actividad en presencia de peróxido de hidrógeno, una lignina peroxidasa, una enzima productora de peróxido de hidrógeno, un sustrato de enzima productora de peróxido de hidrógeno y/o un mediador de oxidación).

5 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el equipo comprende además una composición de lavado (p. ej., como se describe en el presente documento), tal como un lavado facial, para limpiar un sitio corporal tópico antes de entrar en contacto con una composición descrita en el presente documento.

10 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el equipo incluye instrucciones de uso adecuadas y marcadores que indican la aprobación por una agencia reguladora para el uso indicado, como se describe en el presente documento.

Formulación de composiciones:

15 Según algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones y cualquiera de los aspectos de las realizaciones de la invención descritas en el presente documento, el principio o los principios activos descritos en el presente documento (p. ej., un agente que presenta una actividad en presencia de peróxido de hidrógeno, una lignina peroxidasa, una enzima productora de peróxido de hidrógeno, puede usarse un sustrato de enzima productora de peróxido de hidrógeno y/o un mediador de oxidación) en una composición que comprende los principios activos) en sí mismos o en combinación con componentes químicos adicionales tales como vehículos y excipientes fisiológicamente adecuados. Las composiciones incluyen una composición cosmética o farmacéutica descrita en el presente documento (que presenta una actividad cosmética o farmacéutica como se describe en el presente documento) y composiciones dentro de un equipo (p. ej., una primera composición, una segunda composición y/o una tercera composición, como se describe en el presente documento) que puede usarse para preparar una composición cosmética o farmacéutica descrita en el presente documento (aunque pueden estar inactivos por sí solos).

20 El fin de una composición cosmética o farmacéutica que comprende vehículos y excipientes es facilitar la administración del principio activo a un organismo. En realizaciones en donde una actividad presentada por la composición es cosmética, como se define en el presente documento, la composición también se denomina en el presente documento "composición cosmética". En realizaciones en donde una actividad presentada por la composición es farmacéutica, la composición también se denomina en el presente documento "composición farmacéutica".

25 En todo el presente documento, el término "farmacéutico" significa que la composición o el equipo son para presentar un efecto terapéutico cuando se aplican en el sitio corporal de un sujeto como se describe en el presente documento.

30 En lo sucesivo en el presente documento, la expresión "vehículo adecuado" se refiere a un vehículo o diluyente que no provoca irritación significativa a un organismo y no anula la actividad biológica y las propiedades del principio o los principios activos. En realizaciones en donde una actividad presentada por el principio o principios activos es cosmética, dicho vehículo también se denomina en el presente documento "vehículo cosmética o cosmeceúticamente aceptable". En realizaciones en donde una actividad presentada por el principio o principios activos es farmacéutica, dicho vehículo también se denomina en el presente documento "vehículo farmacéuticamente aceptable".

35 En el presente documento el término "excipiente" se refiere a una sustancia inerte añadida a una composición para facilitar adicionalmente la administración de un principio o principios activos. Los ejemplos, sin limitación, de excipientes incluyen carbonato de calcio, fosfato de calcio, diversos azúcares y tipos de almidón, derivados de celulosa, gelatina, aceites vegetales y polietilenglicoles.

40 Las composiciones de la presente invención pueden fabricarse mediante procesos bien conocidos en la técnica, p. ej., por medio de procesos convencionales de mezclado, disolución, granulación, composición de grageas, levigación, emulsión, encapsulación, inmovilización o liofilización.

45 Las composiciones para su uso de acuerdo con algunas realizaciones de la invención pueden formularse por tanto de manera convencional usando uno o más vehículos adecuados que comprenden excipientes y adyuvantes, que facilitan el procesamiento del principio o los principios activos en preparaciones. La formulación adecuada depende del enfoque de administración elegido.

50 Como alternativa, el principio o los principios activos pueden estar en forma de polvo para su constitución con un vehículo adecuado, p. ej., solución a base de agua apirógena, estéril, antes de su uso.

55 Las composiciones según algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones y cualquiera de los aspectos descritos en el presente documento pueden formularse en cualquiera de diversas formas utilizadas por la industria cosmética (p. ej., para uso tópico), tales como, por ejemplo, una mascarilla, un suero, una loción, una crema, un champú, un gel y/o un tónico. Como resultará evidente para el experto en la materia, la idoneidad de las formulaciones dependerá del tipo de superficie que entrará en contacto con el principio o los principios activos, por tanto, por ejemplo, una formulación de champú es adecuada para entrar en contacto con el cabello, una mascarilla facial es adecuada

para entrar en contacto con la piel facial, etc.

5 Los expertos en la materia conocen bien métodos para preparar composiciones que tienen propiedades tales como las descritas en el presente documento y estos se describen en detalle en Remington's Pharmaceutical Sciences, 1990 (mencionado anteriormente); y Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 6ª ed., Williams y Wilkins (1995).

10 Según algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones de la invención, la composición cosmética se formula lo suficientemente viscosa para permanecer en el área tratada, que no se evapore fácilmente y/o no se elimine fácilmente aclarando con agua.

Como se usa en el presente documento, el término "suero" se refiere a una solución acuosa que se formula para aplicación tópica.

15 Según algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones de la invención, el suero es una solución cosmética acuosa espesa. Según algunas realizaciones de la invención, el suero es una solución acuosa entre transparente y ligeramente turbia.

20 Según algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones de la invención, el suero está formulado para permanecer en un sitio corporal tópico y no es necesario que sea eliminado por agua, jabón y/o limpiadores.

Según algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones de la invención, tras la aplicación tópica del suero (p. ej., a la piel), el suero se absorbe rápidamente, dejando una sensación suave y sedosa cosméticamente elegante.

25 Según algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones de la invención, el suero se incorpora dentro de una mascarilla (una mascarilla cosmética).

30 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el suero comprende ingredientes presentados en la tabla 2:

Tabla 2: Composición de suero según algunas realizaciones

Ingrediente	Intervalo de peso en porcentaje
Agua	75 - 100 %
Principio o principios activos	Como se describe en el presente documento
Glicerina	5 - 10 %
Poliacrilato-13	0,1 - 1 %
Dimeticona	0,1 - 1 %
Carbonato de dicaprililo	0,1 - 1 %
Alcohol cetílico	0,1 - 1 %
Alcohol estearílico	0,1 - 1 %
Fenoxietanol	0,1 - 1 %
<i>Portulaca oleracea</i>	0 - 1 %
Poliisobuteno	0,1 - 1 %
Butilenglicol	0 - 1 %
Pululano	0 - 0,1 %
Polisorbato 20	0 - 0,1 %
Laurato de PEG-4	0 - 0,1 %
Dilaurato de PEG-4	0 - 0,1 %
PEG-4	0 - 0,1 %
Butilcarbamato de Iodopropinilo	0 - 0,1 %

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, una composición como se describe en el presente documento (p. ej., suero, loción, crema) comprende un emoliente dermatológicamente aceptable. Dichas composiciones contienen preferentemente de aproximadamente 2 % a aproximadamente 50 % del emoliente. Como se usa en el presente documento, "emoliente" se refiere a un material útil para la prevención o el alivio de la sequedad, así como para la protección de la piel. Se conoce una amplia variedad de emolientes adecuados y se pueden usar en el presente documento. Véase, p. ej., Sagarin, *Cosmetics, Science and Technology*, 2ª edición, vol. 1, págs. 3243 (1972), que contiene numerosos ejemplos de materiales adecuados como emolientes. Un emoliente preferido es la glicerina. La glicerina se usa preferentemente en una cantidad de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 20 %, más preferente de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 %, lo más preferentemente de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 5 %, p. ej., 3 %.

Las lociones y cremas según la presente invención comprenden en general un sistema de vehículo de solución y uno o más emolientes. Las lociones normalmente comprenden de aproximadamente 1 % a aproximadamente 20 %, preferentemente de aproximadamente 5 % a aproximadamente 10 % de emoliente; de aproximadamente 50 % a aproximadamente 90 %, preferentemente de aproximadamente 60 % a aproximadamente 80 % de agua; y una cantidad farmacéuticamente eficaz de un agente descrito en el presente documento. Una crema normalmente comprende de aproximadamente 5 % a aproximadamente 50 %, preferentemente de aproximadamente 10 % a aproximadamente 20 % de emoliente; de aproximadamente 45 % a aproximadamente 85 %, preferentemente de aproximadamente 50 % a aproximadamente 75 % de agua; y una cantidad eficaz de principio o principios activos descritos en el presente documento.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la crema o loción comprende ingredientes presentados en la tabla 3:

Tabla 3: Composición de crema o loción según algunas realizaciones

Ingrediente	Intervalo de peso en porcentaje
Agua	50 - 75 %
Principio o principios activos	Como se describe en el presente documento
Glicerina	5 - 10 %
Mantequilla de <i>Butyrospermum parkii</i>	0 - 5 %
Dimeticona	1 - 5 %
Carbonato de dicaprililo	1 - 5 %
Trehalosa	0 - 5 %
Triglicérido caprílico cáprico	0 - 1 %
Alcohol cetílico	0,1 - 1 %
Éster de jojoba	0 - 1 %
Alcohol estearílico	0,1 - 1 %
Poliacrilato-13	0,1 - 1 %
Palmitato de cetilo	0 - 1 %

(continuación)

Ingrediente	Intervalo de peso en porcentaje
Miristato de miristilo	0 - 1 %
Fenoxietanol	0,1 - 1 %
Poliisobuteno	0,1 - 1 %
Pululano	0 - 1 %
Polisorbato 20	0 - 0,1 %
Laurato de PEG-4	0 - 0,1 %
Dilaurato de PEG-4	0 - 0,1 %
PEG-4	0 - 0,1 %
Butilcarbamato de lodopropinilo	0 - 0,1 %

En realizaciones ilustrativas, la crema o loción comprende ingredientes presentados en la tabla 4:

Tabla 4: Composición de crema o loción según realizaciones ejemplares

Ingrediente	Intervalo de peso en porcentaje
Agua	75 - 100 %
Principio o principios activos	Como se describe en el presente documento
Glicerina	5 - 10 %
Propilenglicol	1 - 5 %
Carbonato de dicaprililo	0,1 - 1 %
Dimeticona	0,1 - 1 %
Poliacrilato-13	0,1 - 1 %
Alcohol cetílico	0,1 - 1 %
Parafina líquida	0,1 - 1 %
Alcohol estearílico	0,1 - 1 %
Fenoxietanol	0,1 - 1 %
Poliisobuteno	0,1 - 1 %
Polisorbato 20	0 - 0,1 %
Laurato de PEG-4	0 - 0,1 %
Dilaurato de PEG-4	0 - 0,1 %
PEG-4	0 - 0,1 %
Butilcarbamato de lodopropinilo	0 - 0,1 %
Clorfenesina	0 - 1 %
Goma de <i>Caesalpinia spinosa</i>	0 - 1 %
Ácido cítrico	0 - 0,1 %

- 5 Como se usa en el presente documento, el término "mascarilla" se refiere a una mascarilla cosmética que comprende el principio o principios activos como se describe en el presente documento y que se aplica por vía tópica para mantener el contacto del principio o principios activos con una región tópica, por ejemplo, para aclarar la región tópica.
- 10 Se conocen diversos tipos de mascarillas cosméticas en la industria cosmética. Estos incluyen, pero sin limitación, una mascarilla que tiene un soporte sólido, una mascarilla lavable, una mascarilla despegable o una mascarilla que se endurece o polimeriza después de un periodo de tiempo establecido.
- 15 Como se usa en el presente documento, la expresión "mascarilla lavable" se refiere a una composición cosmética formulada para aplicarse por vía tópica en una capa relativamente gruesa y dejarse durante un periodo de tiempo determinado, generalmente de unos pocos minutos a varias decenas de minutos, y para, al final de este periodo de tiempo, lavarse con agua o simplemente limpiarse.
- 20 Se describen mascarillas y técnicas adecuadas para preparar mascarillas con un principio o principios activos tales como los descritos en el presente documento en la publicación de solicitud de patente internacional WO 2012/153336.
- En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, se determina la forma de la composición, al menos en parte, seleccionando un vehículo adecuado.
- 25 En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, el vehículo comprende una emulsión. Dichos vehículos incluyen, sin limitación, emulsiones de aceite en agua, agua en aceite, agua en aceite en agua y aceite en agua en silicona, una crema, una pomada, una solución acuosa, una loción o un aerosol. Como entenderá un experto en la materia, un componente dado se distribuirá principalmente en la fase de

agua o aceite/silicona, dependiendo de la solubilidad/dispersabilidad en agua del componente en la composición.

Las emulsiones según algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones de la invención contienen en general una cantidad eficaz de principio o principios activos desvelados en el presente documento y aceite. El principio o los principios activos (p. ej., un agente que presenta una actividad en presencia de peróxido de hidrógeno, una lignina peroxidasa, una enzima productora de peróxido de hidrógeno, un sustrato de enzima productora de peróxido de hidrógeno y/o un mediador de oxidación) y aceites pueden proceder de animales, plantas o petróleo y puede ser naturales o sintéticos (es decir, artificiales). Las emulsiones preferidas también contienen un humectante, tal como glicerina. Las emulsiones contendrán preferentemente además de aproximadamente 1 % a aproximadamente 10 %, más preferentemente de aproximadamente 2 % a aproximadamente 5 %, de un emulsionante, según el peso del vehículo. Los emulsionantes pueden ser no iónicos, aniónicos o catiónicos. Se describen emulsionantes adecuados en, por ejemplo, la patente de los Estados Unidos n.º 3.755.560, expedida a Dickert, *et al.*, 28 de agosto de 1973; la patente de los Estados Unidos n.º 4.421.769, expedida a Dixon, *et al.*, 20 de diciembre de 1983; y McCutcheon's Detergents and Emulsifiers, edición norteamericana, páginas 317-324 (1986).

La emulsión también puede contener un agente antiespumante para minimizar la formación de espuma tras su aplicación al tejido queratinoso. Los agentes antiespumantes incluyen siliconas de alto peso molecular y otros materiales bien conocidos en la técnica para dicho uso.

Las emulsiones adecuadas pueden tener una amplia gama de viscosidades, dependiendo de la forma de producto deseada. Las emulsiones ilustrativas de baja viscosidad, que se prefieren, tienen una viscosidad de aproximadamente 50 centistokes o menos, más preferentemente aproximadamente 10 centistokes o menos, lo más preferentemente aproximadamente 5 centistokes o menos. La emulsión también puede contener un agente antiespumante para minimizar la formación de espuma tras la aplicación tópica. Los agentes antiespumantes incluyen siliconas de alto peso molecular y otros materiales bien conocidos en la técnica para dicho uso.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la emulsión es una emulsión de aceite en agua, que tiene una fase acuosa continua y una fase hidrófoba, insoluble en agua ("fase oleosa") dispersa en la misma. Se describen ejemplos de vehículos adecuados que comprenden emulsiones de aceite en agua en las patentes de los Estados Unidos n.º 5.073.371 y 5.073.372.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la emulsión de aceite en agua comprende un agente estructurador para ayudar en la formación de una estructura de red de gel cristalino líquido. Sin quedar limitado 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. El agente estructurador también puede actuar como un emulsionante o tensioactivo. Las composiciones preferidas de la presente invención comprenden de aproximadamente 0,5 % a aproximadamente 20 %, más preferentemente de aproximadamente 1 % a aproximadamente 10 %, lo más preferentemente de aproximadamente 1 % a aproximadamente 5 %, en peso de la composición, de un agente estructurador. Los agentes estructuradores preferidos de la presente invención se seleccionan del grupo que consiste en ácido esteárico, ácido palmítico, alcohol estearílico, alcohol cetílico, alcohol behenílico, el éter de polietilenglicol de alcohol estearílico que tiene un promedio de aproximadamente 1 a aproximadamente 21 unidades de óxido de etileno, el éter de polietilenglicol de alcohol cetílico que tiene un promedio de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 unidades de óxido de etileno y mezclas de los mismos.

Una amplia variedad de tensioactivos aniónicos también son útiles en el presente documento, como se describe, por ejemplo, en la patente de los Estados Unidos n.º 3.929.678. Además, también son útiles en el presente documento tensioactivos anfóteros y zwitteriónicos.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la emulsión de aceite en agua comprende de aproximadamente 25 % a aproximadamente 98 %, preferentemente de aproximadamente 65 % a aproximadamente 95 %, más preferentemente de aproximadamente 70 % a aproximadamente 90 % de agua en peso del vehículo tópico.

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, la emulsión es una emulsión de agua en silicona. Las emulsiones de agua en silicona contienen una fase continua de silicona y una fase acuosa dispersa. Las emulsiones de agua en silicona preferidas de la presente invención comprenden de aproximadamente 1 % a aproximadamente 60 %, preferentemente de aproximadamente 5 % a aproximadamente 40 %, más preferentemente de aproximadamente 10 % a aproximadamente 20 %, en peso de una fase continua de silicona. La fase continua de silicona existe como una fase externa que contiene o rodea la fase acuosa discontinua descrita en a continuación en el presente documento.

La fase continua de silicona puede contener un aceite de poliorganosiloxano.

La fase continua de silicona puede contener uno o más aceites sin silicona. Las concentraciones de aceites sin silicona en la fase continua de silicona preferentemente se minimizan o evitan por completo para potenciar adicionalmente la estabilidad oxidativa del principio o principios activos en las composiciones. Los aceites sin silicona adecuados tienen

un punto de fusión de aproximadamente 25 °C o menos bajo aproximadamente una atmósfera de presión. Son ejemplos de aceites sin silicona adecuados para su uso en la fase continua de silicona los bien conocidos en la técnica química en productos tópicos para el cuidado personal en forma de emulsiones de agua en aceite, p. ej., aceite mineral, aceites vegetales, aceites sintéticos, aceites semisintéticos, etc.

Las composiciones tópicas útiles según algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones de la presente invención comprenden de aproximadamente 30 % a aproximadamente 90 %, más preferentemente de aproximadamente 50 % a aproximadamente 85 % y lo más preferentemente de aproximadamente 70 % a aproximadamente 80 % de una fase acuosa dispersa. La expresión "fase dispersa" es bien conocida por un experto en la técnica que implica que la fase existe como partículas pequeñas o gotitas que están suspendidas y rodeadas por una fase continua. La fase dispersa también se conoce como la fase interna o discontinua. La fase acuosa dispersa es una dispersión de partículas o gotitas acuosas pequeñas suspendidas en y rodeadas por la fase continua de aceite y/o silicona (p. ej., como se describe en el presente documento). La fase acuosa puede ser agua, o una combinación de agua y uno o más ingredientes solubles o dispersables en agua. Los ejemplos no limitantes de dichos ingredientes opcionales incluyen espesantes, ácidos, bases, sales, quelantes, gomas, alcoholes y polioles solubles o dispersables en agua, tampones, conservantes, agentes de protección solar, colorantes y similares.

Las composiciones tópicas de algunas realizaciones de la invención comprenden normalmente de aproximadamente 25 % a aproximadamente 90 %, preferentemente de aproximadamente 40 % a aproximadamente 80 %, más preferentemente de aproximadamente 60 % a aproximadamente 80 %, de agua en la fase acuosa dispersa en peso de la composición.

Las emulsiones de algunas realizaciones de la invención comprenden un emulsionante. En una realización preferida, la composición contiene de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 10 % de emulsionante, más preferentemente de aproximadamente 0,5 % a aproximadamente 7,5 %, lo más preferentemente de aproximadamente 1 % a aproximadamente 5 %, de emulsionante en peso de la composición. El emulsionante ayuda a dispersar y suspender la fase acuosa dentro de la fase de aceite y/o silicona. Se pueden usar agentes emulsionantes conocidos o convencionales en la composición, siempre que el agente emulsionante seleccionado sea química y físicamente compatible con componentes esenciales de la composición y proporcione las características de dispersión deseadas. Los emulsionantes adecuados incluyen emulsionantes conocidos por los expertos en la técnica para su uso en productos tópicos para el cuidado personal.

Los emulsionantes adecuados incluyen cualquiera de una amplia variedad de tensioactivos catiónicos, aniónicos, zwitteriónicos y anfóteros conocidos. Véase, McCutcheon's. Detergents and Emulsifiers, edición norteamericana (1986), publicada por Allured Publishing Corporation; patente de los Estados Unidos n.º 5.011.681 de Ciotti *et al.*, expedida el 30 de abril de 1991; patente de los Estados Unidos n.º 4.421.769 de Dixon *et al.* expedida el 20 de diciembre de 1983; y patente de los Estados Unidos n.º 3.755.560. El tensioactivo exacto elegido depende del pH de la composición y de los otros componentes presentes. Se prefieren tensioactivos catiónicos, especialmente compuestos de dialquil-amonio cuaternario, ejemplos de los cuales se describen en la patente de los Estados Unidos N.º 5.151.209 de McCall *et al.* expedida el 29 de septiembre de 1992; patente de los Estados Unidos n.º 5.151.210 de Steuri *et al.*, expedida el 29 de septiembre de 1992; patente de los Estados Unidos n.º 5.120.532; patente de los Estados Unidos n.º 4.387.090; patente de los Estados Unidos n.º 3.155.591; patente de los Estados Unidos n.º 3.929.678; patente de los Estados Unidos n.º 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.

Como alternativa, otros emulsionantes catiónicos útiles incluyen amino-amidas. Los ejemplos no limitantes de estos emulsionantes catiónicos incluyen fosfato de cloruro de estearamidopropil PG-dimonio, cloruro de behenamidopropil PG dimonio, etosulfato de estearamidopropil etildimonio, cloruro de estearamidopropil dimetil (acetato de miristilo) amonio, tosilato de estearamidopropil dimetil cetearil amonio, cloruro de estearamidopropil dimetilamonio, lactato de estearamidopropil dimetilamonio y mezclas de los mismos.

La determinación de una cantidad eficaz de principio o principios activos está dentro de la capacidad de los expertos en la materia, especialmente a la luz de la divulgación detallada proporcionada en el presente documento.

Para cualquier preparación usada en los métodos de la invención, puede estimarse inicialmente la cantidad o dosis terapéuticamente eficaz a partir de ensayos *in vitro*. Además, una dosis puede formularse en sistemas *ex vivo* (p. ej., piel, pelo y/o uñas *ex vivo*) o en modelos animales para lograr una concentración o título deseado. Dicha información se puede usar para determinar con más precisión las dosis útiles en seres humanos.

Para potenciar la absorción percutánea de los principios activos (p. ej., lignina peroxidasa y/o mediador de oxidación), se pueden añadir uno o más de varios agentes a la composición incluyendo, pero sin limitación, dimetilsulfóxido, dimetilacetamida, dimetilformamida, tensioactivos, azona, alcohol, acetona, propilenglicol, polietilenglicol y butilenglicol.

Las composiciones descritas en el presente documento también pueden incluir componentes adicionales que se

añaden, por ejemplo, para enriquecer las composiciones con factores de fragancia y nutrición (p. ej., factores de nutrición para la piel o el pelo).

5 Dichos componentes se seleccionan adecuados para su uso tópico en un ser humano sin inducir toxicidad, incompatibilidad, inestabilidad, respuesta alérgica y similares dentro del alcance del criterio médico razonable. Además, dichos componentes opcionales son útiles siempre que no alteren de manera inaceptable los beneficios de los compuestos activos de la invención.

10 El CTFA Cosmetic Ingredient Handbook, segunda edición (1992) describe una amplia variedad de ingredientes cosméticos no limitantes habitualmente usados en la industria del cuidado de la piel, que son adecuados para su uso en las composiciones de la presente invención. Los ejemplos de estas clases de ingredientes incluyen: abrasivos, absorbentes, componentes estéticos tales como fragancias, pigmentos, colorantes/tintes, aceites esenciales, agentes sensoriales cutáneos, astringentes, etc. (p. ej., aceite de clavo, mentol, alcanfor, aceite de eucalipto, eugenol, lactato de mentilo, destilado de hamamelis), agentes antiacné, agentes antiaglomerantes, agentes antiespumantes, agentes antimicrobianos (p. ej., butilcarbamato de yodopropilo), antioxidantes, aglutinantes, aditivos biológicos, agentes tamponantes, agentes de carga, agentes quelantes, aditivos químicos, colorantes, astringentes cosméticos, biocidas cosméticos, desnaturalizantes, astringentes farmacológicos, analgésicos externos, formadores de películas o materiales, p. ej., polímeros, para ayudar a las propiedades de formación de películas y la sustantividad de la composición (p. ej., copolímero de eicoseno y vinilpirrolidona), agentes opacificantes, ajustadores de pH, propulsores, agentes reductores, secuestrantes, agentes acondicionadores de la piel (p. ej., humectantes, incluyendo variados y oclusivos), agentes calmantes y/o curativos de la piel (p. ej., pantenol y derivados (p. ej., etilpantenol), aloe vera, ácido pantoténico y sus derivados, alantoina, bisabolol y glucifizinato de dipotasio), agentes para el tratamiento de la piel, espesantes y vitaminas y derivados de los mismos.

25 Como las composiciones según algunas realizaciones descritas en el presente documento son para su uso *in vivo*, la composición es preferentemente de pureza alta y sustancialmente libre de contaminantes potencialmente perjudiciales, p. ej., al menos calidad alimentaria nacional (NF), en general al menos calidad analítica y preferentemente al menos calidad farmacéutica. En la medida en que un compuesto dado debe sintetizarse antes de su uso, dicha síntesis o posterior purificación dará como resultado preferentemente un producto que esté sustancialmente libre de cualquier agente tóxico potencialmente contaminante que pueda haberse usado durante los procedimientos de síntesis o purificación.

Como se usa en el presente documento, el término "aproximadamente" se refiere a $\pm 10\%$.

35 Las expresiones "comprende", "que comprende", "incluye", "que incluye", "que tiene" y sus conjugados significan "que incluye pero sin limitación".

La expresión "que consiste en" significa "que incluye y limitado a".

40 La expresión "que consiste esencialmente en" significa que la composición, el método y la estructura pueden incluir ingredientes, etapas y/o partes adicionales, pero solamente si los ingredientes, las etapas y/o las partes adicionales no alteran materialmente las características básicas y novedosas de la composición, el método o la estructura reivindicada.

45 Como se usa en el presente documento, la forma singular "un", "uno/a" y "el/la" incluyen referencias plurales a menos que el contexto indique claramente otra cosa. Por ejemplo, la expresión "un compuesto" o "al menos un compuesto" puede incluir una pluralidad de compuestos, incluyendo mezclas de los mismos.

50 A lo largo de la presente solicitud, se pueden presentar diversas realizaciones de la presente invención en un formato de intervalo. Debería entenderse que la descripción en formato de intervalo es únicamente por conveniencia y brevedad y no debería interpretarse como una limitación inflexible en el alcance de la invención. En consecuencia, debería considerarse que la descripción de un intervalo ha desvelado específicamente todos los posibles subintervalos así como valores numéricos individuales en ese intervalo. Por ejemplo, debería considerarse que la descripción de un intervalo tal como de 1 a 6 tiene subintervalos específicamente desvelados tales como de 1 a 3, de 1 a 4, de 1 a 5, de 2 a 4, de 2 a 6, de 3 a 6, etc., así como números individuales dentro de ese intervalo, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 y 6. Esto es aplicable independientemente de la amplitud del intervalo.

60 Siempre que se indique un intervalo numérico en el presente documento, se entiende que incluye cualquier número enumerado (fraccional o integral) dentro del intervalo indicado. Las expresiones "que varía/varía entre" un primer número indicado y un segundo número indicado y "que varía/varía de" un primer número indicado "a" un segundo número indicado se usan en el presente documento indistintamente y se entiende que incluyen los primer y segundo números indicados y todos los números fraccionales e integrales entre ellos.

65 Como se usa en el presente documento, el término "método" se refiere a maneras, medios, técnicas y procedimientos para realizar una tarea dada, incluyendo, pero sin limitación, esas maneras, medios, técnicas y procedimientos conocidos, o fácilmente desarrollados a partir de maneras, medios, técnicas y procedimientos conocidos por

profesionales de las técnicas química, farmacológica, biológica, bioquímica y médica.

Como se usa en el presente documento, el término "tratar" incluye anular, inhibir sustancialmente, ralentizar o invertir la progresión de una afección, mejorar sustancialmente los síntomas clínicos o estéticos de una afección o prevenir sustancialmente la aparición de síntomas clínicos o estéticos de una afección.

Se apreciará que determinadas características de la invención, que se describen, para mayor claridad, en el contexto de realizaciones separadas, también pueden proporcionarse en combinación en una única realización. Por el contrario, diversas características de la invención, que se describen, para mayor brevedad, en el contexto de una única realización, también se pueden proporcionar por separado o en cualquier subcombinación adecuada o según sea adecuado en cualquier otra realización descrita de la invención. Determinados elementos descritos en el contexto de diversas realizaciones no deben considerarse elementos esenciales de esas realizaciones, a no ser que la realización no sea operativa sin esos elementos.

Diversas realizaciones y aspectos de la presente invención como se han definido anteriormente en el presente documento y como se reivindica en la sección de reivindicaciones posterior encuentran apoyo experimental en los siguientes ejemplos.

Ejemplos

A continuación, se hace referencia a los siguientes ejemplos, que, junto con las descripciones anteriores, ilustran algunas realizaciones de la invención de manera no limitante.

En general, la nomenclatura usada en el presente documento y los procedimientos de laboratorio utilizados en la presente invención incluyen técnicas moleculares, bioquímicas, microbiológicas y de ADN recombinante. Dichas técnicas se explican exhaustivamente en la bibliografía. Véase, por ejemplo, "Molecular Cloning: A laboratory Manual" Sambrook *et al.*, (1989); "Current Protocols in Molecular Biology" volúmenes I-III Ausubel, R. M., ed. (1994); Ausubel *et al.*, "Current Protocols in Molecular Biology", John Wiley and Sons, Baltimore, Maryland (1989); Perbal, "A Practical Guide to Molecular Cloning", John Wiley & Sons, Nueva York (1988); Watson *et al.*, "Recombinant DNA", Scientific American Books, Nueva York; Birren *et al.* (eds) "Genome Analysis: A Laboratory Manual Series", vol. 1-4, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Nueva York (1998); metodologías expuestas en las patentes de los Estados Unidos n.º 4.666.828; 4.683.202; 4.801.531; 5.192.659 y 5.272.057; "Cell Biology: A Laboratory Handbook", volúmenes I-III Cellis, J. E., ed. (1994); "Current Protocols in Immunology" volúmenes I-III Coligan J. E., ed. (1994); Stites *et al.* (eds), "Basic and Clinical Immunology" (8ª edición), Appleton y Lange, Norwalk, CT (1994); Mishell y Shiigi (eds), "Selected Methods in Cellular Immunology", W. H. Freeman and Co., Nueva York (1980); se describen exhaustivamente en la bibliografía de patentes y científica inmunoensayos disponibles, véase, por ejemplo, patentes de los Estados Unidos n.º 3.791.932; 3.839.153; 3.850.752; 3.850.578; 3.853.987; 3.867.517; 3.879.262; 3.901.654; 3.935.074; 3.984.533; 3.996.345; 4.034.074; 4.098.876; 4.879.219; 5.011.771 y 5.281.521; "Oligonucleotide Synthesis" Gait, M. j., ed. (1984); "Nucleic Acid Hybridization" Hames, B. D. y Higgins S. j., eds. (1985); "Transcription and Translation" Hames, B. D. y Higgins S. J., Eds. (1984); "Animal Cell Culture" Freshney, R. I., ed. (1986); "Immobilized Cells and Enzymes" IRL Press, (1986); "A Practical Guide to Molecular Cloning" Perbal, B., (1984) y "Methods in Enzymology" Vol. 1-317, Academic Press; "PCR Protocols: A Guide To Methods And Applications", Academic Press, San Diego, CA (1990); Marshak *et al.*, "Strategies for Protein Purification and Characterization - A Laboratory Course Manual" CSHL Press (1996). Se proporcionan otras referencias generales a lo largo del presente documento. Se cree que los procedimientos en las mismas son bien conocidos en la técnica y se proporcionan para la conveniencia del lector.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales:

Se obtuvo glucosa oxidasa (sin estabilizador) de Sigma-Aldrich; se preparó isoenzima lignina peroxidasa H1 (de *P. chrysosporium*) como se describe en la publicación de solicitud de patente internacional WO2004/052275, con las siguientes modificaciones menores: una solución de esporas con $7,5 \times 10^4$ esporas/ml se añadió directamente al medio de cultivo; el medio de cultivo comprendía además extracto de levadura y caldo de cultivo nutritivo; y la aireación del fermentador fue de 4 litros/minuto con agitación de 150 rotaciones por minuto (también se contemplan lignina peroxidases de otros hongos de podredumbre blanca en realizaciones de la invención); se obtuvo alcohol veratrílico de Fluka.

Formulación de crema:

Se prepararon formulaciones ilustrativas en forma de dos cremas complementarias: una crema enzimática que comprende 25 unidades/gramo de fracción de isoenzima LIP H1, 25 unidades/gramo de GOX y 0,10 por ciento en peso de alcohol veratrílico (6 mmol/kg de crema) y la crema activadora complementaria comprendía glucosa (3,5 mmol/kg de crema).

A efectos de comparación, se formularon una crema enzimática complementaria y una crema activadora para activación de LIP por H₂O₂ no producido enzimáticamente. Esta crema enzimática comprendía la fracción de isoenzima LIP H1 (25 unidades/gramo) y alcohol veratrílico (6 mmol/kg de crema) sin GOX y la crema activadora complementaria comprendía H₂O₂ (3,53 mmol/kg de crema).

5 Otros ingredientes (p. ej., el vehículo) en las cremas fueron como se describe en la tabla 5 a continuación.

Tabla 5: Ingredientes no activos de cremas ilustrativas

Ingrediente	Porcentaje de peso	Nombres comerciales y otros detalles
Glicerina	8,0 %	Superol® V
Propilenglicol	2,0 %	
Dimeticona	1,0 %	xiameter® pmx-200
Carbonato de dicaprililo	1,0 %	Cetiol® CC
Parafina líquida	0,50 %	Draekol® 19
Alcohol cetílico	0,50 %	Lanette® C16 98-100MY
Alcohol estearílico	0,50 %	Lanette® C18 98-100MY
Poliisobuteno	0,200 - 0,213 %	Sepiplus™ 400 0,80 - 0,85 % (poliisobuteno 25 %, polisorbato 20 5 % y poliacrilato 13 70 %)
Polisorbato 20	0,040 - 0,043 %	
Poliacrilato 13	0,560 - 0,595 %	
Fenoxietanol	0,50 %	
Clorfenesina	0,30 %	Elestab® CPN
Goma de <i>Caesalpinia spinosa</i>	0,30 %	Tara Solagum™
Ácido cítrico	0,011 - 0,040 %	Añadido como solución acuosa
Agua desionizada	Hasta 100 %	

10 *Escala análoga visual (VAS):*

Una escala análoga visual (VAS) es un método que se usa para medir una característica o actitud que se cree que varía en un continuo de valores que no pueden medirse fácilmente de manera directa. La VAS se presentó como una línea horizontal, anclada por descriptores de palabras en cada extremo, como se describe a continuación. Los extremos de la escala se marcaron con los valores 0 (para los resultados más deseables) y 10 (para el resultado menos deseable). La significación estadística se determinó calculando los valores de p según ANOVA de medidas repetidas. Se utilizó una VAS para evaluar cada una de las siguientes variables:

20 Uniformidad de pigmentación (anclada por los descriptores "uniforme, homogénea" y "desigual, con manchas, moteada");
 Claridad (anclada por los descriptores "clara, homogénea" y "mate, opaca");
 Aclaramiento/brillo (anclado por los descriptores "aspecto claro/brillante" y "mate, sin brillo");
 Tono de piel (anclado por los descriptores "homogénea, color de piel saludable" y "desigual, apariencia descolorida");
 25 Luminosidad (anclado por los descriptores "radiante, apariencia luminosa" y "mate, sin brillo, apariencia cetrina");
 y
 Apariencia general (anclado por los descriptores "aspecto saludable" y "aspecto poco saludable").

30 *Fotografía digital:*

Se realizó fotografía digital de las caras de los sujetos tratados usando un sistema de captura de imágenes faciales VISIA®-CR, colocado en un ambiente con iluminación ambiental estable y uniforme. El sistema permaneció en la misma ubicación/orientación para diferentes visitas de cada sujeto.

35 *EJEMPLO 1*

Oxidación de melanina por lignina peroxidasa, glucosa oxidasa y glucosa en formulación de crema

40 Para evaluar la capacidad de la lignina peroxidasa (LIP) para aclarar la piel tras la activación por una fuente enzimática de peróxido de hidrógeno, se prepararon una crema enzimática que comprendía LIP, alcohol veratrílico y GOX (glucosa oxidasa) y una crema activadora que comprendía glucosa como se ha descrito anteriormente, y se probaron en melanina solubilizada. Los resultados se compararon con los obtenidos con una crema enzimática que comprendía LIP y alcohol veratrílico y una crema activadora que comprendía peróxido de hidrógeno, preparado como se ha descrito anteriormente en el presente documento.

45 Se mezclaron primero 0,3 gramos de cada crema enzimática con melanina (140 µg/ml), dando como resultado un

color negro grisáceo. Después se añadieron 0,3 gramos de la crema activadora complementaria.

Como se muestra en la figura 1, el color de cada formulación de crema enzimática cambió de negro grisáceo a beige inmediatamente después de la adición de la crema activadora.

Estos resultados indican que LIP es activada eficazmente por el H₂O₂ producido enzimáticamente por el sistema de GOX-glucosa, en un grado comparable al obtenido con el sistema de activación de H₂O₂ no enzimático convencional.

EJEMPLO 2

Aclaramiento de la piel con lignina peroxidasa, glucosa oxidasa y glucosa en formulación de crema después del tratamiento durante 21 días

Las cremas enzimáticas y activadoras ilustrativas descritas en el presente documento se probaron para determinar su capacidad para aclarar la piel *in vivo*.

Se administraron lignina peroxidasa, glucosa oxidasa y glucosa a 10 mujeres (de 23 a 65 años), de las que 8 completaron el estudio. Las composiciones se aplicaron a la piel facial según el siguiente régimen:

Mañana

Etapa 1 - lavado facial ELURE™

Etapa 2: crema que comprende lignina peroxidasa y glucosa oxidasa (como se describe en la sección de Materiales y métodos)

Etapa 3 - crema activadora que comprende glucosa (como se describe en la sección de Materiales y métodos)

Etapa 4 - Protector solar SPF 30 (para reducir la formación de nueva melanina)

Noche

Etapa 1 - lavado facial

Etapa 2 - crema que comprende lignina peroxidasa y glucosa oxidasa

Etapa 3 - crema activadora que comprende glucosa

Después de que la crema que comprendía lignina peroxidasa y glucosa oxidasa se aplicara y fuera absorbida por la piel, se aplicó la crema activadora.

El color de la piel se midió usando un colorímetro de piel Mexameter®, que se usó para evaluar las contribuciones de melanina y eritema (hemoglobina) al color de la piel. El color de la piel se midió en diversas regiones (frente, mejilla derecha, mejilla izquierda y puntos de interés). En cada región se midió el color de la piel en diferentes puntos y se promediaron los resultados. El color de la piel se evaluó el día 0 (es decir, antes del tratamiento) y los días 7 y 21 del tratamiento.

Como se muestra en las figuras 2A-9B, el tratamiento dio como resultado al menos alguna reducción del contenido de melanina, en los 8 sujetos ensayados, y las reducciones en el contenido de melanina habitualmente dependían de la duración del tratamiento (figuras 2A, 6A, 7A, 9A).

Como se muestra adicionalmente en las mismas, el tratamiento no tuvo ningún efecto uniforme sobre los niveles de eritema.

Como se muestra en las figuras 3A, 5A y 6A, el tratamiento dio como resultado reducción del contenido de melanina de la mayoría de las manchas en la piel.

En un sujeto (figura 9B), se observó un aumento del eritema de las mejillas el día 21, pero se considera que está provocado por irritación no relacionada con el tratamiento (irritación por el tónico usado para eliminar la sombra de ojos difuminada).

Estos resultados indican que el tratamiento con lignina peroxidasa, glucosa oxidasa y glucosa es eficaz para aclarar la piel al disminuir el contenido de melanina, sin provocar irritación significativa de la piel.

EJEMPLO 3

Aclaramiento de la piel con lignina peroxidasa, glucosa oxidasa y glucosa en formulación de crema tras el tratamiento durante 8 semanas

La formulación y el régimen diario descritos en el ejemplo 2 se probaron en 28 mujeres voluntarias (de 33 a 50 años) con hiperpigmentación difusa evidente, pero leve, incluyendo melasma, durante un periodo de 8 semanas. Se

excluyeron los sujetos que cumplían cualquiera de los siguientes criterios: sensible, hipersensible o con piel atópica; antecedentes de alergia a productos cosméticos o limpiadores de la piel; antecedentes de una enfermedad/afección o enfermedad simultánea que podría interferir con el resultado del estudio; embarazada, que planea quedarse embarazada o está en periodo de lactancia; problemas cutáneos en el área para la prueba, incluyendo dermatitis, verrugas, acné, manchas rojas, telangiectasia, etc; tratamientos dermatológicos o procedimientos con posible interferencia en los últimos 3 meses; actualmente implicado o participando en cualquier estudio clínico de cuidado de la piel en los últimos 3 meses; valorado por un médico como inadecuado para la inscripción en este ensayo clínico.

El efecto de la formulación se valoró evaluando la pigmentación de la piel a las 0, 4, 6 y 8 semanas desde el comienzo del tratamiento, usando las siguientes técnicas:

- 1) medición instrumental usando un colorímetro de piel Mexameter®;
- 2) evaluación de escala visual análoga (VAS) por un dermatólogo;
- 3) fotografía digital con el sistema de captura de imágenes faciales VISIA®-CR; y
- 4) autoevaluación por los sujetos.

Como se muestra en las figuras 10A y 10B, la formulación redujo progresivamente el índice de melanina en la piel pigmentada (figura 10A) y la piel no pigmentada (figura 10B) durante las 8 semanas de tratamiento (según lo determinado usando un colorímetro de piel Mexameter®).

Asimismo, después de 4 semanas, el índice de melanina en la piel pigmentada se redujo en 22 de los 28 sujetos (78,6 %), y el índice de melanina en la piel no pigmentada se redujo en 20 de los 28 sujetos (71,4 %). Después de 6 y 8 semanas, el índice de melanina en cada una de la piel pigmentada y no pigmentada se redujo en 27 de los 28 sujetos (96,4 %).

Se usó una escala análoga visual (VAS), como se describe en la sección de Materiales y métodos, para evaluar la uniformidad de la pigmentación, nitidez, claridad/brillo, tono, luminosidad y apariencia general de la piel tratada, en diversos puntos temporales en el transcurso del tratamiento.

Como se muestra en las figuras 11-16, así como en las tablas 6 y 7, la formulación mejoró progresivamente la uniformidad de la pigmentación (figura 11), nitidez (figura 12), claridad/brillo (figura 13), tono (figura 14), luminosidad (figura 15) y apariencia general (figura 16) de la piel tratada, en el transcurso de 8 semanas de tratamiento.

El grado promedio de mejoras en cada punto temporal mostrado en las figuras 11-16 se presenta en la tabla 6:

Tabla 6: Mejora promedio y significación estadística de la apariencia de la piel en relación con el inicio del tratamiento (n=28)

	Mejora (%) (valor de p)		
	después de 4 semanas	después de 6 semanas	después de 8 semanas
Uniformidad de pigmentación	1,26 % (0,223)	2,96 % (0,106)	5,47 % (0,046)
Nitidez	4,00 % (0,004)	4,65 % (0,033)	8,59 % (0,002)
Claridad/Brillo	9,28 % (0,000)	8,09 % (0,001)	11,52 % (0,000)
Tono	8,03 % (0,000)	6,13 % (0,015)	12,53 % (0,000)
Luminosidad	11,64 % (0,000)	12,15 % (0,000)	18,38 % (0,000)
Apariencia general	14,25 % (0,000)	13,21 % (0,000)	21,57 % (0,000)

La figura 17 muestra los cambios en el tono facial en sujetos individuales tratados durante 8 semanas con la formulación.

Los porcentajes de los 28 sujetos que mostraron una mejora significativa de la nitidez, claridad/brillo, tono de piel, luminosidad y/o apariencia general del tono completo de la cara después de 4, 6 y 8 semanas de tratamiento se presentan en la tabla 7:

Tabla 7: Porcentaje de sujetos que muestran una mejora en la apariencia de la piel en relación con el comienzo del tratamiento (n=28)

	después de 4 semanas	después de 6 semanas	después de 8 semanas
Uniformidad de pigmentación	46,4 %	60,7 %	67,9 %

	(13/28)	(17/28)	(19/28)
Nitidez	67,9 % (19/28)	64,3 % (18/28)	67,9 % (19/28)
Claridad/Brillo	89,3 % (25/28)	78,6 % (22/28)	75,0 % (21/28)
Tono	78,6 % (22/28)	67,9 % (19/28)	82,1 % (23/28)
Luminosidad	92,9 % (26/28)	92,9 % (26/28)	96,4 % (27/28)
Apariencia general	92,9 % (26/28)	82,1 % (23/28)	89,3 % (25/28)

Como se muestra en la tabla 8, la satisfacción de los sujetos con la formulación aumentó progresivamente durante el transcurso de 8 semanas de tratamiento (según lo determinado de acuerdo con la autoevaluación mediante cuestionario).

5

Tabla 8: Respuestas de los sujetos a la pregunta. "En general, ¿Está satisfecho con el producto que ha usado?"

Respuesta	0 semanas		4 semanas		6 semanas		8 semanas	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Totalmente en desacuerdo (1)	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
En desacuerdo (2)	0	0,0	1	3,6	0	0,0	1	3,6
Neutral (3)	27	96,4	9	32,1	8	28,6	6	21,4
De acuerdo (4)	1	3,6	18	64,3	16	57,1	18	64,3
Totalmente de acuerdo (5)	0	0,0	0	0,0	4	14,3	3	10,7

Asimismo, como se muestra en la tabla 9, la satisfacción de los sujetos con la formulación se expresó durante el transcurso de 8 semanas de tratamiento con respecto a cada tema sobre el que se preguntó en el cuestionario.

10

Tabla 9: Respuestas de los sujetos a artículos específicos del cuestionario (n=28)

Artículo del cuestionario	Respuesta	0 semanas		4 semanas		6 semanas		8 semanas	
		n	%	n	%	n	%	n	%
		<i>En general, ¿Ha sentido un efecto de mejora del brillo de la piel después de la aplicación?</i>							
	Totalmente en desacuerdo (1)	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
	En desacuerdo (2)	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	3,6
	Neutral (3)	26	92,9	11	39,3	4	14,3	3	10,7
	De acuerdo (4)	2	7,1	15	53,6	23	82,1	22	78,6
	Totalmente de acuerdo (5)	0	0,0	2	7,1	1	3,6	2	7,1
<i>¿Se aclara el color de la piel en el área pigmentada?</i>									
	Totalmente en desacuerdo (1)	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
	En desacuerdo (2)	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	7,1
	Neutral (3)	27	96,4	17	60,7	11	39,3	8	28,6
	De acuerdo (4)	1	3,6	10	35,7	16	57,1	17	60,7
	Totalmente de acuerdo (5)	0	0,0	1	3,6	1	3,6	1	3,6
<i>¿Notas el cambio del área pigmentada?</i>									
	Totalmente en desacuerdo (1)	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
	En desacuerdo (2)	1	3,6	0	0,0	0	0,0	1	3,6
	Neutral (3)	27	96,4	19	67,9	15	53,6	15	53,6
	De acuerdo (4)	0	0,0	9	32,1	12	42,9	10	35,7
	Totalmente de acuerdo (5)	0	0,0	0	0,0	1	3,6	2	7,1

(conyinuación)

Artículo del cuestionario	Respuesta	0		4		6		8	
		semanas		semanas		semanas		semanas	
		n	%	n	%	n	%	n	%
<i>¿Sientes tu piel más suave después de la aplicación?</i>	Totalmente en desacuerdo (1)	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
	En desacuerdo (2)	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	3,6
	Neutral (3)	23	82,1	10	35,7	8	28,6	6	21,4
	De acuerdo (4)	5	17,9	18	64,3	18	64,3	19	67,9
	Totalmente de acuerdo (5)	0	0,0	0	0,0	2	7,1	2	7,1
<i>¿Es este producto más eficaz que los productos que ha usado anteriormente?</i>	Totalmente en desacuerdo (1)	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
	En desacuerdo (2)	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	3,6
	Neutral (3)	27	96,4	11	39,3	9	32,1	9	32,1
	De acuerdo (4)	0	0,0	17	60,7	17	60,7	16	57,1
<i>¿Recomendarías este producto a otros?</i>	Totalmente en desacuerdo (1)	0	0,0	1	3,6	0	0,0	0	0,0
	En desacuerdo (2)	0	0,0	1	3,6	0	0,0	1	3,6
	Neutral (3)	27	96,4	9	32,1	10	35,7	8	28,6
	De acuerdo (4)	0	0,0	16	57,1	16	57,1	14	50,0
	Totalmente de acuerdo (5)	1	3,6	1	3,6	2	7,1	5	17,9
<i>¿Compraría este producto si se lanzara?</i>	Totalmente en desacuerdo (1)	0	0,0	2	7,1	0	0,0	0	0,0
	En desacuerdo (2)	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	3,6
	Neutral (3)	25	89,3	8	28,6	8	28,6	7	25,0
	De acuerdo (4)	3	10,7	17	60,7	17	60,7	16	57,1
	Totalmente de acuerdo (5)	0	0,0	1	3,6	3	10,7	4	14,3

Según lo determinado adicionalmente por la autoevaluación, ninguno de los 28 sujetos informó de ninguna molestia o reacción alérgica usando al mismo tiempo la formulación.

- 5 Estos resultados confirman que el tratamiento con lignina peroxidasa, glucosa oxidasa y glucosa es eficaz para aclarar la piel al disminuir el contenido de melanina, sin provocar irritación significativa de la piel, e indican además que el tono de la piel tratada continúa mejorando durante el transcurso del tratamiento.

10 Aunque la invención se ha descrito junto con realizaciones específicas de la misma, resulta evidente que muchas alternativas, modificaciones y variaciones resultarán evidentes para los expertos en la materia.

LISTADO DE SECUENCIAS

- 15 <110> Rakuto Bio Technologies Ltd. Belinky, Paula Karmon, Yoram Cohen, Shaul Krinfeld, Bella Lasser, Haim
- <120> Composiciones cosméticas que contienen sistema enzimático
- <130> 58615
- 20 <150> US 61/827.685
- <151> 27/05/2013
- <160> 27
- 25 <170> PatentIn versión 3.5
- <210> 1
- <211> 371
- <212> PRT
- 30 <213> *Phanerochaete chrysosporium*

ES 2 771 048 T3

<400> 1

Met Ala Phe Lys Gln Leu Phe Ala Ala Ile Thr Val Ala Leu Ser Leu
 1 5 10 15

Thr Ala Ala Asn Ala Ala Val Val Lys Glu Lys Arg Ala Thr Cys Ala
 20 25 30

Asn Gly Lys Thr Val Gly Asp Ala Ser Cys Cys Ala Trp Phe Asp Val
 35 40 45

Leu Asp Asp Ile Gln Ala Asn Met Phe His Gly Gly Gln Cys Gly Ala
 50 55 60

Glu Ala His Glu Ser Ile Arg Leu Val Phe His Asp Ser Ile Ala Ile
 65 70 75 80

Ser Pro Ala Met Glu Ala Lys Gly Lys Phe Gly Gly Gly Gly Ala Asp
 85 90 95

Gly Ser Ile Met Ile Phe Asp Thr Ile Glu Thr Ala Phe His Pro Asn
 100 105 110

Ile Gly Leu Asp Glu Val Val Ala Met Gln Lys Pro Phe Val Gln Lys
 115 120 125

His Gly Val Thr Pro Gly Asp Phe Ile Ala Phe Ala Gly Ala Val Ala
 130 135 140

ES 2 771 048 T3

Leu Ser Asn Cys Pro Gly Ala Pro Gln Met Asn Phe Phe Thr Gly Arg
 145 150 155 160

Lys Pro Ala Thr Gln Pro Ala Pro Asp Gly Leu Val Pro Glu Pro Phe
 165 170 175

His Thr Val Asp Gln Ile Ile Ala Arg Val Asn Asp Ala Gly Glu Phe
 180 185 190

Asp Glu Leu Glu Leu Val Trp Met Leu Ser Ala His Ser Val Ala Ala
 195 200 205

Val Asn Asp Val Asp Pro Thr Val Gln Gly Leu Pro Phe Asp Ser Thr
 210 215 220

Pro Gly Ile Phe Asp Ser Gln Phe Phe Val Glu Thr Gln Phe Arg Gly
 225 230 235 240

Thr Leu Phe Pro Gly Ser Gly Gly Asn Gln Gly Glu Val Glu Ser Gly
 245 250 255

Met Ala Gly Glu Ile Arg Ile Gln Thr Asp His Thr Leu Ala Arg Asp
 260 265 270

Ser Arg Thr Ala Cys Glu Trp Gln Ser Phe Val Asn Asn Gln Ser Lys
 275 280 285

Leu Val Asp Asp Phe Gln Phe Ile Phe Leu Ala Leu Thr Gln Leu Gly
 290 295 300

Gln Asp Pro Asn Ala Met Thr Asp Cys Ser Asp Val Ile Pro Leu Ser
 305 310 315 320

Lys Pro Ile Pro Gly Asn Gly Pro Phe Ser Phe Phe Pro Pro Gly Lys
 325 330 335

Ser His Ser Asp Ile Glu Gln Ala Cys Ala Glu Thr Pro Phe Pro Ser
 340 345 350

Leu Val Thr Leu Pro Gly Pro Ala Thr Ser Val Ala Arg Ile Pro Pro
 355 360 365

His Lys Ala
 370

<210> 2
 <211> 462
 <212> PRT
 <213> *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv
 <400> 2

ES 2 771 048 T3

Met Ala Gln Ala Pro His Ile His Arg Thr Arg Tyr Ala Lys Cys Gly
 1 5 10 15

Asp Met Asp Ile Ala Tyr Gln Val Leu Gly Asp Gly Pro Thr Asp Leu
 20 25 30

Leu Val Leu Pro Gly Pro Phe Val Pro Ile Asp Ser Ile Asp Asp Glu
 35 40 45

Pro Ser Leu Tyr Arg Phe His Arg Arg Leu Ala Ser Phe Ser Arg Val
 50 55 60

Ile Arg Leu Asp His Arg Gly Val Gly Leu Ser Ser Arg Leu Ala Ala
 65 70 75 80

Ile Thr Thr Leu Gly Pro Lys Phe Trp Ala Gln Asp Ala Ile Ala Val
 85 90 95

Met Asp Ala Val Gly Cys Glu Gln Ala Thr Ile Phe Ala Pro Ser Phe
 100 105 110

His Ala Met Asn Gly Leu Val Leu Ala Ala Asp Tyr Pro Glu Arg Val
 115 120 125

Arg Ser Leu Ile Val Val Asn Gly Ser Ala Arg Pro Leu Trp Ala Pro
 130 135 140

Asp Tyr Pro Val Gly Ala Gln Val Arg Arg Ala Asp Pro Phe Leu Thr
 145 150 155 160

Val Ala Leu Glu Pro Asp Ala Val Glu Arg Gly Phe Asp Val Leu Ser
 165 170 175

Ile Val Ala Pro Thr Val Ala Gly Asp Asp Val Phe Arg Ala Trp Trp
 180 185 190

Asp Leu Ala Gly Asn Arg Ala Gly Pro Pro Ser Ile Ala Arg Ala Val
 195 200 205

Ser Lys Val Ile Ala Glu Ala Asp Val Arg Asp Val Leu Gly His Ile
 210 215 220

Glu Ala Pro Thr Leu Ile Leu His Arg Val Gly Ser Thr Tyr Ile Pro
 225 230 235 240

ES 2 771 048 T3

Val Gly His Gly Arg Tyr Leu Ala Glu His Ile Ala Gly Ser Arg Leu
 245 250 255

Val Glu Leu Pro Gly Thr Asp Thr Leu Tyr Trp Val Gly Asp Thr Gly
 260 265 270

Pro Met Leu Asp Glu Ile Glu Glu Phe Ile Thr Gly Val Arg Gly Gly
 275 280 285

Ala Asp Ala Glu Arg Met Leu Ala Thr Ile Met Phe Thr Asp Ile Val
 290 295 300

Gly Ser Thr Gln His Ala Ala Ala Leu Gly Asp Asp Arg Trp Arg Asp
 305 310 315 320

Leu Leu Asp Asn His Asp Thr Ile Val Cys His Glu Ile Gln Arg Phe
 325 330 335

Gly Gly Arg Glu Val Asn Thr Ala Gly Asp Gly Phe Val Ala Thr Phe
 340 345 350

Thr Ser Pro Ser Ala Ala Ile Ala Cys Ala Asp Asp Ile Val Asp Ala
 355 360 365

Val Ala Ala Leu Gly Ile Glu Val Arg Ile Gly Ile His Ala Gly Glu
 370 375 380

Val Glu Val Arg Asp Ala Ser His Gly Thr Asp Val Ala Gly Val Ala
 385 390 395 400

Val His Ile Gly Ala Arg Val Cys Ala Leu Ala Gly Pro Ser Glu Val
 405 410 415

Leu Val Ser Ser Thr Val Arg Asp Ile Val Ala Gly Ser Arg His Arg
 420 425 430

Phe Ala Glu Arg Gly Glu Gln Glu Leu Lys Gly Val Pro Gly Arg Trp
 435 440 445

Arg Leu Cys Val Leu Met Arg Asp Asp Ala Thr Arg Thr Arg
 450 455 460

<210> 3
 <211> 1389
 <212> ADN
 <213> *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv
 <400> 3

5

ES 2 771 048 T3

```

gtggcgcagg ctccccacat tcacaggacc cgctacgcaa aatgcggcga catggatata 60
gcctaccagg tgctgggtga cggtcgcgac gatctgctgg tgttgccggg gccgttcgtg 120
ccgatcgact cgatcgacga cgagccatcg ctgtaccggt tccatcgccg tcttgcgctca 180
ttcagcaggg tgatccgcct cgaccatcgt ggggtcggcc tgcgtcaccg gtcgcgcggc 240
ataaccacgc tggggccgaa gttctgggcc caggacgcca tcgcggtgat ggacgcggtc 300
ggatgcgagc aggcgacaat ttctgcgccc agtttccacg ccatgaacgg acttgttctc 360
gccgccgact accccgagcg ggtgcgcagc ctgatcgtcg tcaacggctc ggcgcgccca 420
ctatggggc ccgactaccc ggtaggcgcc caggttcgtc gagctgacct gttcctgacg 480
gtggcgctgg aaccggatgc cgtcgcgagg ggtctcgacg tgctgagcat cgtggctcct 540
accgtggccg gagatgacgt gtttcgagcc tgggtgggac tcgccggcaa ccgtgcggga 600
ccgccgagca ttgcccgctc cgtttcaaag gtcatagccg aggccgacgt acgagatgtc 660
ttgggacaca tcgaggctcc aacctgatac ttgcaccgtg tcggatcgac gtacatcccg 720
gtgggacatg gtcgctacct cgcgcgacac atcgcgtggat cccgcttggg cgaactaccc 780
ggcaccgata ccctgtactg ggttggcgac accgggcccga tgctcgatga aatcgaggaa 840
ttcatcaccg gcgtgcgcgg cggcgtgac gccgagcga tgcttgccac catcatgttt 900
accgacatcg tcggtcgcac ccagcacgcc gccgcgctcg gcgacgaccg atggcgcgac 960
ctgttgaca accacgacac catcgtgtgc cagaaatcc agcggttcgg cggtcgcgaa 1020
gtgaacacgg ccggtgacgg ttctgcgcg acgttcacca gtccgagtgc cgcgatcgcg 1080
tgccgggacg acatcgtcga cgcggtcgcc gcgctgggta ttgaggtccg gatcggattt 1140
catgcccggc aggtcgaggt gcgcatgcc tcgcacggta ccgacgtcgc cggcgtggcc 1200
gtgcatatcg gtgcgcgcgt ctgcgcgctg gccggacca gtgaggtgct ggtgtcctcg 1260
accgtgcgag acatcgtcgc cggatcacgg caccggttcg ccgagcgtgg tgagcaggaa 1320
ctcaagggcg taccgggcag atggcggcta tgcgtgctca tgcgcgacga cgccaccgcg 1380
acgcgctaa 1389

```

<210> 4
 <211> 462
 <212> PRT
 <213> *Mycobacterium bovis* AF2122/97

5

<400> 4

Met Ala Gln Ala Pro His Ile His Arg Thr Arg Tyr Ala Lys Cys Gly
 1 5 10 15

Asp Met Asp Ile Ala Tyr Gln Val Leu Gly Asp Gly Pro Thr Asp Leu
 20 25 30

10

ES 2 771 048 T3

Leu Val Leu Pro Gly Pro Phe Val Pro Ile Asp Ser Ile Asp Asp Glu
35 40 45

Pro Ser Leu Tyr Arg Phe His Arg Arg Leu Ala Ser Phe Ser Arg Val
50 55 60

Ile Arg Leu Asp His Arg Gly Val Gly Leu Ser Ser Arg Leu Ala Ala
65 70 75 80

Ile Thr Thr Leu Gly Pro Lys Phe Trp Ala Gln Asp Ala Ile Ala Val
85 90 95

Met Asp Ala Val Gly Cys Glu Gln Ala Thr Ile Phe Ala Pro Ser Phe
100 105 110

His Ala Met Asn Gly Leu Val Leu Ala Ala Asp Tyr Pro Glu Arg Val
115 120 125

Arg Ser Leu Ile Val Val Asn Gly Ser Ala Arg Pro Leu Trp Ala Pro
130 135 140

Asp Tyr Pro Val Gly Ala Gln Val Arg Arg Ala Asp Pro Phe Leu Thr
145 150 155 160

Val Ala Leu Glu Pro Asp Ala Val Glu Gln Gly Phe Asp Val Leu Ser
165 170 175

Ile Val Ala Pro Thr Val Ala Gly Asp Asp Val Phe Arg Ala Trp Trp
180 185 190

Asp Leu Ala Gly Asn Arg Ala Gly Pro Pro Ser Met Ala Arg Ala Val
195 200 205

Ser Lys Val Ile Ala Glu Ala Asp Val Arg Asp Val Leu Gly His Ile
210 215 220

Glu Ala Pro Thr Leu Ile Leu His Arg Val Gly Ser Thr Tyr Ile Pro
225 230 235 240

Val Gly His Gly Arg Tyr Leu Ala Glu His Ile Ala Gly Ser Arg Leu
245 250 255

Val Glu Leu Pro Gly Thr Asp Thr Leu Tyr Trp Val Gly Asp Thr Gly
260 265 270

Pro Met Leu Asp Glu Ile Glu Glu Phe Ile Thr Gly Val Arg Gly Gly
275 280 285

ES 2 771 048 T3

Ala Asp Ala Glu Arg Met Leu Ala Thr Ile Met Phe Thr Asp Ile Val
 290 295 300

Gly Ser Thr Gln His Ala Ala Ala Leu Gly Asp Asp Arg Trp Arg Asp
 305 310 315 320

Leu Leu Asp Asn His Asp Thr Ile Val Cys His Glu Ile Gln Arg Phe
 325 330 335

Gly Gly Arg Glu Val Asn Thr Ala Gly Asp Gly Phe Val Ala Thr Phe
 340 345 350

Thr Ser Pro Ser Ala Ala Ile Ala Cys Ala Asp Asp Ile Val Asp Ala
 355 360 365

Val Ala Ala Leu Gly Ile Glu Val Arg Ile Gly Ile His Ala Gly Glu
 370 375 380

Val Glu Val Arg Asp Ala Ser His Gly Thr Asp Val Ala Gly Val Ala
 385 390 395 400

Val His Ile Gly Ala Arg Val Cys Ala Leu Ala Gly Pro Ser Glu Val
 405 410 415

Leu Val Ser Ser Thr Val Arg Asp Ile Val Ala Gly Ser Arg His Arg
 420 425 430

Phe Ala Glu Arg Gly Glu Gln Glu Leu Lys Gly Val Pro Gly Arg Trp
 435 440 445

Arg Leu Cys Val Leu Met Arg Asp Asp Ala Thr Arg Thr Arg
 450 455 460

<210> 5
 <211> 1389
 <212> ADN
 <213> *Mycobacterium bovis* AF2122/97
 <400> 5

5

ES 2 771 048 T3

gtggcgagg ctccccacat tcacaggacc cgctacgcaa aatgcggcga catggatata 60
gcctaccagg tgctgggtga cgggccgacg gatctgctgg tgttgccggg gccgttcgtg 120
ccgatcgact cgatcgacga cgagccatcg ctgtaccggt tccatcgccg tcttgcgta 180
ttcagcaggg tgatccgcct cgaccatcgt ggggtcggcc tgcctcacg gctcgcccg 240
ataaccacgc tggggccgaa gttctgggcc caggacgca tgcgggtgat ggacgcggtc 300
ggatgcgagc aggcgacaat tttcgcgccc agtttccacg ccatgaacgg acttgttctc 360
gccgccgact accccgagcg ggtgcgagc ctgatcgtcg tcaacggctc ggcgcgccca 420
ctatgggcgc ccgactaccc ggtaggcgcc caggttcgtc gagctgacct gttcctgacg 480
gtggcgctgg aaccggatgc cgtcgagcag ggcttcgacg tgctgagcat cgtggctcct 540
accgtggccg gagatgacgt gtttcgagcc tgggtggatc tcgccggcaa ccgtgccgga 600
ccgccgagca tggcccgtgc cgtttcaaag gtcatagccc aggccgacgt acgagatgac 660
ttgggacaca tcgaggctcc aacactgatc ttgcaccgtg tcggatcgac gtacatccc 720
gtgggacatg gtcgctacct cggcgagcac atcgtgggat cccgcttggg cgaactacc 780
ggcaccgata ccctgtactg gggtggcgac accgggcccga tgctcgatga aatcgaggaa 840
ttcatcaccg gcgtgcgcg cggcgctgac gccgagcgca tgcttgccac catcatgttt 900
accgacatcg tcggctcgac ccagcacgcc gccgcgctcg gcgacgaccg atggcgcgac 960
ctgttggaaca accacgacac catcgtgtgc cacgaaatcc agcggttcgg cggctcgca 1020
gtgaacacgg ccggtgacgg tttcgtcgcg acgttcacca gtccgagtgc cgcgatcgcg 1080
tgcgcggacg acatcgtcga cggggtcgcc gcgctgggta ttgaggtccg gatcggatt 1140
catgcgggag aggtcgaggt gcgcatgcc tcgcacggta ccgacgtcgc cggcgtggcc 1200
gtgcatatcg gtgcgcgctg ctgcgctg gccggaccca gtgaggtgct ggtgtcctcg 1260
accgtgcgag acatcgtcgc cggatcacgg caccggttcg ccgagcgtgg tgagcaggaa 1320
ctcaagggcg taccgggagc atggcggcta tgcgtgctca tgcgcgacga cgccaccgc 1380
acgcgctaa 1389

<210> 6
<211> 462
<212> PRT
<213> *Mycobacterium bovis* BCG c. Pasteur 1173P2
<400> 6

5

ES 2 771 048 T3

Ile Thr Thr Leu Gly Pro Lys Phe Trp Ala Gln Asp Ala Ile Ala Val
85 90 95

Met Asp Ala Val Gly Cys Glu Gln Ala Thr Ile Phe Ala Pro Ser Phe
100 105 110

His Ala Met Asn Gly Leu Val Leu Ala Ala Asp Tyr Pro Glu Arg Val
115 120 125

Arg Ser Leu Ile Val Val Asn Gly Ser Ala Arg Pro Leu Trp Ala Pro
130 135 140

Asp Tyr Pro Val Gly Ala Gln Val Arg Arg Ala Asp Pro Phe Leu Thr
145 150 155 160

Val Ala Leu Glu Pro Asp Ala Val Glu Arg Gly Phe Asp Val Leu Ser
165 170 175

Ile Val Ala Pro Thr Val Ala Gly Asp Asp Val Phe Arg Ala Trp Trp
180 185 190

Asp Leu Ala Gly Asn Arg Ala Gly Pro Pro Ser Met Ala Arg Ala Val
195 200 205

Ser Lys Val Ile Ala Glu Ala Asp Val Arg Asp Val Leu Gly His Ile
210 215 220

Glu Ala Pro Thr Leu Ile Leu His Arg Val Gly Ser Thr Tyr Ile Pro
225 230 235 240

Val Gly His Gly Arg Tyr Leu Ala Glu His Ile Ala Gly Ser Arg Leu
245 250 255

Val Glu Leu Pro Gly Thr Asp Thr Leu Tyr Trp Val Gly Asp Thr Gly
260 265 270

Pro Met Leu Asp Glu Ile Glu Glu Phe Ile Thr Gly Val Arg Gly Gly
275 280 285

Ala Asp Ala Glu Arg Met Leu Ala Thr Ile Met Phe Thr Asp Ile Val
290 295 300

Gly Ser Thr Gln His Ala Ala Ala Leu Gly Asp Asp Arg Trp Arg Asp
305 310 315 320

Leu Leu Asp Asn His Asp Thr Ile Val Cys His Glu Ile Gln Arg Phe

ES 2 771 048 T3

gtggcgagc ctccccacat tcacaggacc cgctacgcaa aatgcggcga catggatata 60
gcctaccagg tgctgggtga cgggccgacg gatctgctgg tgttgccggg gccgttcgtg 120
ccgatcgact cgatcgacga cgagccatcg ctgtaccgtt tccatcgccg tcttgcgctca 180
ttcagcaggg tgatccgcct cgaccatcgt ggggtcggcc tgcctcacg gctcgccgcg 240
ataaccacgc tggggccgaa gttctgggcc caggacgcga tcgctggtgat ggacgcggtc 300
ggatgcgagc aggcgacaat tttcgcgccc agtttccacg ccatgaacgg acttgttctc 360
gccgccgact accccgagcg ggtgcgcagc ctgatcgctc tcaacggctc ggcgcgccca 420
ctatgggagc ccgactaccg ggtaggcgcc caggttcgtc gagctgacct gttcctgacg 480
gtggcgctgg aaccggatgc cgtcgagcgg ggcttcgacg tgctgagcat cgtggctcct 540
accgtggccg gagatgacgt gtttcgagcc tgggtgggac tcgccggcaa ccgtgccgga 600
ccgccgagca tggcccgtgc cgtttcaaag gtcatagccg aggccgacgt acgagatgtc 660
ttgggacaca tcgaggctcc aacctgatc ttgcaccgtg tcggatcgac gtacatcccg 720
gtgggacatg gtcgctacct cgccgagcac atcgctggat cccgcttggg cgaactaccg 780
ggcaccgata ccctgtactg ggttgccgac accgggcccga tgctcgatga aatcgaggaa 840
ttcatcaccg gcgtgcgcgg cggcgtgac gccgagcgca tgcttgccac catcatgttt 900
accgacatcg tcggctcgac ccagcacgcc gccgcgctcg gcgacgaccg atggcgcgac 960
ctggtggaca accacgacac catcgtgtgc cacgaaatcc agcggttcgg cggctcgcaa 1020
gtgaacacgg ccggtgacgg tttcgtcgcg acgttcacca gtccgagtgc cgcgatcgcg 1080
tgcgcggacg acatcgtcga cgcggtcgcc gcgctgggta ttgaggtccg gatcggatt 1140
catgcgggag aggtcgaggt gcgcatgcc tcgcacggta ccgacgtcgc cggcgtggcc 1200
gtgcatatcg gtgcgcgcgt ctgcgcgctg gccggaccca gtgaggtgct ggtgtcctcg 1260
accgtgcgag acatcgtcgc cggatcacgg caccggttcg ccgagcgtgg tgagcaggaa 1320
ctcaagggcg taccgggagc atggcggcta tgcgtgctca tgcgcgacga gccaccgacg 1380
acgcgctaa 1389

<210> 8
<211> 462
<212> PRT
<213> *Mycobacterium bovis* BCG c. Tokyo 172
<400> 8

5

ES 2 771 048 T3

Met Ala Gln Ala Pro His Ile His Arg Thr Arg Tyr Ala Lys Cys Gly
 1 5 10 15

Asp Met Asp Ile Ala Tyr Gln Val Leu Gly Asp Gly Pro Thr Asp Leu
 20 25 30

Leu Val Leu Pro Gly Pro Phe Val Pro Ile Asp Ser Ile Asp Asp Glu
 35 40 45

Pro Ser Leu Tyr Arg Phe His Arg Arg Leu Ala Ser Phe Ser Arg Val
 50 55 60

Ile Arg Leu Asp His Arg Gly Val Gly Leu Ser Ser Arg Leu Ala Ala
 65 70 75 80

Ile Thr Thr Leu Gly Pro Lys Phe Trp Ala Gln Asp Ala Ile Ala Val
 85 90 95

Met Asp Ala Val Gly Cys Glu Gln Ala Thr Ile Phe Ala Pro Ser Phe
 100 105 110

His Ala Met Asn Gly Leu Val Leu Ala Ala Asp Tyr Pro Glu Arg Val

ES 2 771 048 T3

Val Ala Ala Leu Gly Ile Glu Val Arg Ile Gly Ile His Ala Gly Glu
370 375 380

Val Glu Val Arg Asp Ala Ser His Gly Thr Asp Val Ala Gly Val Ala
385 390 395 400

Val His Ile Gly Ala Arg Val Cys Ala Leu Ala Gly Pro Ser Glu Val
405 410 415

Leu Val Ser Ser Thr Val Arg Asp Ile Val Ala Gly Ser Arg His Arg
420 425 430

Phe Ala Glu Arg Gly Glu Gln Glu Leu Lys Gly Val Pro Gly Arg Trp
435 440 445

Arg Leu Cys Val Leu Met Arg Asp Asp Ala Thr Arg Thr Arg
450 455 460

<210> 9

<211> 1389

<212> ADN

<213> *Mycobacterium bovis* BCG c. Tokyo 172

<400> 9

5

ES 2 771 048 T3

gtggcgcagg ctccccacat tcacaggacc cgctacgcaa aatgcggcga catggatata 60
gcctaccagg tgctgggtga cgggccgacg gatctgctgg tgttgccggg gccgttcgtg 120
ccgatcgact cgatcgacga cgagccatcg ctgtaccgtt tccatcgccg tcttgcgctca 180
ttcagcaggg tgatccgcct cgaccatcgt ggggtcggcc tgcctgcacg gctcgccgcg 240
ataaccacgc tggggccgaa gttctgggcc caggacgcga tcgcggtgat ggacgcggtc 300
ggatgcgagc aggcgacaat tttcgcgccc agtttccacg ccatgaacgg acttgttctc 360
gccgccgact accccgagcg ggtgcgcagc ctgatcgtcg tcaacggctc ggcgcgccca 420
ctatgggccc ccgactaccg ggtaggcgcc caggttcgtc gagctgacct gttcctgacg 480
gtggcgtgga aaccggatgc cgtcgagcgg ggcttcgacg tgctgagcat cgtggctcct 540
accgtggccg gagatgacgt gtttcgagcc tgggtgggac tcgccggcaa ccgtgccgga 600
ccgccgagca tggcccgtgc cgtttcaaag gtcatacgcc aggccgacgt acgagatgtc 660
ttgggacaca tcgaggctcc aacctgatc ttgcaccgtg tcggatcgac gtacatcccg 720
gtgggacatg gtcgctacct cgccgagcac atcgctggat cccgcttggg cgaactaccg 780
ggcaccgata ccctgtactg ggttggcgac accgggcccga tgctcgatga aatcgaggaa 840
ttcatcaccg gcgtgcccgg cggcgtgac gccgagcgca tgcttgccac catcatgttt 900
accgacatcg tcggctcgac ccagcacgcc gccgcgctcg gcgacgaccg atggcgcgac 960
ctgttggaaca accacgacac catcgtgtgc cacgaaatcc agcggttcgg cggtcgcgaa 1020

gtgaacacgg ccggtgacgg tttcgtcggc acgttcacca gtccgagtgc cgcgatcgcg 1080
tgcgcggacg acatcgtcga cgcggtcgcc gcgctgggta ttgaggcccg gatcggattt 1140
catgcggggc aggtcgaggt gcgcatgcc tcgcacggta ccgacgtcgc cggcgtggcc 1200
gtgcatatcg gtgcgcgctg ctgcgcgctg gccggaccca gtgaggtgct ggtgtcctcg 1260
accgtgcgag acatcgtcgc cggatcacgg caccggttcg ccgagcgtgg tgagcaggaa 1320
ctcaagggcg taccgggagc atggcgggta tgcgtgctca tgcgcgacga cgccaccgac 1380
acgcgctaa 1389

<210> 10
<211> 462
<212> PRT
<213> *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra

<400> 10

5

ES 2 771 048 T3

Met Ala Gln Ala Pro His Ile His Arg Thr Arg Tyr Ala Lys Cys Gly
 1 5 10 15

Asp Met Asp Ile Ala Tyr Gln Val Leu Gly Asp Gly Pro Thr Asp Leu
 20 25 30

Leu Val Leu Pro Gly Pro Phe Val Pro Ile Asp Ser Ile Asp Asp Glu
 35 40 45

Pro Ser Leu Tyr Arg Phe His Arg Arg Leu Ala Ser Phe Ser Arg Val
 50 55 60

Ile Arg Leu Asp His Arg Gly Val Gly Leu Ser Ser Arg Leu Ala Ala
 65 70 75 80

Ile Thr Thr Leu Gly Pro Lys Phe Trp Ala Gln Asp Ala Ile Ala Val
 85 90 95

Met Asp Ala Val Gly Cys Glu Gln Ala Thr Ile Phe Ala Pro Ser Phe
 100 105 110

His Ala Met Asn Gly Leu Val Leu Ala Ala Asp Tyr Pro Glu Arg Val
 115 120 125

Arg Ser Leu Ile Val Val Asn Gly Ser Ala Arg Pro Leu Trp Ala Pro
 130 135 140

Asp Tyr Pro Val Gly Ala Gln Val Arg Arg Ala Asp Pro Phe Leu Thr
 145 150 155 160

ES 2 771 048 T3

Val Ala Leu Glu Pro Asp Ala Val Glu Arg Gly Phe Asp Val Leu Ser
165 170 175

Ile Val Ala Pro Thr Val Ala Gly Asp Asp Val Phe Arg Ala Trp Trp
180 185 190

Asp Leu Ala Gly Asn Arg Ala Gly Pro Pro Ser Ile Ala Arg Ala Val
195 200 205

Ser Lys Val Ile Ala Glu Ala Asp Val Arg Asp Val Leu Gly His Ile
210 215 220

Glu Ala Pro Thr Leu Ile Leu His Arg Val Gly Ser Thr Tyr Ile Pro
225 230 235 240

Val Gly His Gly Arg Tyr Leu Ala Glu His Ile Ala Gly Ser Arg Leu
245 250 255

Val Glu Leu Pro Gly Thr Asp Thr Leu Tyr Trp Val Gly Asp Thr Gly
260 265 270

Pro Met Leu Asp Glu Ile Glu Glu Phe Ile Thr Gly Val Arg Gly Gly
275 280 285

Ala Asp Ala Glu Arg Met Leu Ala Thr Ile Met Phe Thr Asp Ile Val
290 295 300

Gly Ser Thr Gln His Ala Ala Ala Leu Gly Asp Asp Arg Trp Arg Asp
305 310 315 320

Leu Leu Asp Asn His Asp Thr Ile Val Cys His Glu Ile Gln Arg Phe
325 330 335

Gly Gly Arg Glu Val Asn Thr Ala Gly Asp Gly Phe Val Ala Thr Phe
340 345 350

Thr Ser Pro Ser Ala Ala Ile Ala Cys Ala Asp Asp Ile Val Asp Ala
355 360 365

Val Ala Ala Leu Gly Ile Glu Val Arg Ile Gly Ile His Ala Gly Glu
370 375 380

Val Glu Val Arg Asp Ala Ser His Gly Thr Asp Val Ala Gly Val Ala
385 390 395 400

Val His Ile Gly Ala Arg Val Cys Ala Leu Ala Gly Pro Ser Glu Val
405 410 415

ES 2 771 048 T3

Leu Val Ser Ser Thr Val Arg Asp Ile Val Ala Gly Ser Arg His Arg
420 425 430

Phe Ala Glu Arg Gly Glu Gln Glu Leu Lys Gly Val Pro Gly Arg Trp
435 440 445

Arg Leu Cys Val Leu Met Arg Asp Asp Ala Thr Arg Thr Arg
450 455 460

- 5
<210> 11
<211> 1389
<212> ADN
<213> *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra

<400> 11

ES 2 771 048 T3

gtggcgcagg ctccccacat tcacaggacc cgctacgcaa aatgcggcga catggatata 60
gcctaccagg tgctgggtga cgggtccgacg gatctgctgg tggttgccggg gccggttcgtg 120
ccgatcgact cgatcgacga cgagccatcg ctgtaccggt tccatcgccg tcttgcgta 180
ttcagcaggg tgatccgcct cgaccatcgt ggggtcggcc tgcctgcacg gctcgcgcg 240
ataaccacgc tggggccgaa gttctgggcc caggacgcga tcgcggtgat ggacgcggtc 300
ggatgcgagc aggcgacaat tttcgcgccc agtttccacg ccatgaacgg acttgttctc 360
gccgccgact accccgagcg ggtgcgcagc ctgatcgtcg tcaacggctc ggcgcgccca 420
ctatggggcg ccgactaccg ggtaggcgcc caggttcgtc gagctgacct gttcctgacg 480
gtggcgctgg aaccggatgc cgtcgcgagc ggcttcgacg tgctgagcat cgtggctcct 540
accgtggccg gagatgacgt gtttcgagcc tgggtgggac tcgccggcaa ccgtgccgga 600
ccgccgagca ttgcccgctc cgtttcaaag gtcatacgcc aggcgcgacgt acgagatgta 660
ttgggacaca tcgaggctcc aacactgatc ttgcaccgtg tcggatcgac gtacatcccg 720
gtgggacatg gtcgctacct cggcgagcac atcgtggat cccgcttggg cgaactaccg 780
ggcaccgata ccctgtactg ggttggcgac accgggcccga tgctcgatga aatcgaggaa 840
ttcatcaccg gcgtgcgcgg cggcgctgac gccgagcgca tgcttgccac catcatgttt 900
accgacatcg tcggctcgac ccagcacgcc gccgcgctcg gcgacgaccg atggcgcgac 960
ctgttggaca accacgacac catcgtgtgc cacgaaatcc agcggttcgg cggtcgcgaa 1020
gtgaacacgg ccggtgacgg tttcgtcgcg acgttcacca gtccgagtgc cgcgatcgcg 1080
tgccgggacg acatcgtcga cgcggtcgcc gcgctgggta ttgaggtccg gatcggatt 1140
catgcggggc aggtcgaggt gcgcgatgcc tcgcacggta ccgacgtcgc cggcgtggcc 1200
gtgcatatcg gtgcgcgcgt ctgcgcgctg gccggaccga gtgaggtgct ggtgtcctcg 1260
accgtgcgag acatcgtcgc cggatcacgg caccggttcg ccgagcgtgg tgagcaggaa 1320

ctcaagggcg taccgggcag atggcggcta tgcgtgctca tgcgcgacga cgccaccgcg 1380
acgcgctaa 1389

<210> 12
<211> 458
<212> PRT
<213> *Mycobacterium ulcerans* Agy99

5

<400> 12

ES 2 771 048 T3

Met Ser Gln Ala Pro Arg Thr Pro Arg Thr Arg Tyr Ala Arg Cys Gly
 1 5 10 15

Asp Leu Asp Ile Ala Tyr Gln Val Ile Gly Asp His Pro Ile Asp Leu
 20 25 30

Leu Val Ile Pro Gly Ala Ser Ile Pro Val Asp Thr Ile Asp Ser Glu
 35 40 45

Pro Ser Met Tyr Arg Phe His Arg Arg Leu Ala Ser Phe Ser Arg Leu
 50 55 60

Ile Arg Phe Asp His Arg Gly Val Gly Leu Ser Ser Arg Val Ser Ser
 65 70 75 80

Pro Asp Ala Leu Gly Pro Arg Phe Trp Ala Glu Asp Ala Ile Ala Val
 85 90 95

Met Asp Ala Ala Gly Cys Gln Gln Ala Thr Ile Leu Ala Ser Gly Phe
 100 105 110

Thr Ala Thr Thr Ala Leu Val Leu Ala Ala Asp Tyr Pro Glu Arg Val
 115 120 125

Arg Ser Leu Val Leu Ile Asn Ala Ser Ala Arg Thr Leu His Ala Pro
 130 135 140

Asp Tyr Glu Leu Gly Ile Arg Ser Asn Thr Ala Glu Pro Phe Leu Thr
 145 150 155 160

Leu Gly Thr Asp Pro Asp Ala Val Glu Gln Gly Phe Asp Val Leu Arg
 165 170 175

Ile Met Ala Pro Ser Val Ala His Asp Asp Ala Phe Arg His Trp Trp
 180 185 190

Asp Leu Ala Gly Asn Arg Ala Ala Ser Pro Ser Thr Ala Arg Ala Phe
 195 200 205

ES 2 771 048 T3

Ile Asn Ala Val Gln Ala Ser Asp Ala Arg Asp Ser Leu Pro His Ile
 210 215 220

Thr Ala Pro Thr Leu Ile Leu His Arg Val Gly Thr Lys Phe Val Pro
 225 230 235 240

Val Glu His Gly Arg Tyr Leu Ala Glu His Ile Ala Gly Ser Arg Leu
 245 250 255

Val Glu Leu Pro Gly Ser Asp Ser Leu Tyr Trp Val Gly Asp Thr Ala
 260 265 270

Ala Leu Leu Asp Glu Val Glu Glu Phe Ile Thr Gly Val Arg Gly Gly
 275 280 285

Phe Val Thr Glu Arg Val Leu Thr Ala Val Met Phe Thr Gly Ile Val
 290 295 300

Gly Ser Thr Gln Arg Ala Ala Thr Val Gly Asp Leu Arg Trp Arg Asp
 305 310 315 320

Leu Leu Asp Asn His Asp Asn Leu Val Arg His Glu Ile Gln Arg Phe
 325 330 335

Gly Gly Arg Glu Val Asn Thr Ala Gly Asp Gly Phe Val Ala Thr Phe
 340 345 350

Ser Ser Pro Ser Ala Ala Ile Asn Cys Ala Asp Ala Val Val Asp Ala
 355 360 365

Val Ala Val Leu Gly Ile Glu Val Arg Val Gly Ile His Ala Gly Glu
 370 375 380

Val Glu Val Arg Gly Ala Asp Val Ala Asp Leu Ala Val His Ile Gly
 385 390 395 400

Ala Arg Val Cys Ala Leu Ala Gly Ser Ser Glu Val Leu Val Ser Ser
 405 410 415

Thr Val Arg Asp Ile Val Thr Gly Ser Ser His Arg Phe Ala Glu Arg
 420 425 430

Gly Glu His Glu Leu Lys Gly Val Pro Gly Arg Trp Arg Leu Cys Ala
 435 440 445

Leu Val Arg Glu His Leu Thr Gly Gln Arg
 450 455

<210> 13
 <211> 1377
 <212> ADN
 <213> *Mycobacterium ulcerans* Agy99
 <400> 13

ES 2 771 048 T3

gtgtcgcagg cgccccgaac tccccggact cgctacgccca ggtgcggcga cctggacatc 60
 gcctaccagg tgatcgggga tcatccgatc gacctgctcg tcataccggg ggcctcgatt 120
 ccggtcgaca ccatcgattc cgaaccgtcg atgtaccgct ttcaccgccg tctggcgtcg 180
 ttttcccgcc tgatccggtt cgaccatcgc ggcgtcggcc tgtcatcgcg ggtttcgtcg 240
 ccggatgcgc tcggcccag gttctgggcc gaggatgcga ttgcggtgat ggacgcggcc 300
 ggatgccagc aagccacgat tcttgctcc gggttcaccg cgacgaccgc cctggtgctg 360
 gccgccgact atcccagcgc ggtgcgcagc ctgggtgctca tcaacgcctc cgcgcggaca 420
 ctgcatgcgc ccgactacga actgggcatc aggtccaaca ccgccgaacc attcctcacc 480
 ctcggaaccg atcccgacgc ggtcgagcag gggttcgacg tgcctgcgat catggcgccc 540
 agtgtggccc atgacgacgc gttccgccac tgggtgggatc tggccgaaa ccgggcggcc 600
 tcgcccagca cggcgcgcgc cttcatcaac gcggttcaag cctcggatgc gcgcgactcg 660
 ctgccccaca tcaccgcgcc gacgctgatc ctgcatcggg tgggcaccaa gttcgttccg 720
 gtcgagcacg gccgctatct ggccgagcac attgccgggt cgcgcttggg cgagcttccc 780
 ggttccgatt ccttgtattg ggtcggcgac accgccgcgt tgctcgacga ggtcgaggag 840
 ttcatacccg gcgtccgggg cggcttcgtc accgagcggg tactgaccgc ggtcatgttc 900
 accggcatcg tcggctcgac ccagcgcgcg gccaccgtgg gtgacctgcg ctggcgcgac 960
 ctgctcgata accacgacaa cctgggtccgc cacgagatcc agcggttcgg tgggcgcgag 1020
 gtcaataccg cgggcgacgg gttcgtcgcg acgttcagca gcccgagtgc ggcaatcaac 1080
 tgccgcgacg ccgtcgtcga cgccgtcgcg gtgctcggca tcgaggtccg ggtggggatt 1140
 catgccggcg aggtcgaggt gcggggggcc gacgtcgcg acctggccgt acacatcggt 1200
 gcccggtct gtgcgctggc cggctccagt gaggtgctgg tgcctcgcg ggtgcgtgac 1260
 atcgtcaccg gctcgagcca cagattcgcc gagcgcggcg aacacgaact caagggcgtg 1320
 ccgggccgat ggcgactttg tgcgctggtc cgggagcacc tcacgggcca gcggtag 1377

<210> 14
 <211> 458
 <212> PRT
 <213> *Mycobacterium marinum* M
 <400> 14

Met Ser Gln Ala Pro Arg Thr Pro Arg Thr Arg Tyr Ala Arg Cys Gly

5

10

ES 2 771 048 T3

Val Glu Leu Pro Gly Ser Asp Ser Leu Tyr Trp Val Gly Asp Thr Ala
 260 265 270

Ala Leu Leu Asp Glu Val Glu Glu Phe Ile Thr Gly Val Arg Gly Gly
 275 280 285

Phe Val Thr Glu Arg Val Leu Thr Thr Val Met Phe Thr Asp Ile Val
 290 295 300

Gly Ser Thr Gln Arg Ala Ala Thr Val Gly Asp Leu Arg Trp Arg Asp
 305 310 315 320

Leu Leu Asp Asn His Asp Asn Leu Val Arg His Glu Ile Gln Arg Phe
 325 330 335

Gly Gly Arg Glu Val Asn Thr Ala Gly Asp Gly Phe Val Ala Thr Phe
 340 345 350

Ser Ser Pro Ser Ala Ala Ile Asn Cys Ala Asp Ala Val Val Asp Ala
 355 360 365

Val Ala Val Leu Gly Ile Glu Val Arg Val Gly Ile His Ala Gly Glu
 370 375 380

Val Glu Val Arg Gly Ala Asp Val Ala Gly Leu Ala Val His Ile Gly
 385 390 395 400

Ala Arg Val Cys Ala Leu Ala Gly Ser Ser Glu Val Leu Val Ser Ser
 405 410 415

Thr Val Arg Asp Ile Val Thr Gly Ser Ser His Arg Phe Ala Glu Arg
 420 425 430

Gly Glu His Glu Leu Lys Gly Val Pro Gly Arg Trp Arg Leu Cys Ala
 435 440 445

Leu Val Arg Glu His Leu Thr Gly Gln Arg
 450 455

<210> 15
 <211> 1377
 <212> ADN
 <213> *Mycobacterium marinum* M

5

<400> 15

ES 2 771 048 T3

gtgtcgcagg cgccccgaac tccccggact cgctacgcca ggtgcggcga cctggacatc 60
 gcctaccagg tgatcgggga tcatccgata gacctgctcg tcataccggg ggcctcgatt 120
 ccggtcgaca ccatcgattc cgaaccgtcg atgtaccgct ttcaccgccg tctggcgtcg 180
 ttttcccgcc tgatccggtt cgaccatcgc ggcgtcggcc tgtcatcgcg ggtttcgtcg 240
 ccggatgcgc tcggcccag gttctgggcc gaggatgcga ttgcggtgat ggacgcggcc 300
 ggatgccagg aagccacgat tcttgctcc gggttcaccg cgacgaccgc cctggtgctg 360
 gccgccgact atcccgagcg ggtgcgcagc ctgggtctca tcaacgcctc cgcgcggaca 420
 ctgcatgcgc ccgactacga actgggcata aggtccaaca ccgccgaacc attcctcacc 480
 ctcggaaccg atcccgacgc ggtcgagcag gggttcagc tgctgcgcat catggcgccc 540
 agcgtggccc atgacgacgc gttccgcgac tggtgggatc tggccgaaa ccgggcggcc 600
 tcgcccagca cggcgcgcgc cttcatcaac gcggttaag cctcggatgc gcgcgactcg 660
 ctgccccaca tcaccgcgcc gacgtgata ctgcatcggg tgggcaccaa gttcgttccg 720
 gtcgagcag gccgctatct ggccgagcac attgccgggt cgcgcttggc cgagcttccc 780
 ggttccgatt ccttgattg ggtcggcgac accgcccgct tgctcgacga ggtcgaggag 840
 ttcatacccg gcgtccgggg cggcttcgtc accgagcggg tactgaccac ggtcatgttc 900
 accgacatcg tcggctcgac ccagcgcgca gccaccgtgg gtgacctgcg ctggcgcgac 960
 ctgctcgata accacgacaa cctggtccgc cacgagatcc agcggttcgg tgggcgcgag 1020
 gtcaataccg cgggcgacgg gttcgtcgcg acgttcagca gcccgagtgc ggcaatcaac 1080
 tgcgcggacg ccgtcgtcga cgcctcgcgc gtgctcggca tcgaggtccg ggtggggatt 1140
 catgccggcg aggtcgaggt gcggggggcc gacgtcgcgc gcctggccgt acacatcggt 1200
 gcccggtct gtgcgctggc cggctccagt gaggtgctgg tgcctcgcac ggtgcgtgac 1260
 atcgtcaccg gctcagacca cagattcgcc gagcgcggcg aacacgaact caaggcgtg 1320
 ccgggcccgat gcggccttg tgcgctggtc cgggagcacc tcacgggcca gcggtag 1377

<210> 16
 <211> 462
 <212> PRT
 <213> *Mycobacterium tuberculosis* KZN 1435

5

<400> 16

Met Ala Gln Ala Pro His Ile His Arg Thr Arg Tyr Ala Lys Cys Gly
 1 5 10 15
 Asp Met Asp Ile Ala Tyr Gln Val Leu Gly Asp Gly Pro Thr Asp Leu
 20 25 30
 Leu Val Leu Pro Gly Pro Phe Val Pro Ile Asp Ser Ile Asp Asp Glu
 35 40 45
 Pro Ser Leu Tyr Arg Phe His Arg Arg Leu Ala Ser Phe Ser Arg Val
 50 55 60

10

ES 2 771 048 T3

Ile Arg Leu Asp His Arg Gly Val Gly Leu Ser Ser Arg Leu Ala Ala
65 70 75 80

Ile Thr Thr Leu Gly Pro Lys Phe Trp Ala Gln Asp Ala Ile Ala Val
85 90 95

Met Asp Ala Val Gly Cys Glu Gln Ala Thr Ile Phe Ala Pro Ser Phe
100 105 110

His Ala Met Asn Gly Leu Val Leu Ala Ala Asp Tyr Pro Glu Arg Val
115 120 125

Arg Ser Leu Ile Val Val Asn Gly Ser Ala Arg Pro Leu Trp Ala Pro
130 135 140

Asp Tyr Pro Val Gly Ala Gln Val Arg Arg Ala Asp Pro Phe Leu Thr
145 150 155 160

Val Ala Leu Glu Pro Asp Ala Val Glu Arg Gly Phe Asp Val Leu Ser
165 170 175

Ile Val Ala Pro Thr Val Ala Gly Asp Asp Val Phe Arg Ala Trp Trp
180 185 190

Asp Leu Ala Gly Asn Arg Ala Gly Pro Pro Ser Met Ala Arg Ala Val
195 200 205

Ser Lys Val Ile Ala Glu Ala Asp Val Arg Asp Val Leu Gly His Ile
210 215 220

Glu Ala Pro Thr Leu Ile Leu His Arg Val Gly Ser Thr Tyr Ile Pro
225 230 235 240

Val Gly His Gly Arg Tyr Leu Ala Glu His Ile Ala Gly Ser Arg Leu
245 250 255

Val Glu Leu Pro Gly Thr Asp Thr Leu Tyr Trp Val Gly Asp Thr Gly
260 265 270

Pro Met Leu Asp Glu Ile Glu Glu Phe Ile Thr Gly Val Arg Gly Gly
275 280 285

Ala Asp Ala Glu Arg Met Leu Ala Thr Ile Met Phe Thr Asp Ile Val
290 295 300

Gly Ser Thr Gln His Ala Ala Ala Leu Gly Asp Asp Arg Trp Arg Asp

ES 2 771 048 T3

gtggcgagcag ctccccacat tcacaggacc cgctacgcaa aatgcggcga catggatatac 60
gctaccagcag tgctgggtga cggctccgacg gatctgctgg tgttgccggg gccggttcgtg 120
ccgatcgact cgatcgacga cgagccatcg ctgtaccggt tccatcgccg tcttgctca 180
ttcagcaggg tgatccgcct cgaccatcgt ggggtcggcc tgtcgtcacg gctcgccgcg 240
ataaccacgc tggggccgaa gttctgggcc caggacgcga tcgcggtgat ggacgcggtc 300
ggatgcgagc aggcgacaat tttcgcgccc agtttccacg ccatgaacgg acttgttctc 360
gccgccgact accccgagcg ggtgcgcagc ctgatcgtcg tcaacggctc ggcgcgccca 420
ctatgggcgc ccgactaccg ggtaggcgc caggttcgtc gagctgaccg gttcctgacg 480
gtggcgctgg aaccggatgc cgtcgagcgg ggcttcgacg tgctgagcat cgtggctcct 540

accgtggccg gagatgacgt gtttcgagcc tgggtgggac tcgccggcaa ccgtgccgga 600
ccgccgagca tggcccgtgc cgtttcaaag gtcatagccg aggccgacgt acgagatgct 660
ttgggacaca tcgaggctcc aacactgatc ttgcaccgtg tcggatcgac gtacatcccg 720
gtgggacatg gtgcctacct cgccgagcac atcgtgggat cccgcttggc cgaactaccg 780
ggcaccgata ccctgtactg ggttggcgac accgggcccga tgctcgatga aatcgaggaa 840
ttcatcaccg gcgtgcgcgg cggcgctgac gccgagcga tgcttgccac catcatgttt 900
accgacatcg tcggctcgac ccagcacgcc gccgcgctcg gcgacgaccg atggcgcgac 960
ctgttggaca accacgacac catcgtgtgc cacgaaatcc agcggttcgg cggtcgcgaa 1020
gtgaacacgg ccggtgacgg tttcgtcgcg acgttacca gtccgagtgc cgcgatcgcg 1080
tgccgggacg acatcgtcga cgcggtcgcc gcgctgggta ttgaggtccg gatcggtatt 1140
catgcgggag aggtcgaggt gcgcatgcc tcgcacggta ccgacgtcgc cggcgtggcc 1200
gtgcatatcg gtgcgcgctg ctgcgcgctg gccggaccca gtgaggtgct ggtgtcctcg 1260
accgtgcgag acatcgtcgc cggatcacgg caccggttcg ccgagcgtgg tgagcaggaa 1320
ctcaagggcg taccgggagc atggcggcta tgcgtgctca tgcgcgacga cgccaccgcg 1380
acgcgctaa 1389

<210> 18
<211> 462
<212> PRT
<213> *Mycobacterium tuberculosis* F11

<400> 18

5

ES 2 771 048 T3

Met Ala Gln Ala Pro His Ile His Arg Thr Arg Tyr Ala Lys Cys Gly
1 5 10 15

Asp Met Asp Ile Ala Tyr Gln Val Leu Gly Asp Gly Pro Thr Asp Leu
20 25 30

Leu Val Leu Pro Gly Pro Phe Val Pro Ile Asp Ser Ile Asp Asp Glu
35 40 45

Pro Ser Leu Tyr Arg Phe His Arg Arg Leu Ala Ser Phe Ser Arg Val
50 55 60

Ile Arg Leu Asp His Arg Gly Val Gly Leu Ser Ser Arg Leu Ala Ala
65 70 75 80

Ile Thr Thr Leu Gly Pro Lys Phe Trp Ala Gln Asp Ala Ile Ala Val
85 90 95

Met Asp Ala Val Gly Cys Glu Gln Ala Thr Ile Phe Ala Pro Ser Phe

ES 2 771 048 T3

Thr Ser Pro Ser Ala Ala Ile Ala Cys Ala Asp Asp Ile Val Asp Ala
 355 360 365

Val Ala Ala Leu Gly Ile Glu Val Arg Ile Gly Ile His Ala Gly Glu
 370 375 380

Val Glu Val Arg Asp Ala Ser His Gly Thr Asp Val Ala Gly Val Ala
 385 390 395 400

Val His Ile Gly Ala Arg Val Cys Ala Leu Ala Gly Pro Ser Glu Val
 405 410 415

Leu Val Ser Ser Thr Val Arg Asp Ile Val Ala Gly Ser Arg His Arg
 420 425 430

Phe Ala Glu Arg Gly Glu Gln Glu Leu Lys Gly Val Pro Gly Arg Trp
 435 440 445

Arg Leu Cys Val Leu Met Arg Asp Asp Ala Thr Arg Thr Arg
 450 455 460

- <210> 19
- <211> 1389
- <212> ADN
- <213> *Mycobacterium tuberculosis* F11
- <400> 19

5

ES 2 771 048 T3

gtggcgagg ctccccacat tcacaggacc cgctacgcaa aatgcggcga catggatata 60
gcctaccagg tgctgggtga cgggtccgacg gatctgctgg tgggtccggg gccgttcgtg 120
ccgatcgact cgatcgacga cgagccatcg ctgtaccggt tccatcgccg tcttgcgta 180
ttcagcaggg tgatccgcct cgaccatcgt ggggtcggcc tgtcgtcacg gctcgcgcg 240
ataaccacgc tggggccgaa gttctgggcc caggacgcga tcgcggtgat ggacgcggtc 300
ggatgcgagc aggcgacaat tttcgcgccc agtttccacg ccatgaacgg acttgttctc 360
gccgccgact accccgagcg ggtgcgacg ctgatcgtcg tcaacggctc ggcgcgccc 420
ctatgggccc ccgactaccg ggtaggcgcc caggttcgtc gagctgacct gttcctgacg 480
gtggcgctgg aaccggatgc cgtcgagcgg ggcttcgacg tgcgtgagcat cgtggctcct 540
accgtggccg gagatgacgt gtttcgagcc tgggtgggatc tcgccggcaa ccgtgccgga 600
ccgccgagca tggcccgtgc cgtttcaaag gtcatagccg aggccgacgt acgagatgta 660
ttgggacaca tcgaggctcc aacactgatc ttgcaccgtg tcggatcgac gtacatccc 720
gtgggacatg gtcgctacct cgccgagcac atcgctggat cccgcttggg cgaactacc 780
ggcaccgata ccctgtactg ggttggcgac accgggcccga tgctcgatga aatcgaggaa 840
ttcatcaccg gcgtgcgcg cggcgctgac gccgagcgca tgcttgcac catcatgtt 900

accgacatcg tcggctcgac ccagcacgcc gccgcgctcg gcgacgaccg atggcgcgac 960
ctgttggaaca accacgacac catcgtgtgc cacgaaatcc agcggttcgg cggtcgcgaa 1020
gtgaacacgg ccggtgacgg tttcgtcgcg acgttcacca gtccgagtgc cgcgatcgcg 1080
tgccgggacg acatcgtcga cgcggtcgcc gcgctgggta ttgaggtccg gatcggatt 1140
catgcggggc aggtcgaggt gcgcatgcc tcgcacggta ccgacgtcgc cggcgtggcc 1200
gtgcatatcg gtgcgcgct ctgcgcgctg gccggaccca gtgaggtgct ggtgtcctcg 1260
accgtgcgag acatcgtcgc cggatcacgg caccggttcg ccgagcgtgg tgagcaggaa 1320
ctcaagggcg taccgggagc atggcggcta tgcgtgctca tgccgacga cgcacccgc 1380
acgcgctaa 1389

<210> 20
<211> 372
<212> PRT
<213> *Phanerochaete chrysosporium*

5

<400> 20

ES 2 771 048 T3

Met Ala Phe Lys Gln Leu Leu Ala Ala Leu Ser Val Ala Leu Thr Leu
 1 5 10 15

Gln Val Thr Gln Ala Ala Pro Asn Leu Asp Lys Arg Val Ala Cys Pro
 20 25 30

Asp Gly Val His Thr Ala Ser Asn Ala Ala Cys Cys Ala Trp Phe Pro
 35 40 45

Val Leu Asp Asp Ile Gln Gln Asn Leu Phe His Gly Gly Gln Cys Gly
 50 55 60

Ala Glu Ala His Glu Ala Leu Arg Met Val Phe His Asp Ser Ile Ala
 65 70 75 80

Ile Ser Pro Lys Leu Gln Ser Gln Gly Lys Phe Gly Gly Gly Gly Ala
 85 90 95

Asp Gly Ser Ile Ile Thr Phe Ser Ser Ile Glu Thr Thr Tyr His Pro
 100 105 110

Asn Ile Gly Leu Asp Glu Val Val Ala Ile Gln Lys Pro Phe Ile Ala
 115 120 125

Lys His Gly Val Thr Arg Gly Asp Phe Ile Ala Phe Ala Gly Ala Val
 130 135 140

ES 2 771 048 T3

Gly Val Ser Asn Cys Pro Gly Ala Pro Gln Met Gln Phe Phe Leu Gly
 145 150 155 160

Arg Pro Glu Ala Thr Gln Ala Ala Pro Asp Gly Leu Val Pro Glu Pro
 165 170 175

Phe His Thr Ile Asp Gln Val Leu Ala Arg Met Leu Asp Ala Gly Gly
 180 185 190

Phe Asp Glu Ile Glu Thr Val Trp Leu Leu Ser Ala His Ser Ile Ala
 195 200 205

Ala Ala Asn Asp Val Asp Pro Thr Ile Ser Gly Leu Pro Phe Asp Ser
 210 215 220

Thr Pro Gly Gln Phe Asp Ser Gln Phe Phe Val Glu Thr Gln Leu Arg
 225 230 235 240

Gly Thr Ala Phe Pro Gly Lys Thr Gly Ile Gln Gly Thr Val Met Ser
 245 250 255

Pro Leu Lys Gly Glu Met Arg Leu Gln Thr Asp His Leu Phe Ala Arg
 260 265 270

Asp Ser Arg Thr Ala Cys Glu Trp Gln Ser Phe Val Asn Asn Gln Thr
 275 280 285

Lys Leu Gln Glu Asp Phe Gln Phe Ile Phe Thr Ala Leu Ser Thr Leu
 290 295 300

Gly His Asp Met Asn Ala Met Ile Asp Cys Ser Glu Val Ile Pro Ala
 305 310 315 320

Pro Lys Pro Val Asn Phe Gly Pro Ser Phe Phe Pro Ala Gly Lys Thr
 325 330 335

His Ala Asp Ile Glu Gln Ala Cys Ala Ser Thr Pro Phe Pro Thr Leu
 340 345 350

Ile Thr Ala Pro Gly Pro Ser Ala Ser Val Ala Arg Ile Pro Pro Pro
 355 360 365

Pro Ser Pro Asn
 370

<210> 21
 <211> 1263
 <212> ADN
 <213> *Phanerochaete chrysosporium*

ES 2 771 048 T3

<400> 21

```

gctacagctc accgtccggt ctccagcagca gcaatggcgt tcaagcagct cctcgcagcc      60
ctctccgctc ccctgaccct ccaggtcacc caagctgccc cgaacctoga caagcgcgtc      120
gcttgccccg acggcgtgca caccgcctcc aacgcggcgt gctgtgcatg gttcccggtc      180
ctcgatgata tccagcagaa cctcttccac ggtggccagt gcggtgccga ggcccacgag      240
gcccttcgta tggctttcca cgactccatc gctatctcgc ccaagcttca gtcgcagggc      300
aagtttggcg gcggcggcgc ggacggctcg atcattacct tctcctcgat cgagaccacg      360
taccacccga acatcggcct cgacgaggtc gtcgccatcc agaagccggt catcgcgaag      420
cacggcgtca cccgtggcga cttcatcgca ttccgctggt cgcgcggcgt gagcaactgc      480
ccgggcgcgc cgcagatgca gttcttccct ggccgccccg aggcaacgca ggccgcccc      540
gacggtctcg tgcccagacc cttccacacc atcgatcagg ttctcgcctc catgcttgac      600
gctggtggct tcgacgagat cgagactgtc tggctgctct ctgccactc catcgcggct      660
gcgaacgacg tcgacccgac catctccggc ctgccgttcg actccactcc cggccagttc      720
gactcccagt tcttcgctga gacgcagctc cgcggctacc cattccctgg caagactggt      780
atccagggca ccgtcatgtc cccgctcaag ggcgagatgc gtctgcagac ggaccacttg      840
ttcgcgcggt actcgcgcac ggcatgcgag tggcagtcct tcgtcaacaa ccagacgaag      900
ctgcaggagg acttccagtt catcttcacg gcgctctoga cgcctcgcca cgacatgaac      960
gccatgatcg actgctccga ggtcatcccc gcgcccaagc ccgtcaactt cggcccctcg     1020
ttcttccccg ccgtaagac gcacgccgac atcgagcagg cctgcgcata cacgccgttc     1080
ccgacgctca tcaccgcccc cggctccctc gcgtccgctc ctgcgcatcc cccgcgcgcg     1140
tcccccaact aagctatgtc tatgctggac atgctctcgg ttctacctcg tcggtatcgt     1200
cgcacgggta tctcgcggtt gcatcatgta tacctgctcg tggaatatac aaagtggctc     1260
atc                                                                           1263

```

5 <210> 22
 <211> 372
 <212> PRT
 <213> *Phanerochaete chrysosporium*

10 <400> 22

```

Met Ala Leu Lys Gln Leu Ala Ala Ala Val Ala Leu Ala Leu Ser Ile
1           5           10           15

Gln Ala Ala Gln Gly Ala Ala Val Lys Glu Lys Arg Ala Thr Cys Ser
20           25           30

```

ES 2 771 048 T3

Asn Gly Ala Thr Val Gly Asp Ala Ser Ser Cys Ala Trp Phe Asp Val
 35 40 45

Leu Asp Asp Ile Gln Gln Asn Leu Phe Asn Gly Ala Gln Cys Gly Ala
 50 55 60

Glu Ala His Glu Ser Ile Arg Leu Val Phe His Asp Ala Ile Ala Ile
 65 70 75 80

Ser Pro Ala Leu Glu Ser Gln Gly Lys Phe Gly Gly Gly Gly Ala Asp
 85 90 95

Gly Ser Ile Ile Leu Phe Asp Asp Ile Glu Thr Asn Phe His Pro Asn
 100 105 110

Ile Gly Leu Asp Glu Ile Val Asn Leu Gln Lys Pro Phe Ile Gln Lys
 115 120 125

His Gly Val Thr Pro Gly Asp Phe Ile Ala Phe Ala Gly Ala Val Ala
 130 135 140

Met Ser Asn Cys Pro Gly Ala Pro Gln Met Asn Phe Phe Thr Gly Arg
 145 150 155 160

Ala Pro Ala Thr Gln Ala Ala Pro Asp Gly Leu Val Pro Glu Pro Phe
 165 170 175

His Thr Val Asp Gln Ile Ile Ser Arg Val Asn Asp Ala Gly Glu Phe
 180 185 190

Asp Glu Leu Glu Leu Val Trp Met Leu Ser Ala His Ser Val Ala Ala
 195 200 205

Ala Asn Asp Val Asp Pro Thr Ile Gln Gly Leu Ala Phe Asp Ser Thr
 210 215 220

Pro Gly Val Phe Asp Ser Gln Phe Phe Val Glu Thr Gln Leu Arg Gly
 225 230 235 240

Thr Ala Phe Pro Gly Ser Gly Gly Asn Gln Gly Glu Val Glu Ser Pro
 245 250 255

Leu Pro Gly Glu Met Arg Leu Gln Ser Asp Ser Ser Ile Ala Arg Asp
 260 265 270

Ser Arg Thr Ala Cys Glu Trp Gln Ser Phe Val Asn Asn Gln Ser Lys
 275 280 285

ES 2 771 048 T3

Leu Val Ser Asp Phe Gln Phe Ile Phe Leu Ala Leu Thr Gln Leu Gly
 290 295 300

Glu Asn Pro Asp Ala Met Thr Asp Cys Ser Asp Val Ile Pro Ile Ser
 305 310 315 320

Lys Pro Val Pro Asn Asn Val Pro Phe Ser Phe Phe Pro Ala Gly Lys
 325 330 335

Thr Met Ala Asp Val Glu Gln Ala Cys Ala Glu Thr Pro Phe Pro Thr
 340 345 350

Leu Thr Thr Leu Pro Gly Pro Glu Thr Ser Val Gln Arg Ile Gln Pro
 355 360 365

Pro Pro Gly Ala
 370

<210> 23

<211> 1119

<212> ADN

<213> *Phanerochaete chrysosporium*

<400> 23

5

ES 2 771 048 T3

atggctctta agcaactcgc tgctgccgtc gctctcgcac tctcgatcca ggctgccc	60
ggcgctgctg tgaaggagaa gcgcgccacc tgctccaacg gcgcgactgt cggcgacgcg	120
tcgtcgtgcg cctgggttga cgttctcgac gacatccagc agaacctctt caacggcgcc	180
cagtgtggtg ctgaggctca cgagtccatt cgtcttgtct tccacgacgc catcgctatc	240
tcgcctgccc ttgagtctca aggcaaattc ggtggtggag gcgctgatgg ctccattatc	300
ctcttcgacg atatcgagac caactttcac cccaacattg gccttgacga gattgtcaac	360
ctgcagaagc cttcatcca gaagcacggc gttactcctg gcgatttcat tgcctttgct	420
ggcgccgctc ccatgagcaa ctgccctggt gctccgcaga tgaacttctt caccggtcgt	480
gctcctgcta ctcaggccgc tccagacggc ctcgttcccg agccattcca cactgtcgac	540
cagatcatct ctcgctcaa cgacgctggc gagtttgacg agcttgagct cgtctggatg	600
ctgtctgctc actccgctgc tgcggcgaac gatgtcgatc cgacgatcca ggggcttgcg	660
ttcgactcta ccccggtgt cttcgactcg cagttcttcg ttgagacaca gcttcgcggc	720
acggcgttcc cgggctcggg tggcaaccag ggtgaggttg aatcccctct ccccggtgag	780
atgcgctcc agtccgactc ctcgatcgcc cgcgactcgc gcacggcgtg cgagtggcag	840
tccttcgtca acaaccagtc gaagctcgtt agegacttcc agttcatctt cctcgccctt	900
accagctcg gcgagaacct ggatgctatg accgactgct cagacgtgat cccgatctcg	960
aagccggtcc ccaacaacgt cccgttctcg ttcttcccgg ctggcaagac catggctgat	1020
gttgagcagg cgtgtgctga gacgcccttc ccgactctga cgacgcttcc tggccccgag	1080
acctcgggtg agcgcaccca gcctcctccg ggtgcttaa	1119

<210> 24

<211> 372

<212> PRT

<213> *Phanerochaete sordida*

<400> 24

5

ES 2 771 048 T3

Met Ala Phe Lys Arg Leu Leu Ala Val Leu Thr Ala Ala Ile Ser Leu
 1 5 10 15

Gly Ala Val Gln Gly Val Ala Val Glu Lys Arg Ala Thr Cys Ser Asn
 20 25 30

Gly Lys Thr Val Ser Ala Ser Ser Cys Cys Ala Trp Phe Asn Val Leu
 35 40 45

Ser Asp Ile Gln Glu Asn Leu Phe Asn Gly Gly Gln Cys Gly Ala Glu
 50 55 60

Ala His Glu Ser Ile Arg Leu Val Phe His Asp Ser Ile Ala Ile Ser
 65 70 75 80

Pro Ala Met Glu Ala Ala Gly Gln Phe Gly Gly Gly Gly Ala Asp Gly
 85 90 95

Ser Ile Met Ile Phe Asp Glu Ile Glu Thr Asn Phe His Pro Asn Ile
 100 105 110

Gly Leu Asp Glu Ile Val Arg Leu Gln Lys Pro Phe Val Gln Lys His
 115 120 125

Gly Val Thr Pro Gly Asp Phe Ile Ala Phe Ala Gly Ala Val Ala Leu
 130 135 140

Ser Asn Cys Pro Gly Ala Pro Gln Met Asn Phe Phe Thr Gly Arg Ala
 145 150 155 160

Pro Ala Thr Gln Ala Ala Pro Asp Gly Leu Val Pro Glu Pro Phe His
 165 170 175

Thr Val Asp Gln Ile Ile Asp Arg Val Gly Asp Ala Gly Glu Phe Asp
 180 185 190

Glu Leu Glu Leu Val Trp Met Leu Ser Ala His Ser Ile Ala Ala Ala

ES 2 771 048 T3

	195		200		205														
Asn	Asp	Val	Asp	Pro	Thr	Thr	Gln	Gly	Leu	Pro	Phe	Asp	Ser	Thr	Pro				
	210					215					220								
Gly	Ile	Phe	Asp	Ser	Gln	Phe	Phe	Val	Glu	Thr	Gln	Leu	Ala	Gly	Thr				
225					230				235					240					
Gly	Phe	Pro	Ala	Ser	Ala	Asn	Asn	Gln	Gly	Glu	Val	Thr	Ser	Pro	Leu				
				245					250					255					
Ala	Gly	Glu	Met	Arg	Leu	Gln	Ser	Asp	Phe	Leu	Ile	Ala	Arg	Asp	Ala				
			260					265					270						
Arg	Thr	Ala	Cys	Glu	Trp	Gln	Ser	Phe	Val	Asn	Asn	Gln	Ser	Lys	Leu				
		275					280					285							
Val	Ser	Asp	Phe	Gln	Phe	Ile	Phe	Leu	Ala	Leu	Thr	Gln	Leu	Gly	Gln				
	290					295					300								
Asp	Pro	Thr	Val	Met	Thr	Asp	Cys	Ser	Asp	Val	Ile	Pro	Ile	Ser	Lys				
305					310					315					320				
Pro	Ala	Pro	Ala	Asn	Thr	Pro	Gly	Phe	Ser	Phe	Phe	Pro	Ala	Gly	Lys				
				325					330					335					
Thr	Met	Ala	Asp	Val	Glu	Gln	Ala	Cys	Ala	Glu	Thr	Pro	Phe	Pro	Thr				
			340					345					350						
Leu	Ser	Thr	Leu	Pro	Gly	Pro	Gln	Thr	Ser	Val	Ala	Arg	Ile	Gln	Pro				
		355					360					365							
Pro	Pro	Gly	Ala																
		370																	

<210> 25
 <211> 1727
 <212> ADN
 <213> *Phanerochaete sordida*
 <400> 25

5

ES 2 771 048 T3

aggtcactct cagcctctca gactcttctc cagtgcacct agctcagaca tggctttcaa 60
 gaggtcctct gctgtttctca ccgcccctat ctccctcggc gccgtccagg gtacgtccta 120
 cgcttcccca ctttaccgca ggacactgac agcggcgcct aggtgtcgcct gttgagaagc 180
 gcgccacctg ctccaacggc aagacgggtca gcgcgtcgtc gtgctgcgcc tggttcaatg 240
 tcctctcggg catccaggag aacctcttca acggcggcca gtgcggcgct gaggcccatg 300

 agtccatccg cctgtaagca tcaccctctg tccctagcgt tcttgactg atctcgtcgc 360
 agtgtcttcc acgactccat cgccatctcg cctgctatgg aggcogctgg tcagtttggg 420
 tatgtagacg tggcctccgc ttctgcacaa tcctgacaga gcacaatata gcggcggcgg 480
 tgctgacggc tccatcatga tcttgcagca gatcgagacc aacttccacc ccaacatcgg 540
 cctcgacgag atcgtgcgcc tgcagaagcc cttcgtccag aagcacggcg tcacccccgg 600
 cgacttcata gccttcgctg gcgcgggttc cctgtccaac tgccccggtg ccccgagat 660
 gaacttcttc accggcggcg cccccccac ccaggcggcc cccgatggtc ttgtccccga 720
 gcccttccgt gagttattcc gccacatat gtcgaccgta gcgaactgac agcactcgta 780
 gacactgtcg accagattat cgaccgtgtc ggcgacggc gcgagttcga tgagctcgag 840
 ctcgtctgga tgctttccgc gtacggcttc gttctcactg ccggtatcgc catactgata 900
 aatogactcc agccattcca ttgcggctgc gaacgacgtc gacccgacca cccagggtct 960
 tcccttcgac tccacccccg gtatcttcga ctcgcagttc ttcgtcgaga cccagctcgc 1020
 cggcactggc ttccccgggt acgtctcctc gtctttccct ccttctgcgc tgctcaccac 1080
 gcctacagct ccgcgaacaa ccagggcgag gtcacgtccc cgcttgccgg cgagatgcgc 1140
 ctgcagtcgg acttctcat cgcccgcgac gcgcgcaccg catgcgagtg gcagtccttc 1200
 gtcaacaacc agtogaagct cgtgtccgac ttccagttca tcttctcgc cctcacgcag 1260
 ctcgccagc acccgaccgt catgaccgac tgctcggacg ttattcccat ctccaagccc 1320
 gcgcccgca acacccccg attctcttcc tccccccg gcaagaccat ggctgacgtc 1380
 gagcaggctg tgcgtgaatt catgtttgag cgcataatag tggctggcaa gctgacgaac 1440
 gctcctctag tgcgccgaga cgccttccc gactctctcg accctccccg gcccgcaaac 1500
 ctgggtcgtc cgcagttctg tactaaaatt caatcatatc cgggggcccag ctgacaatgt 1560
 tttcttacag ccaaccccct cccggtgctt aatagccac cacaacccgg ttctctcccc 1620
 ggcacaggca gctaagctta gacttaacct cagaaggttc agatgtagaa actgctcgtc 1680
 ttgtctcaat accgcttttg aagcaaatac acgtgtatta ctggccc 1727

<210> 26

<211> 371

<212> PRT

<213> *Phanerochaete chrysosporium* (anamorfo: *Sporotrichum pruinosum*)

<400> 26

5

ES 2 771 048 T3

Met Ala Leu Lys Gln Leu Ala Ala Ala Val Ala Leu Ala Leu Ser Ile
1 5 10 15

Gln Ala Ala Gln Gly Ala Ala Val Lys Glu Lys Arg Ala Thr Cys Ser
20 25 30

ES 2 771 048 T3

Asn Gly Ala Thr Val Gly Asp Ala Ser Ser Cys Ala Trp Phe Asp Val
 35 40 45

Leu Asp Asp Ile Gln Gln Asn Leu Phe Asn Gly Ala Gln Cys Gly Ala
 50 55 60

Glu Ala His Glu Ser Ile Arg Leu Val Phe His Asp Ala Ile Ala Ile
 65 70 75 80

Ser Pro Ala Leu Glu Ser Gln Gly Lys Phe Gly Gly Gly Gly Ala Asp
 85 90 95

Gly Ser Ile Ile Leu Phe Asp Asp Ile Glu Thr Asn Phe His Pro Asn
 100 105 110

Ile Gly Leu Asp Glu Ile Val Asn Leu Gln Lys Pro Phe Ile Gln Lys
 115 120 125

His Gly Val Thr Pro Gly Asp Phe Ile Ala Phe Ala Gly Ala Val Ala
 130 135 140

Met Ser Asn Cys Pro Gly Ala Pro Gln Met Asn Phe Phe Thr Gly Arg
 145 150 155 160

Ala Pro Ala Thr Gln Ala Ala Pro Asp Gly Leu Val Pro Glu Pro Phe
 165 170 175

His Thr Val Asp Gln Ile Ile Ser Arg Val Asn Asp Ala Gly Glu Phe
 180 185 190

Asp Glu Leu Glu Leu Val Trp Met Leu Ser Ala His Ser Val Ala Ala
 195 200 205

Ala Asn Asp Val Asp Pro Thr Ile Gln Gly Leu Ala Phe Asp Ser Thr
 210 215 220

Pro Gly Val Phe Asp Ser Gln Phe Phe Val Glu Thr Gln Leu Arg Gly
 225 230 235 240

Thr Ala Phe Pro Gly Ser Gly Gly Asn Gln Gly Glu Val Glu Ser Pro
 245 250 255

Leu Pro Gly Glu Met Arg Leu Gln Ser Asp Ser Ser Ile Ala Arg Asp
 260 265 270

Ser Arg Thr Ala Cys Glu Trp Gln Ser Phe Val Asn Asn Gln Ser Lys
 275 280 285

ES 2 771 048 T3

Leu Val Ser Asp Phe Gln Phe Ile Phe Leu Ala Leu Thr Gln Leu Gly
 290 295 300

Glu Asn Pro Asp Ala Met Thr Asp Cys Ser Asp Val Ile Pro Ile Ser
 305 310 315 320

Lys Pro Val Pro Asn Asn Val Pro Phe Ser Phe Phe Pro Ala Gly Lys
 325 330 335

Thr Met Ala Asp Val Glu Gln Ala Cys Ala Glu Thr Pro Phe Pro Thr
 340 345 350

Leu Thr Thr Leu Pro Gly Pro Glu Thr Ser Val Gln Arg Ile Pro Pro
 355 360 365

Pro Gly Ala
 370

<210> 27

<211> 2104

<212> ADN

<213> *Phanerochaete chrysosporium* (anamorfo: *Sporotrichum pruinosum*)

<400> 27

tatgttttct tttaccatag tgtcttcgcc attcagtgca gagcgcaaca tgactgtcat	60
gcgccggttg ctcgaccac gactacaatg ccgtctgtcg agcatctact cccgaccgat	120
cctcgttcac aggcaaggta cgcgcttttt tcattggctg cggaggccag ggagtctgct	180
atcgagggca cacggcgcgg cgagggcac gcagaggcg gagggtagtg caggccagag	240
cggtataaaa acgcaaacag gcaggccacc ctctctccag gacactcgca gtcttctgtg	300
cgctcagctt aacagtcatt gctcttaagc aactcgtgc tgccgtcgct ctgcactct	360
cgatccaggc tgccaaggt gggcatcta ctccatatcc ttgtcccccc gtactgacct	420
cgatgcaggc gctgctgtga aggagaagcg cgccacctgc tccaacggcg cgactgtcgg	480
cgacgcgtcg tcgtgcgcct ggtttgacgt tctcgacgac atccagcaga acctcttcaa	540
cggcgcccag tgtggtgctg aggctcacga gtccattcgt ctgtaagtgc ctccgcttgt	600
ttcgggtctag agcctactca ccgctctac agtgtcttc acgacgcat cgctatctcg	660
cctgcccttg agtctcaagg caaattcggg tcgctctc tctccgtttg actgcagggg	720
gtcgtgagt gtagcatagt ggtggaggcg ctgatggctc cattatctc ttcgacgata	780
tcgagaccaa cttcaccac aacattggcc ttgacgagat tgtcaacctg cagaagccct	840
tcattcagaa gcacggcgtt actcctggcg atttcattgc ctttctggc gccgtcgcca	900
tgagcaactg ccctggtgct ccgcagatga acttcttcac cggctcgtgct cctggtatgt	960

5

10

ES 2 771 048 T3

gttgagcacc ccagcgtgga atcagctctga cacttgtcct gcagctactc aggccgctcc	1020
agacggcctc gttcccgagc cattccgtac gtcagctgca cagatacgca tatacaccgg	1080
ctgaccaact cttacagaca ctgtcgacca gatcatctct cgcgtcaacg acgctggcga	1140
gtttgacgag cttgagctcg tctggatgct gtctgcgtaa gttgcaatcc ggctgttcta	1200
cactgacaga gctgaccaca cgccacagtc actccgtcgc tgcggcgaac gatgtcgatc	1260
cgacgatcca ggggcttgcg ttcgactcta ccccgggtgt cttcgactcg cagttcttcg	1320
ttgagacaca gcttcgoggg acggcgttcc ccggctcggg tggcaaccag ggtgaggttg	1380
aatcccctct ccccggtgag atgcgcctcc agtccgactc ctcgatcgcc cgcgactcgc	1440
gcacggcgtg cgagtggcag tccttcgtca gtgcgtatta catgtgcatc ctaggcgag	1500
tggtcagacg ctgagtttgc gccgtagaca accagtcgaa gctcgttagc gacttccagt	1560
tcatcttctc cgcccttacc cagctcggcg agaaccggga tgctatgacc gactgctcag	1620
acgtgatccc gatctcgaag ccggccccca acaacgtccc gttctcgttc ttcccggctg	1680
gcaagaccat ggctgatggt gagcaggcgg tgcgtagcaa ctcaogtcta ccatattgct	1740
gcaggagcta acttatgcac agtgtgctga gacgcccttc ccgactctga cgacgcttcc	1800
tggccccgag acctcgggtc agcgcgatga agtactttct gatgccaatg tacaagcacc	1860
aaggcactaa cggtcattg cagccaghcc tcctccgggt gcttaaattg tattcatcac	1920
ggtcatcacg ttcacggtac tactacgtct ggattgcgtc gccttggctg cttttgtagg	1980
cttatcgaat acacagcttt tctctcagtc atgaccatga agtgtgcat ggtaagcggga	2040
gacaagcaat tcttcgattg tggtcgcgat gccgcccgta gcacatagct cctatgtagt	2100
gcac	2104

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición cosmética para aclarar la piel y/o el pelo de un sujeto, comprendiendo la composición una lignina peroxidasa, una enzima productora de peróxido de hidrógeno y un sustrato de dicha enzima productora de peróxido de hidrógeno, en donde dicha enzima productora de peróxido de hidrógeno comprende glucosa oxidasa y dicho sustrato comprende D-glucosa y en donde una concentración de dicha glucosa oxidasa está en un intervalo de 1,25 a 125 unidades/gramo y una concentración de dicha D-glucosa está en un intervalo de 0,175 μ moles/gramo a 17,5 μ moles/gramo.
- 10 2. La composición de la reivindicación 1, en donde una concentración de dicha lignina peroxidasa está en un intervalo de 1,25 unidades/gramo a 125 unidades/gramo.
- 15 3. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, que comprende además un mediador de oxidación, siendo dicho mediador de oxidación una molécula que facilita una reacción redox catalizada por dicha lignina peroxidasa.
- 20 4. La composición de la reivindicación 3, en donde una concentración de dicho mediador de oxidación está en un intervalo de 0,03 μ moles/gramo a 300 μ moles/gramo.
- 25 5. Un equipo para aclarar la piel y/o el pelo de un sujeto, comprendiendo el equipo una enzima productora de peróxido de hidrógeno, un sustrato de dicha enzima productora de peróxido de hidrógeno y una lignina peroxidasa, en donde dicha enzima productora de peróxido de hidrógeno comprende glucosa oxidasa y dicho sustrato comprende D-glucosa, en donde dicha enzima productora de peróxido de hidrógeno forma parte de una primera composición y dicho sustrato forma parte de una segunda composición, envasándose dicha primera y dicha segunda composiciones individualmente dentro del equipo, y en donde una concentración de dicha glucosa oxidasa en dicha primera composición está en un intervalo de 2,5 a 250 unidades/gramo y una concentración de dicha D-glucosa en dicha segunda composición está en un intervalo de 0,35 μ moles/gramo a 35 μ moles/gramo.
- 30 6. El equipo de la reivindicación 5, en donde dicha primera composición comprende además dicha lignina peroxidasa.
- 35 7. El equipo de la reivindicación 5, en donde dicha segunda composición comprende además dicha lignina peroxidasa.
8. El equipo de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en donde una concentración de dicha lignina peroxidasa en una composición que comprende la lignina peroxidasa está en un intervalo de 2,5 a 250 unidades/gramo.
- 40 9. El equipo de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, que comprende además un mediador de oxidación, siendo dicho mediador de oxidación una molécula que facilita una reacción redox catalizada por dicha lignina peroxidasa.
- 45 10. El equipo de la reivindicación 9, en donde dicho mediador de oxidación forma parte de una composición que comprende dicha lignina peroxidasa.
11. El equipo de la reivindicación 9 o 10, en donde una concentración de dicho mediador de oxidación en una composición que comprende dicho mediador de oxidación está en un intervalo de 0,06 μ moles/gramo a 600 μ moles/gramo.
- 50 12. La composición de la reivindicación 3 o 4, o el equipo de una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, en donde dicho mediador de oxidación se selecciona del grupo que consiste en alcohol veratrílico, veratrol y 1,4-dimetoxibenceno.
- 55 13. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y 12 o el equipo de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 12, en donde dicha lignina peroxidasa es isoenzima H1 o una forma desfosforilada de isoenzima H2.
14. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, 12 y 13, o el equipo de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 13, para su uso para aclarar la piel y/o el pelo de un sujeto.

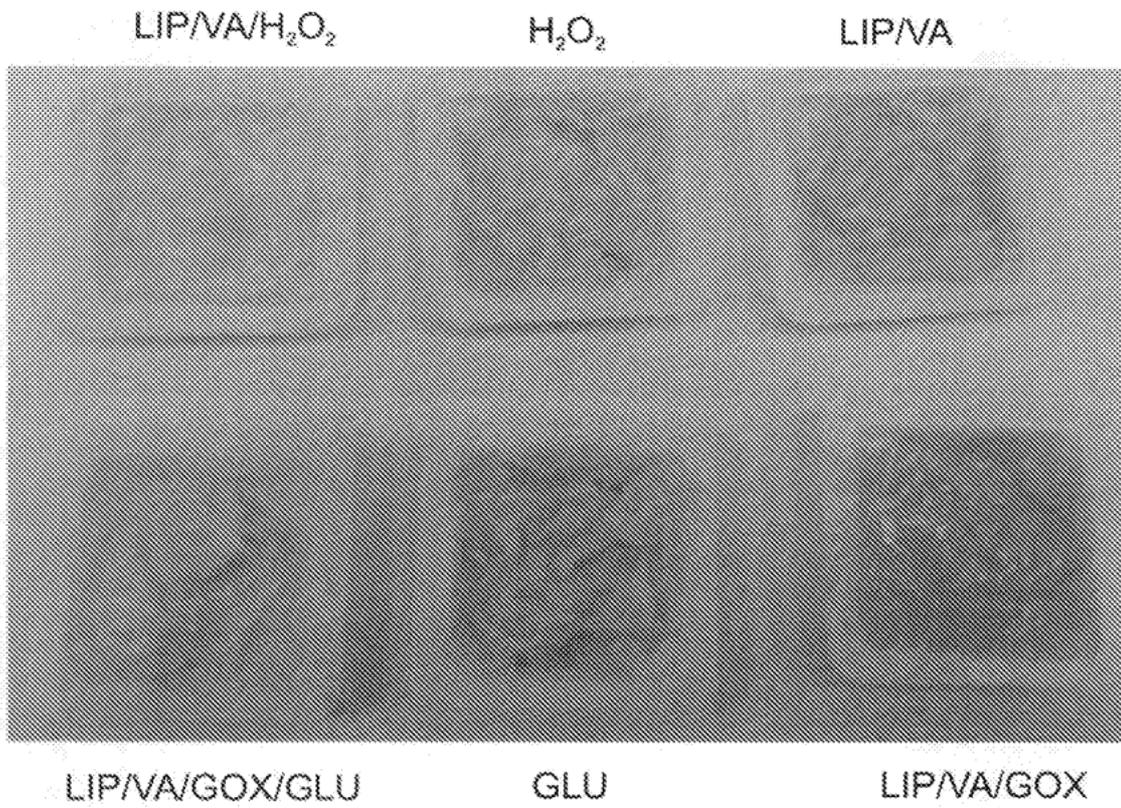


FIG. 1

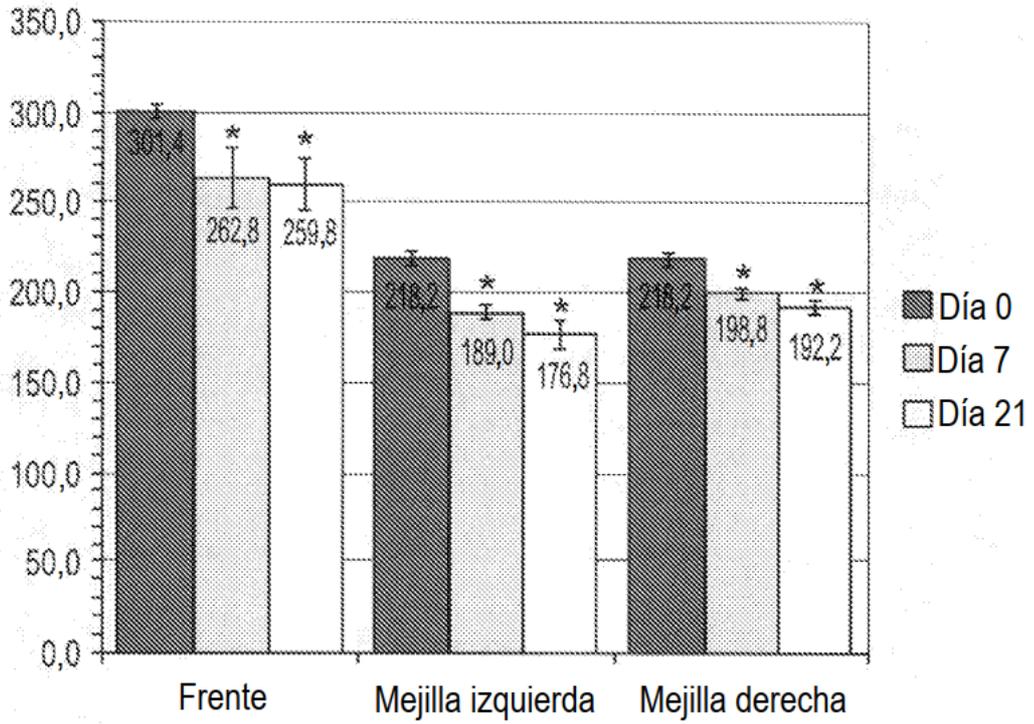


FIG. 2A

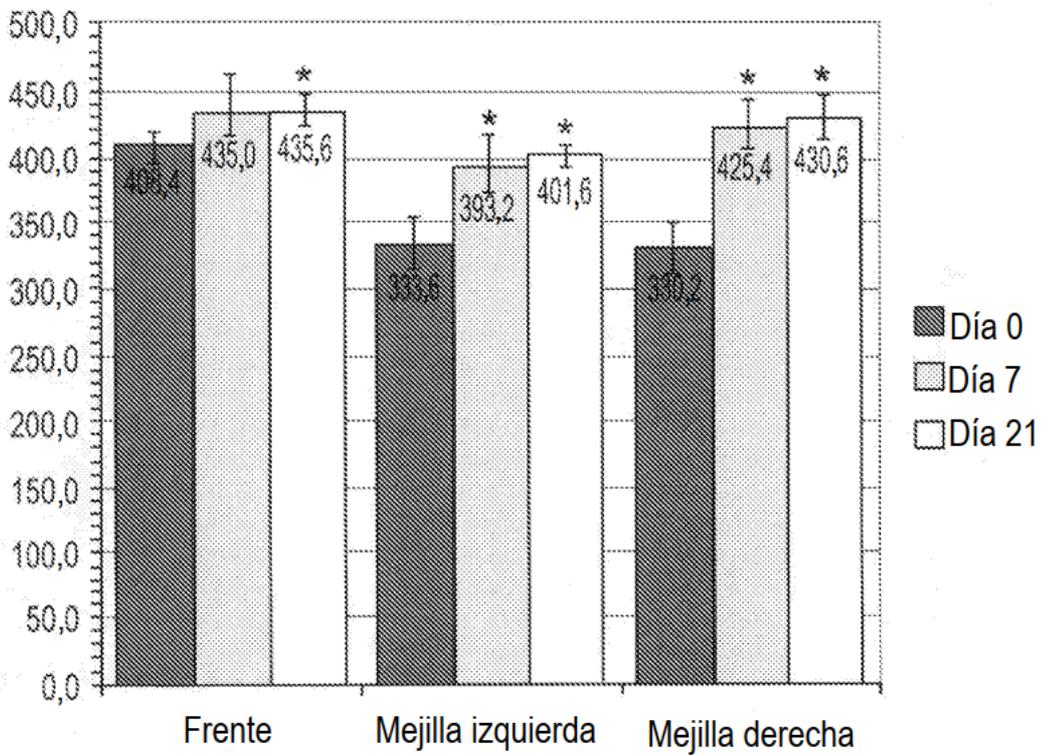


FIG. 2B

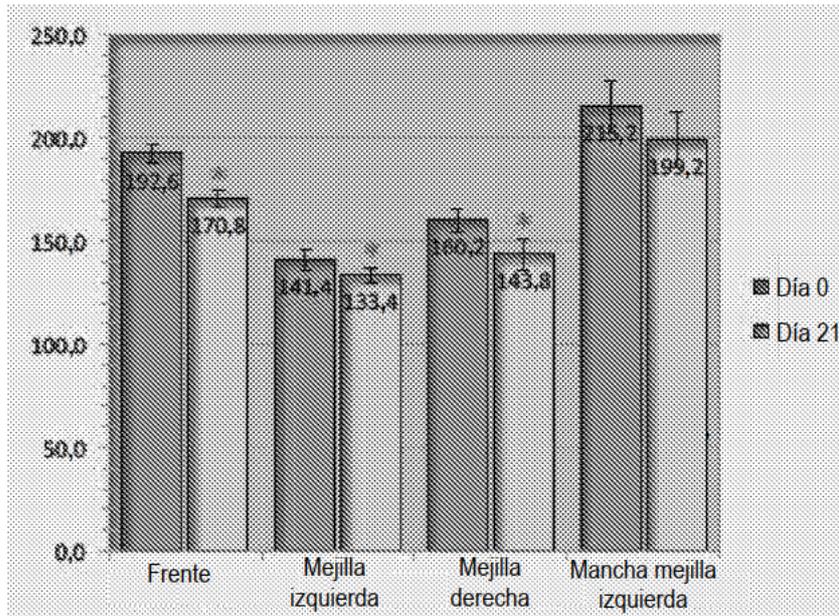


FIG. 3A

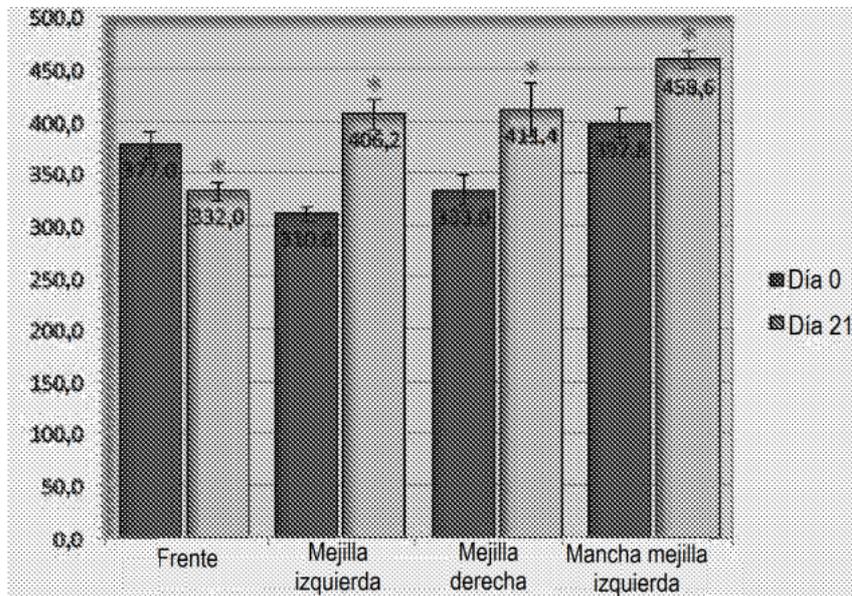


FIG. 3B

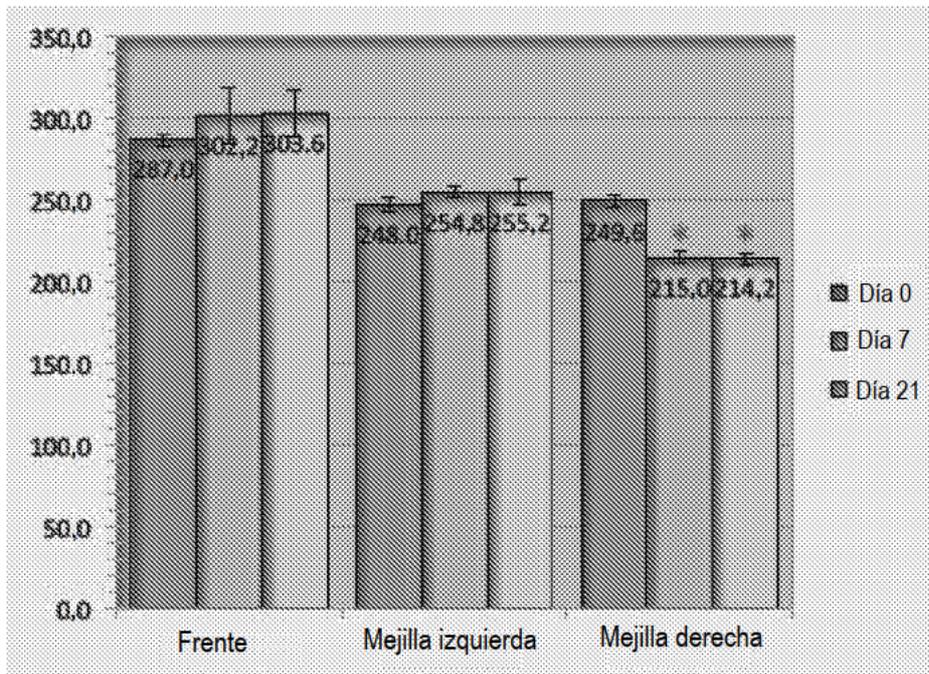


FIG. 4A

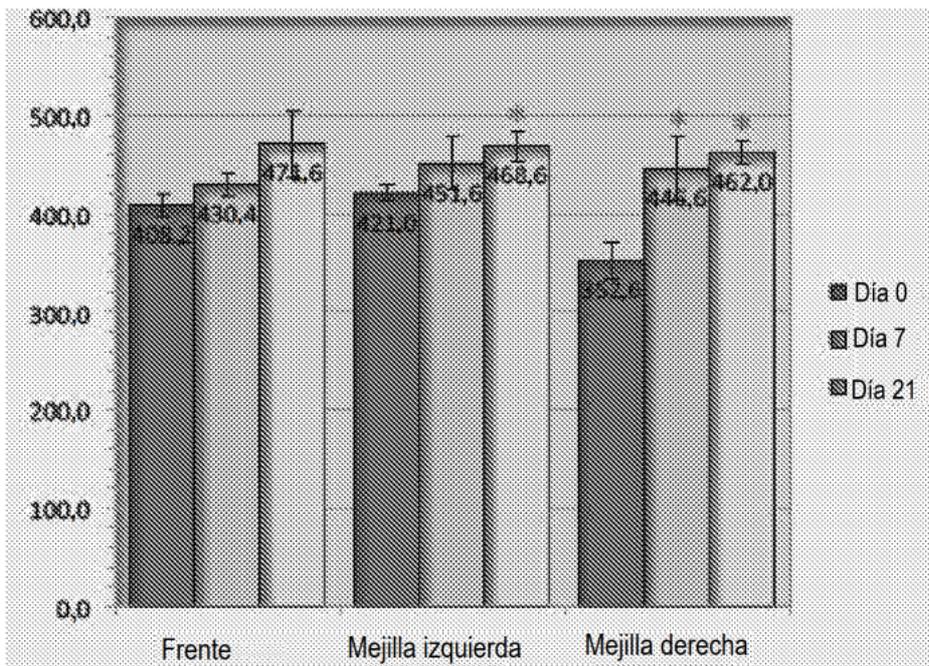


FIG. 4B

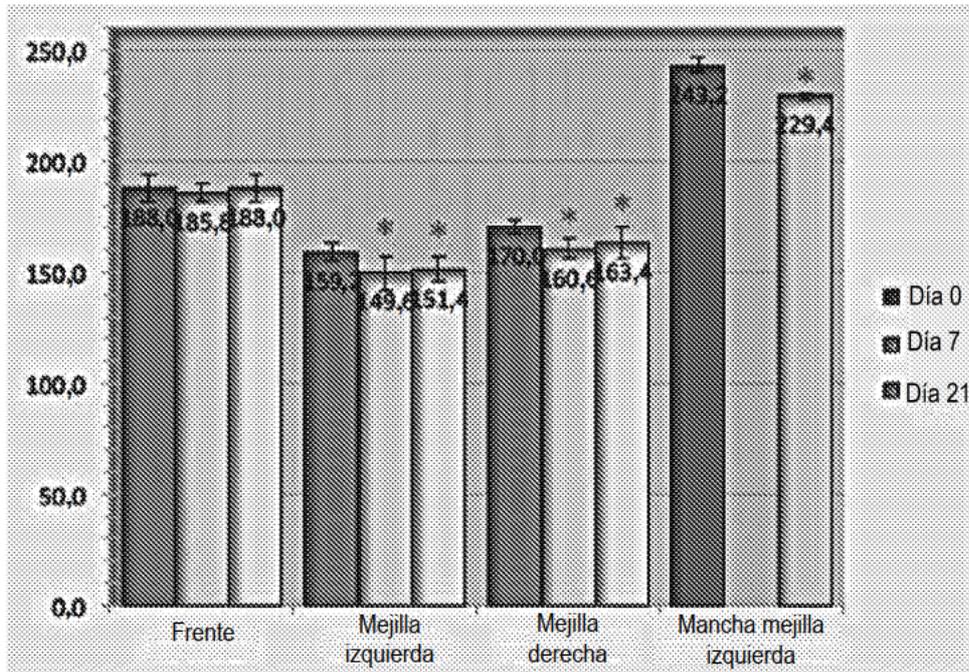


FIG. 5A

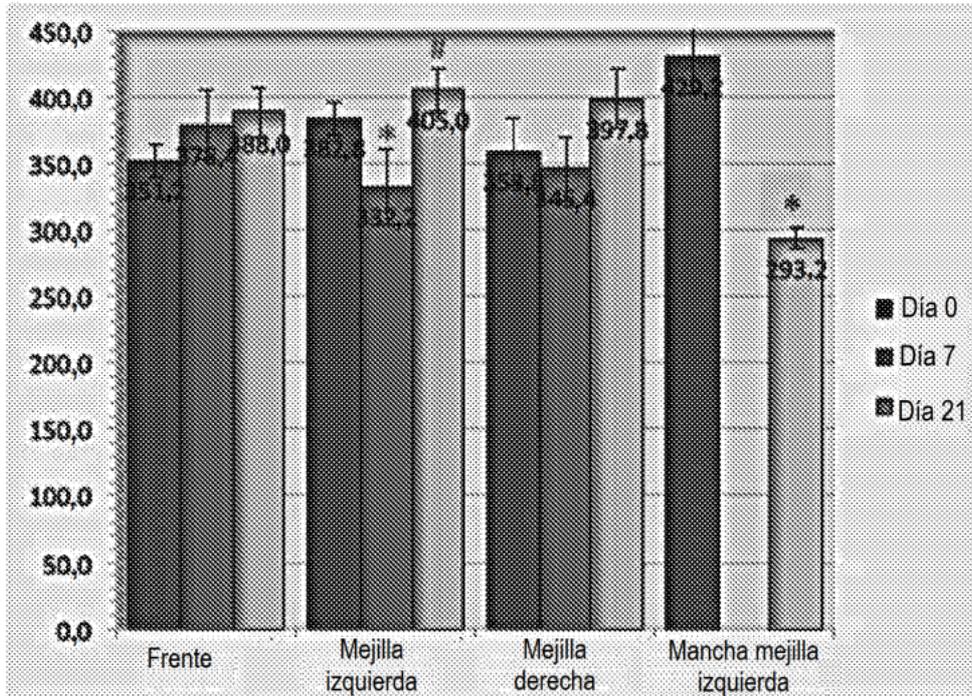


FIG. 5B

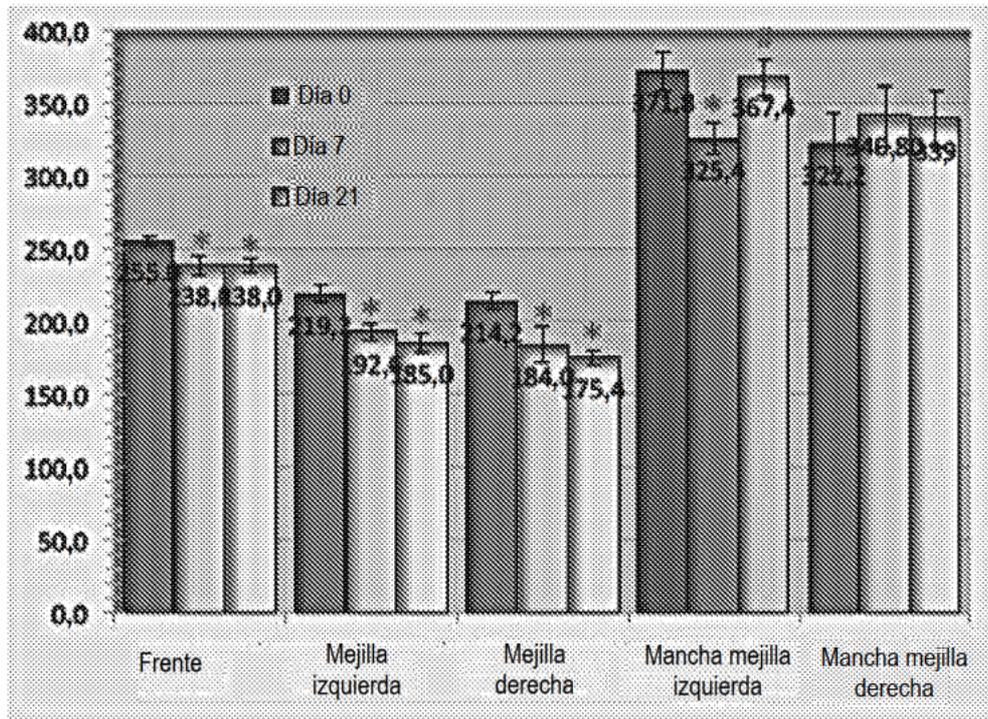


FIG. 6A

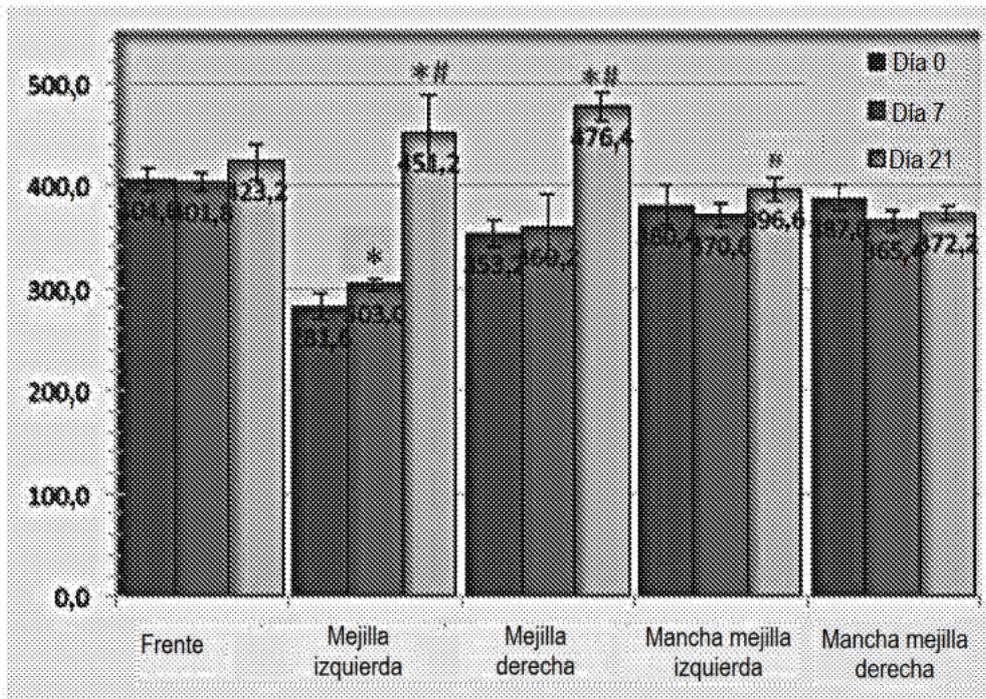


FIG. 6B

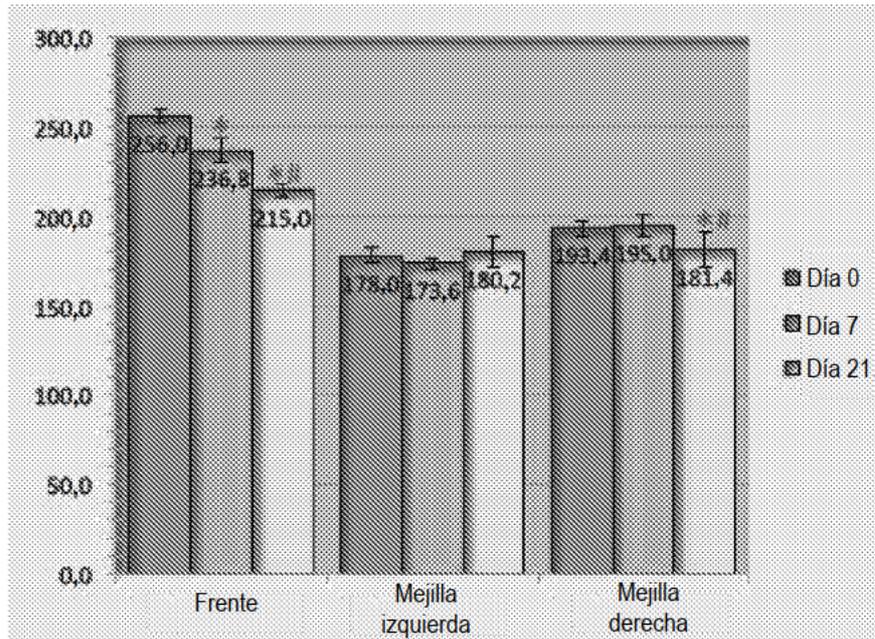


FIG. 7A

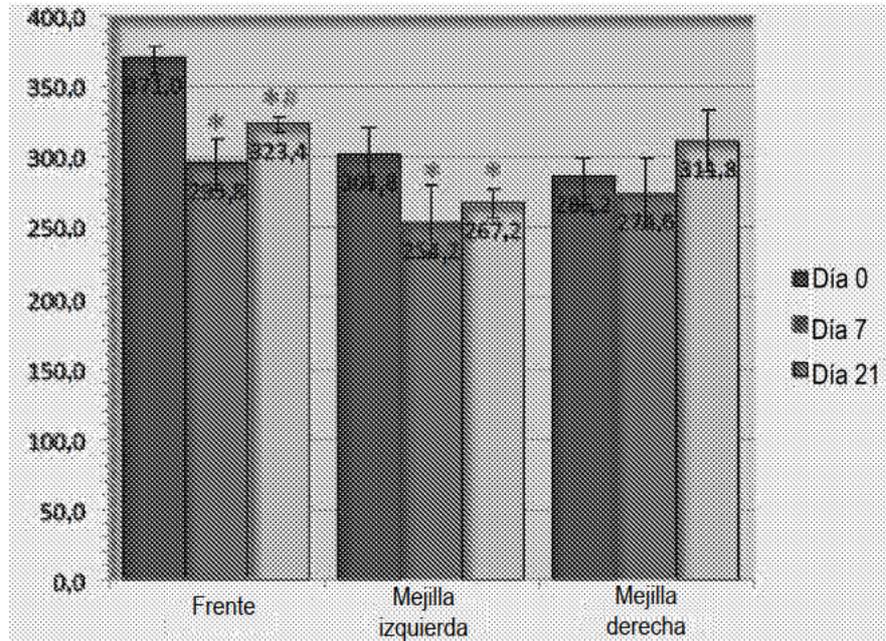


FIG. 7B

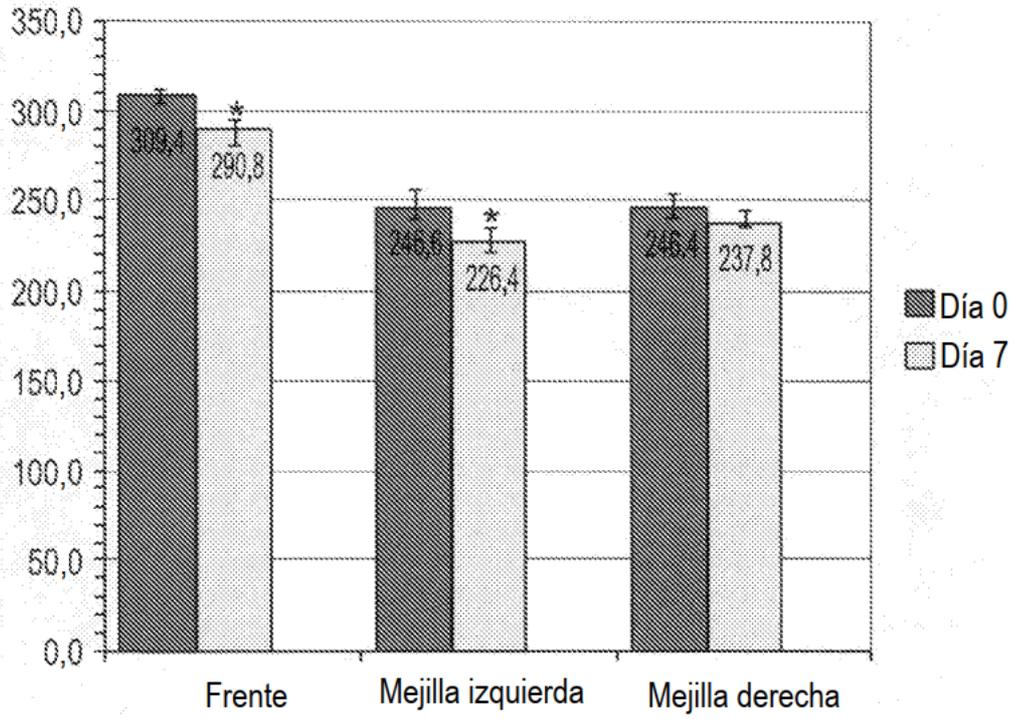


FIG. 8A

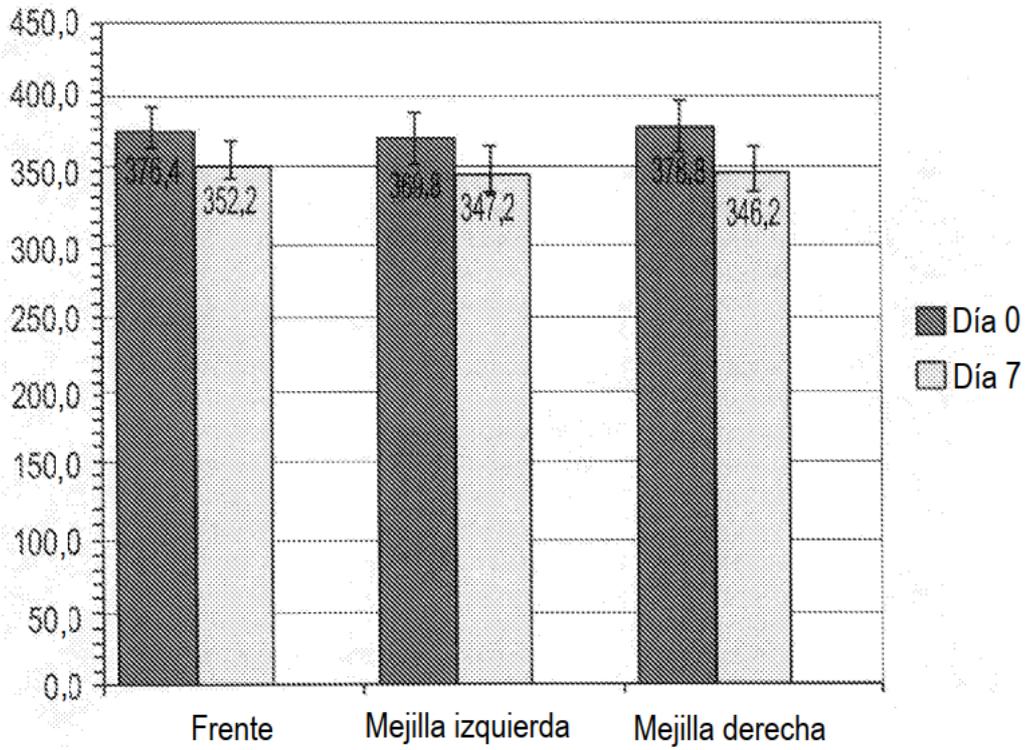


FIG. 8B

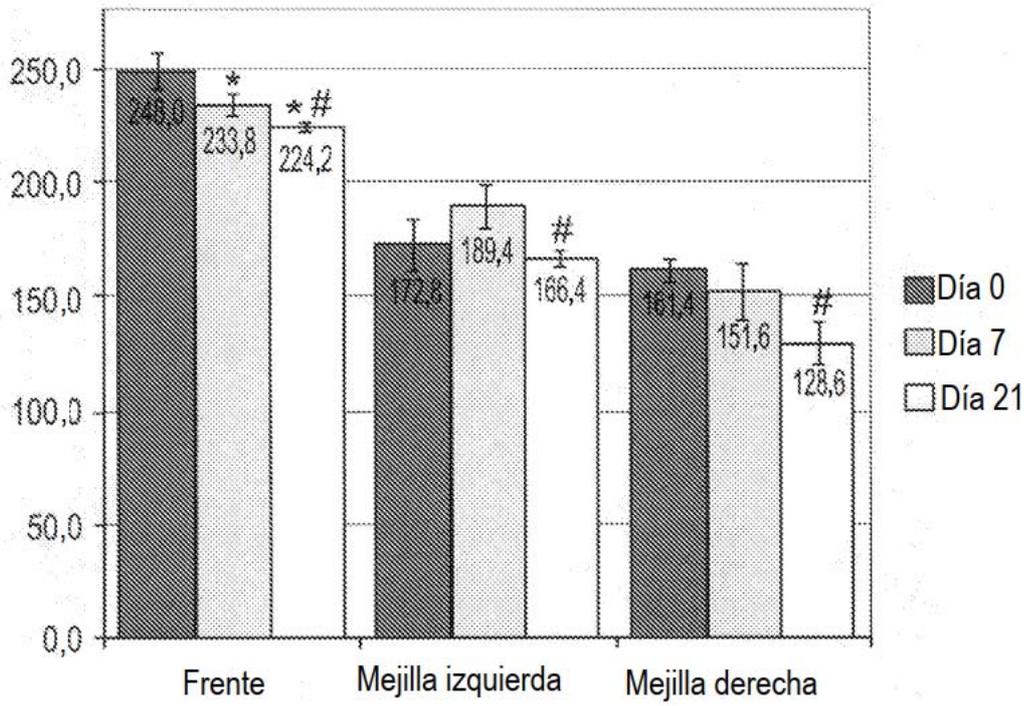


FIG. 9A

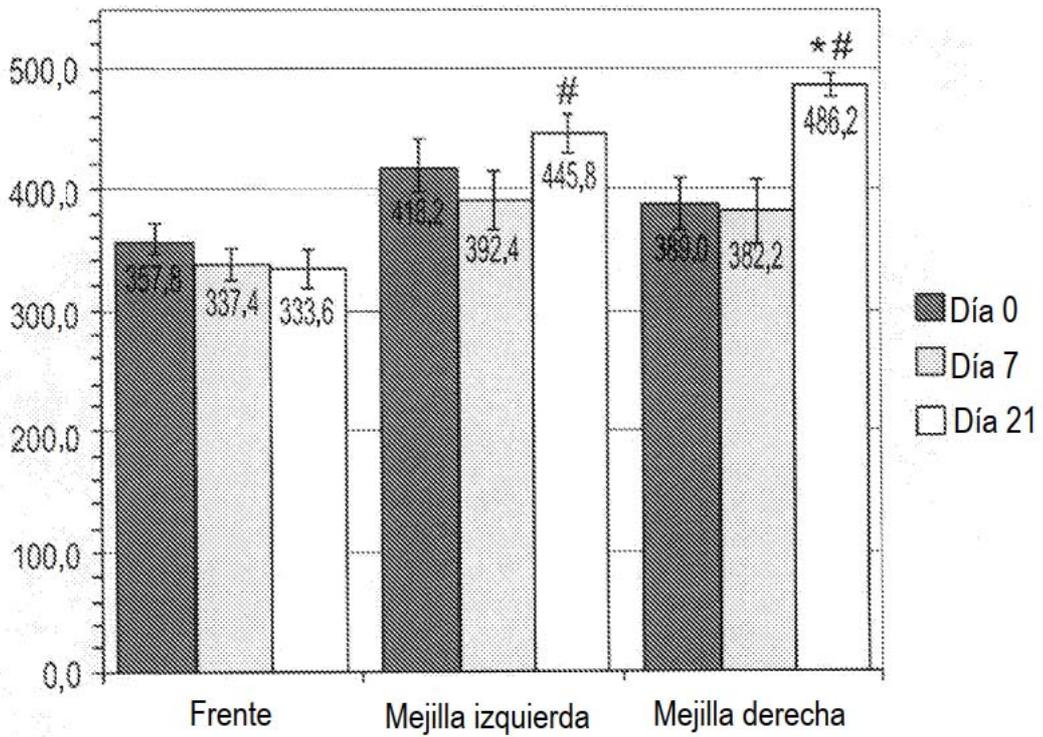


FIG. 9B

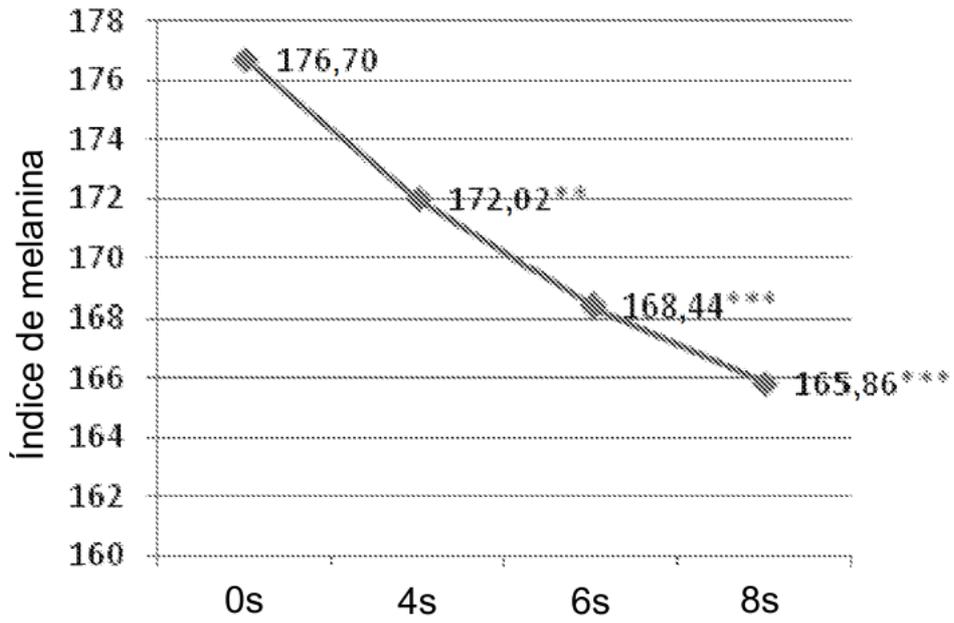


FIG. 10A

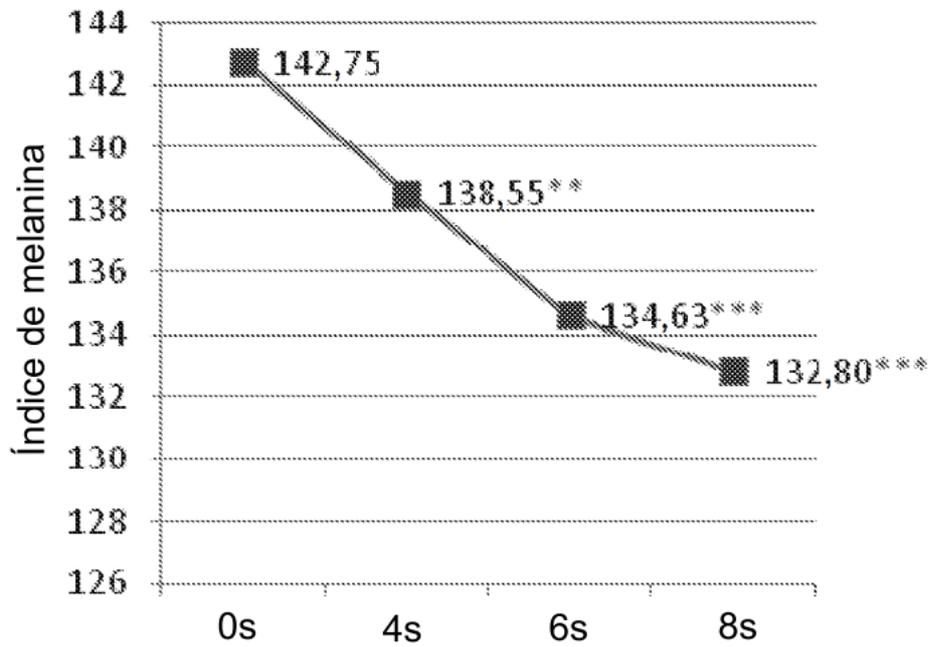


FIG. 10B

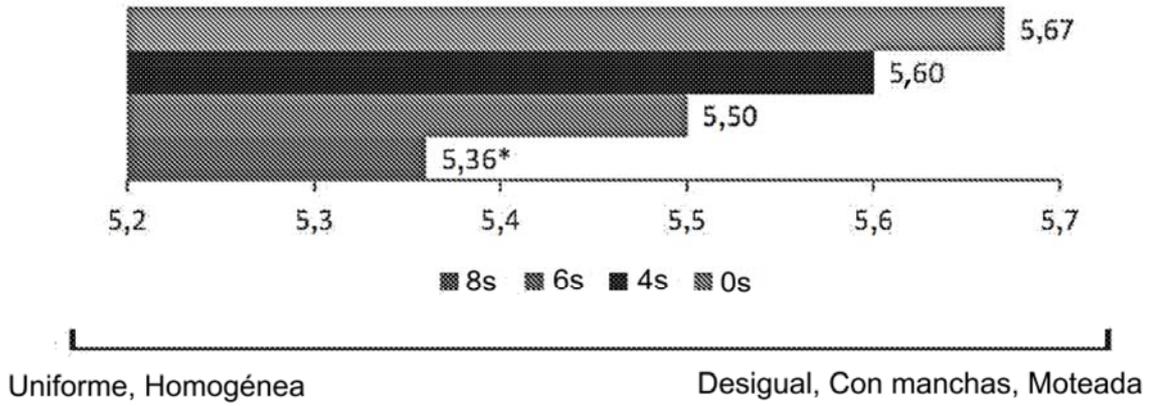


FIG. 11

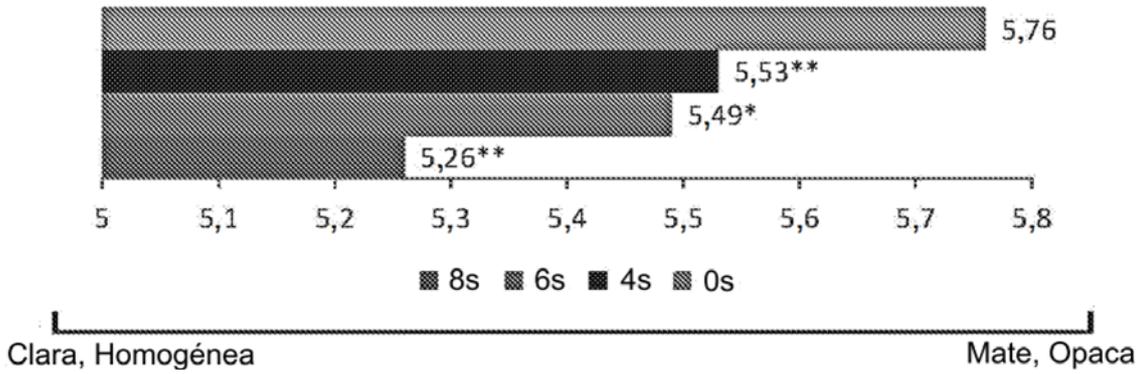


FIG. 12

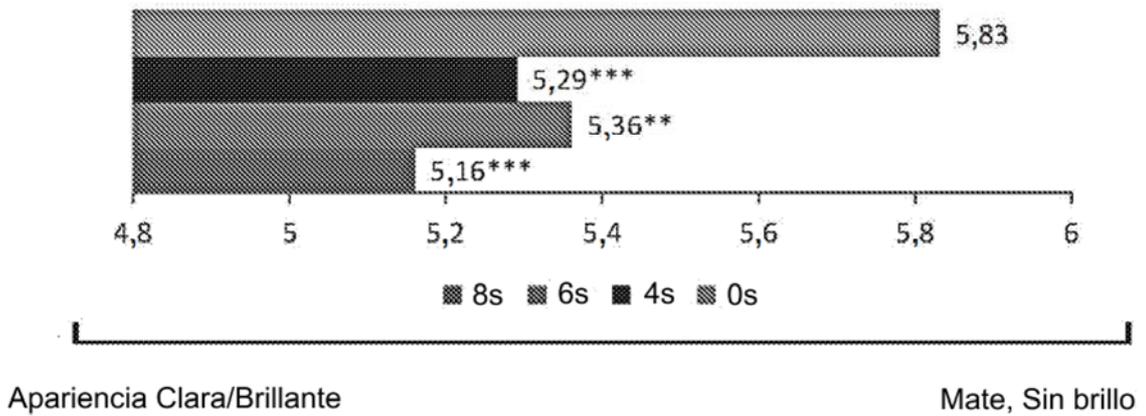


FIG. 13

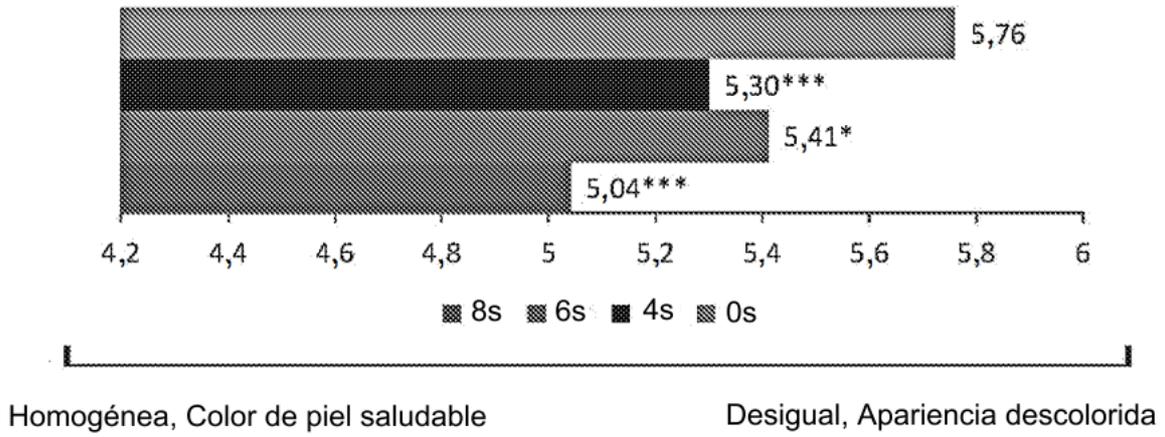


FIG. 14

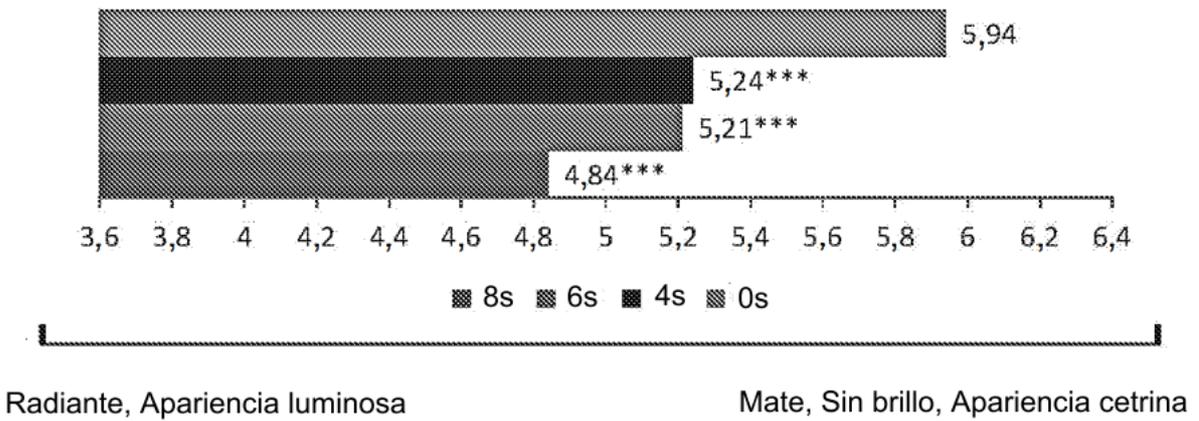


FIG. 15

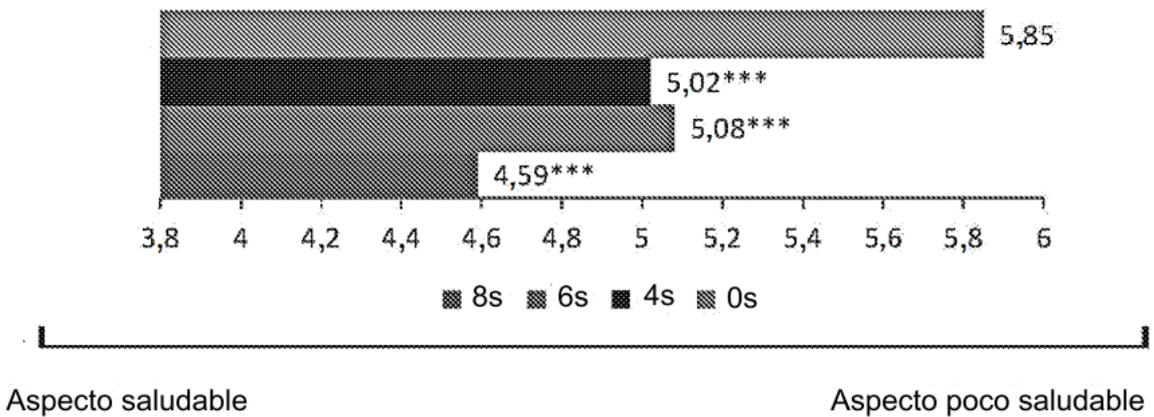


FIG. 16

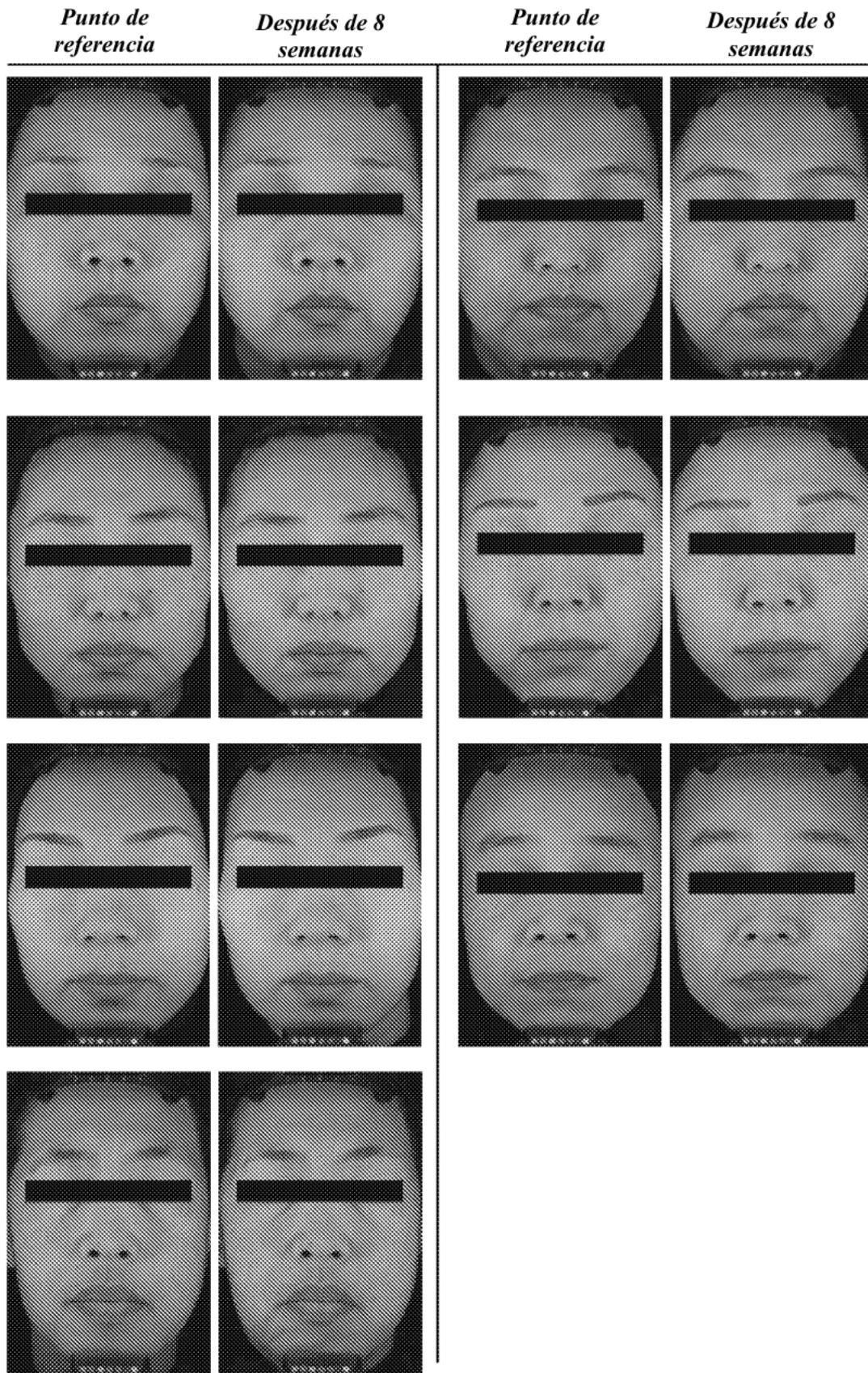


FIG. 17