

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 797 535**

51 Int. Cl.:

A61K 8/34 (2006.01)
A61K 8/60 (2006.01)
A61K 8/73 (2006.01)
A61Q 19/02 (2006.01)
A61K 31/7016 (2006.01)
A61K 8/06 (2006.01)
A61K 31/702 (2006.01)
A61K 31/733 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.03.2013 PCT/GB2013/050705**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **26.09.2013 WO13140153**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.03.2013 E 13721005 (0)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.04.2020 EP 2836190**

54 Título: **Usos cosméticos de melibiosa o sus sales**

30 Prioridad:

23.03.2012 GB 201205177

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

02.12.2020

73 Titular/es:

**CURAPEL (SCOTLAND) LIMITED (100.0%)
 Stuart House The Back
 Chepstow, Wales NP16 5HH, GB**

72 Inventor/es:

**O'NEILL, CATHERINE y
 PAUS, RALF**

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 797 535 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

Usos cosméticos de melibiosa o sus sales

Introducción

5 Los trastornos de la pigmentación de la piel tienen un impacto considerable, tanto psicológica como socialmente, para las personas que los desarrollan, incluso si el trastorno de pigmentación de la piel es producido en ausencia de otros síntomas físicos.

10 El vitiligo es una enfermedad crónica e impredecible que causa una pérdida de color de la piel en parches. El aspecto de los parches despigmentados puede ser antiestético, particularmente en pieles oscuras o bronceadas. El vitiligo puede tener un impacto considerable tanto psicológica como socialmente. Además, los parches de la piel despigmentados pueden ser confundidos con lesiones por lepra, una enfermedad temida aún prevalente en algunas partes del mundo, lo que significa que las personas afectadas puedan ser socialmente aisladas y estigmatizadas.

15 La inflamación es una característica del vitiligo y los niveles elevados de citocinas proinflamatorias están asociados con esta afección. Los niveles elevados de citocinas proinflamatorias de la piel llevan a la inflamación de la piel, que incluye parches rojos y pruriginosos que aparecen en la piel. En el vitiligo, los parches rojos y pruriginosos de la piel pueden aparecer antes de la pérdida de las células productoras de pigmento.

20 El melasma, también conocido como "cloasma" o "máscara del embarazo", es un trastorno en el que son desarrollados gradualmente parches de piel más oscuros en las mejillas, frente, nariz y labio superior. Este trastorno es más común en mujeres que en hombres y está asociado con el embarazo y la medicación que contiene hormonas. El melasma generalmente dura varios años. El melasma relacionado con el embarazo puede persistir durante varios meses después del parto y el melasma relacionado con los tratamientos hormonales puede persistir mucho después de suspender las hormonas anticonceptivas orales. El melasma es una enfermedad crónica y las recurrencias son comunes. Como resultado, el melasma puede ser psicológicamente angustiante.

Otros trastornos de la pigmentación de la piel pueden provenir de los cambios hormonales tal como el embarazo y la píldora anticonceptiva oral.

25 La hiperpigmentación posinflamatoria (que puede ser peor en la piel ya pigmentada) puede surgir como resultado de dermatosis inflamatorias tal como eccema atópico, dermatitis de contacto, psoriasis o acné.

La hiperpigmentación también puede ocurrir después de un traumatismo en la piel.

30 Para aquellos individuos que sufren trastornos de pigmentación de la piel, los productos y terapias seguros y eficaces para tratar y manejar estos trastornos serían enormemente beneficiosos. Los productos y terapias que llevan a un tono de piel más uniforme aumentarían en gran medida la calidad de vida de las personas con tales trastornos.

35 Además, existen motivos cosméticos, en ausencia de causas fisiológicas o patológicas, para que las personas requieran una piel menos pigmentada. Se puede requerir la uniformidad del tono/color de piel o reducción localizada de la pigmentación de la piel para reducir la aparición de manchas de la edad, marcas de nacimiento, daño solar y pecas, o para ayudar en el tratamiento de los trastornos de la pigmentación de la piel. Las presiones sociales pueden llevar a la necesidad de blanqueo de la piel en general o reducción de la pigmentación de la piel. Además, algunas personas de piel oscura prefieren un color de piel aclarado, ya que es considerado un signo particular de belleza o riqueza, particularmente en las culturas asiáticas. Son requeridos productos y terapias de blanqueo de la piel, reducción de la pigmentación de la piel o uniformidad del tono de la piel.

Hasta la fecha, el tratamiento para trastornos de pigmentación de la piel a menudo ha sido insatisfactorio.

40 Los tratamientos convencionales para trastornos de la pigmentación de la piel incluyen composiciones de blanqueo de la piel (que incluyen agentes químicos tal como hidroquinona), cremas para el acné (que incluyen agentes químicos tal como ácido azelaico), retinoides tópicos (por ejemplo, tretinoína) y exfoliaciones faciales en las que es usada una solución ácida para retiro de las capas externas de la piel (por ejemplo, exfoliaciones con ácido glicólico). Algunos tratamientos incorporan un enfoque combinado tal como una crema de combinación triple (hidroquinona, tretinoína y esteroides.) Un ejemplo es la crema Tri-Luma (marca registrada) que contiene acetónido de fluocinolona 0,01% (un corticosteroide fluorado sintético), hidroquinona 4% (clasificado terapéuticamente como un agente despigmentante) y tretinoína 0,5% (un retinoide).

50 Estos productos químicos agresivos en los tratamientos despigmentantes existentes pueden causar efectos secundarios negativos tal como irritación de la piel, enrojecimiento de la piel, descamación, dolor, sensación de ardor, sequedad de la piel, inflamación y prurito. También ha sido sugerido que tales productos químicos son carcinogénicos y teratogénicos.

El documento US2003/0186934 desvela el uso de inulina en una composición cosmética.

El documento JP2004-224761 desvela el uso de diversos glicósidos de naftol en composiciones cosméticas. Por lo tanto, existe la necesidad de composiciones y terapias cosméticas y farmacéuticas que sean capaces de reducir la pigmentación de la piel y/o uniformar el tono de la piel y que puedan ser usadas en el tratamiento y manejo de trastornos de la pigmentación de la piel que no requieran productos químicos agresivos y sean seguras y eficaces.

5 **Sumario de la invención**

Los presentes inventores han desarrollado composiciones cosméticas capaces de reducir la pigmentación de la piel que comprenden compuestos seguros y bien tolerados como agentes activos.

La presente invención se refiere al uso de melibiosa o una sal de la misma como agente de blanqueo de la piel que reduce el contenido de melanina en la piel de un individuo cuyo deseo es un tono de piel aclarado.

10 **Figuras**

La Figura 1 muestra la estructura de melibiosa de oligosacárido no digerible.

La Figura 2a muestra secciones de piel humana *ex vivo* que han sido teñidas para melanina usando el procedimiento de tinción inmunológica de Masson Fontana. El panel 1 es una muestra de piel de control que no ha sido tratada con un OND. El panel 2 es una muestra de piel de prueba cultivada con melibiosa 1,5%. El panel 3 es una muestra de piel de prueba cultivada con melibiosa 3%.

La Figura 2b muestra la densidad media de la tinción de melanina en la piel tratada con dos concentraciones de la melibiosa de oligosacáridos no digeribles y la piel no tratada como control.

La Figura 3 muestra la densidad media de tinción de melanina en la piel tratada con dos concentraciones del oligosacárido no digerible P95 (una mezcla 95% de oligofruktosa) y dos concentraciones de la melibiosa de oligosacárido no digerible y la piel no tratada como control.

La Figura 4a muestra que la melibiosa es capaz de reducir la expresión de referencia de interleuquina-8 (IL-8), una citocina proinflamatoria por los queratinocitos HaCaT.

La Figura 4b muestra que la producción de IL-8 en respuesta a la estimulación de queratinocitos con Interleucina-1 β también es reducida.

25 **Descripción detallada**

La presente invención proporciona composiciones cosméticas seguras y bien toleradas para reducir la pigmentación de la piel.

En la presente invención, la reducción de la pigmentación de la piel también puede ser denominada reducción de la hiperpigmentación de la piel y/o despigmentación de la piel, y/o aclaramiento de la piel y/o blanqueamiento de la piel y/o prevención y/o retraso de signos de envejecimiento y/o mejora del aspecto de la piel de una piel envejecida. Las composiciones y el uso de la presente invención también pueden estar implicados en la inhibición de la melanogénesis en la piel. También son descritos composiciones cosméticas y procedimientos para manejar y tratar los trastornos de la pigmentación de la piel y uniformidad del tono de la piel.

Los trastornos de la pigmentación de la piel y las necesidades de uniformidad del tono de la piel incluyen:

- 35 - manchas hiperpigmentadas,
- manchas de la edad,
- marcas de nacimiento,
- manchas hepáticas,
- pecas,
- 40 - deseo de reducción del color de piel, o de una piel blanqueada o aclarada,
- deseo de aumento del brillo de la piel y/o un cutis más juvenil.

Los oligosacáridos no digeribles (OND), también denominados sacáridos no digeribles (SND), son un componente de la fibra dietaria inerte de la dieta. Se hallan en las partes comestibles de plantas tal como ajo, cebollas, espárragos, alcaucil y achicoria.

45 Los OND pueden ser denominados carbohidratos que son resistentes a cualquier proceso digestivo endógeno. Más específicamente, los oligosacáridos no digeribles son carbohidratos que resisten la hidrólisis en el intestino delgado humano y pasan sin modificaciones al colon. En este caso, la degradación por enzimas bacterianas puede producir

agua y ácidos grasos de cadena corta considerados con beneficios positivos para la salud. Además, ciertos oligosacáridos no digeribles son activamente prebióticos, es decir, estimulan el crecimiento de las denominadas "bacterias amigables", por ejemplo, bacterias del ácido láctico y bifidobacterias.

5 Los oligosacáridos no digeribles son ampliamente usados en la industria alimenticia en formulaciones prebióticas para estimular el crecimiento o la actividad de bacterias en el sistema digestivo consideradas beneficiosas para la salud de un individuo. Sin embargo, aparte de los efectos sobre el crecimiento de las "bacterias amigables", se presume que los oligosacáridos no digeribles son moléculas inertes con respecto al intestino.

10 En el documento A Report of the Dietary Fiber Definition Committee to the Board of Directors of the American Association Of Cereal Chemists submitted 10 January 2001 es proporcionada la siguiente definición. "Dietary fiber is the edible parts of plants or analogous carbohydrates that are resistant to digestion and absorption in the human small intestine with complete or partial fermentation in the large intestine. Dietary fiber includes polysaccharides, oligosaccharides, lignin and associated plant substances. Dietary fibers promote beneficial physiological effects including laxation, and/or blood cholesterol attenuation, and/or blood glucose attenuation."

15 Por lo tanto, los OND pueden ser descritos como carbohidratos que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado humano. Los OND pueden ser obtenidos por extracción directa de fuentes naturales o producidos por procesos químicos que hidrolizan polisacáridos, o por síntesis enzimática y química de disacáridos.

20 El documento The Association of Official Analytical Chemists official method of analysis of total dietary fibre: AOAC Official Method 985.29. (AOAC 1990 Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, Vol II, 15th ed. Sec 985.29. The Association: Arlington VA)), cuyo procedimiento es incorporado en la presente memoria como referencia proporciona un procedimiento para probar si un sacárido es no digerible y por lo tanto, parte del componente de la fibra dietaria. Este procedimiento también puede ser denominado Procedimiento AACC 32-05, cuyo procedimiento también es incorporado por la presente como referencia. Desde 1985, el Procedimiento AOAC 985.29 ha sido adoptado globalmente como un procedimiento estándar para determinación de la fibra dietaria total en los alimentos.

25 Por lo tanto, los OND pueden ser descritos como carbohidratos que son clasificados como fibra dietaria por el Procedimiento AOAC 985.29. Los OND de uso particular son:

- a) OND ligados a α , tal como melibiosa, rafinosa y estaquiosa,
- b) OND ligados a β , tal como lactulosa y galactooligosacáridos (GOS), y
- c) otros tipos de OND, tal como fructo-oligosacáridos (FOS) e inulina.

30 En algunas realizaciones, los OND preferentes son disacáridos, trisacáridos o tetrasacáridos. La melibiosa es un disacárido prebiótico de galactosa y glucosa (D-Gal- α (1 \rightarrow 6)-D-Glc, véase la Figura 1) que puede ser producido por hidrólisis mediada por invertasa del trisacárido rafinosa.

La rafinosa es un trisacárido compuesto por galactosa, glucosa y fructosa (Gal α -(1 \rightarrow 6)-Glc α -(1 \rightarrow 2)- β Fru) hallado en verduras tal como col, frijoles, repollos de Bruselas y algunos granos enteros.

35 La estaquiosa es un tetrasacárido compuesto por galactosa, galactosa, glucosa y fructosa (Gal α -(1 \rightarrow 6)-Gal α -(\rightarrow 6)-Glc α -(1 \rightarrow 2)- β Fru).

La rafinosa y estaquiosa forman parte de un conjunto de oligosacáridos con un grado de polimerización (DP) entre dos y cuatro que comparten residuos de galactosilo ligados a α -(1 \rightarrow 6).

40 La lactulosa es un disacárido compuesto de galactosa y fructosa (Gal β -(1 \rightarrow 4)-Fru) y puede ser producida por isomerización de lactosa.

Los galactooligosacáridos (GOS), también denominados oligogalactosil lactosa, oligogalactosa, oligolactosa o transgalactooligosacáridos (TOS), son una mezcla de oligosacáridos ligados a β -1 \rightarrow 3,4 y 6 con un grado de polimerización (DP) entre dos y ocho, o más generalmente dos y cinco. Los GOS pueden ser producidos a través de la conversión enzimática de la lactosa.

45 Los fructooligosacáridos (FOS), a menudo también denominados oligofrufructosa u oligofrufructano, son fructanos de oligosacáridos, que están compuestos por fructosa y pueden ser usados como un edulcorante alternativo. Los FOS pueden ser extraídos de frutas y verduras tal como bananas, cebollas, raíz de achicoria, ajo, espárragos, cebada, trigo y puerros. Pueden ser producidas comercialmente dos clases diferentes de mezclas de FOS, sobre la base de la degradación de inulina o los procesos de transfructosilación. Como se usa en la presente divulgación, P95 es una
50 mezcla 95% de oligofrufructosa, generalmente oligofrufructosa ligada a β . P95 puede ser usado en los procedimientos de la presente invención. Además, cualquiera de P90, P91, P92, P93, P94, P96, P97, P98, P99 y P100 (que son respectivamente mezclas al 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 96%, 97%, 98%, 99% y 100% de oligofrufructosa y generalmente oligofrufructosa ligada a β) puede ser usado en la presente invención.

Las inulinas son polímeros compuestos principalmente por unidades de fructosa, y típicamente tienen una glucosa terminal. Las unidades de fructosa en las inulinas pueden estar unidas por un enlace glicosídico β (2 \rightarrow 1). En general, las inulinas vegetales contienen entre 5 y varios miles de unidades de fructosa. FOS puede ser una mezcla de productos de hidrólisis de inulina que oscilan en tamaño de dos a seis residuos.

- 5 El OND no es un OND modificado con sialilo. Por ejemplo, el OND no es un ácido siálico o un glicósido de un ácido siálico. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el OND no es una sialil melibiosa o sialil rafinosa, o sialil estaquiosa, o sialil lactulosa. En realizaciones particulares, el OND no es 3'-sialil melibiosa, o 3'-sialilrafinosa, o 3'-sialil estaquiosa, o 3'-sialil lactulosa. En ciertas realizaciones, los OND usados son solubles. Los OND preferentes de uso en la presente invención son melibiosa. Las sales de melibiosa también son usadas en la presente invención.
- 10 Como un OND, era esperado que la melibiosa fuera inerte. Sin embargo, los presentes inventores demostraron que, lejos de ser inerte, la melibiosa altera la función de los enterocitos. Los inventores se inspiraron para investigar si la melibiosa también puede afectar la biología de los queratinocitos y hallaron notablemente que la melibiosa afecta la biología de los queratinocitos y lleva a la despigmentación de la piel. La investigación adicional ha confirmado que otros OND, tal como la oligofructosa, tienen efectos similares y llevan a la despigmentación de la piel.
- 15 Debido a que los OND son una parte natural de los alimentos, son seguros para la aplicación tópica en la piel y no tienen efectos secundarios negativos asociados con otros agentes despigmentantes. "Cosmético" como se usa en la presente memoria no es terapéutico. Dichos procedimientos no implican el tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia. El tratamiento cosmético puede ser usado para reducir la pigmentación de la piel y/o mejorar el aspecto y/o textura de la piel.
- 20 También es proporcionado el uso de melibiosa en un procedimiento de tratamiento cosmético, y procedimientos de tratamiento cosmético que usan melibiosa. Por ejemplo, en un procedimiento para mejorar el aspecto de la piel y/o mejorar el aspecto de un área de piel pigmentada.

También es proporcionada una composición cosmética que comprende melibiosa. La composición puede ser usada para reducir la pigmentación de la piel y/o mejorar el aspecto de la piel.

- 25 El individuo a ser tratado puede ser cualquier animal o ser humano. El individuo puede ser un mamífero no humano, pero más preferentemente es humano. El individuo puede ser un hombre o una mujer. En algunas realizaciones, el individuo no requiere tratamiento en el sitio en el que se aplicará el tratamiento cosmético.

- 30 Los procedimientos cosméticos pueden implicar la administración de una "cantidad cosméticamente efectiva". Esto se refiere a la administración de compuestos, ingredientes, materiales, composiciones, formas de dosis, etc., en una cantidad efectiva para inducir un beneficio cosmético. Esto está dentro del ámbito del buen criterio de un profesional relevante. Un experto en la técnica apreciará que las dosis adecuadas de los compuestos activos y las composiciones que comprenden los compuestos activos pueden variar de un individuo a otro.

- 35 En la presente divulgación, las concentraciones de melibiosa o de una sal de la misma o de cualquier otro componente de las composiciones de la presente invención pueden ser expresadas como % p/v (porcentaje peso/volumen) en el que una solución con 1 g de melibiosa o una sal de la misma u otro componente en 100 ml de solución puede ser denominada 1% o 1% p/v.

- 40 Las composiciones de la presente invención pueden comprender melibiosa y los procedimientos de la presente invención pueden usar melibiosa o una sal de la misma en una cantidad de al menos 1% en peso de la composición, o en una cantidad de hasta 10% en peso de la composición, o en una cantidad de hasta 9%, hasta 8% o hasta 7% en peso de la composición.

Los ejemplos de concentraciones preferentes de melibiosa o una de sus sales usadas en la presente invención son 1,5% o 50 mM y 0,75% o 25 mM.

- 45 Una composición cosmética de uso en la presente invención puede ser para administración tópica en la piel y puede ser formulada, junto con uno o más portadores farmacéutica o cosméticamente aceptables, como una crema, emulsión, loción, gel, hidrogel, polvo, ungüento, espuma, pasta, compresa, barra, spray, aerosol, aceite de baño, solución o similar o impregnada en un parche dérmico o impregnada en un apósito o una venda. En las composiciones tópicas de la presente invención, la melibiosa o una sal de la misma puede ser formulada con agentes adecuados tal como humectantes, emolientes, agentes gelificantes y espesantes, conservantes, potenciadores de penetración y opcionalmente fragancias y otros portadores, vehículos y excipientes. Los expertos en la técnica están al tanto de la información sobre la formulación de composiciones tópicas para la piel, por ejemplo, a partir del documento Pharmaceutical Preformulation and Formulation: A Practical Guide from Candidate Drug Selection to Commercial Dosage Forml, editado por Mark Gibson, incorporado en la presente como referencia.
- 50

- 55 Una composición de uso en la presente invención puede incluir agentes dermatológicamente activos adicionales tal como protectores solares o agentes bloqueadores solares para producir un protector solar o bloqueador solar que reduzca la probabilidad de desarrollar más melanina y reduzca la pigmentación de la piel existente.

Los agentes de protección solar que pueden ser usados en las composiciones de la presente invención incluyen compuestos químicos orgánicos que absorben la luz ultravioleta (UV), partículas inorgánicas que reflejan, dispersan y absorben la luz UV (por ejemplo, dióxido de titanio y óxido de zinc) y materiales particulados orgánicos que absorben principalmente luz como compuestos químicos orgánicos, pero que contienen múltiples cromóforos, pueden reflejar y dispersar una fracción de la luz como materiales particulados inorgánicos y comportarse de manera diferente en formulaciones de compuestos químicos orgánicos (por ejemplo, Tinosorb M™ también conocido como Bisotrizol, un absorbente de UV de amplio espectro, que absorbe UVB y UVA que también refleja y dispersa los rayos UV). Los expertos en la técnica conocerán otros agentes de protección solar. Además, los expertos en la técnica conocerán las concentraciones máximas de agentes de filtro solar aprobados para uso en diferentes jurisdicciones.

Una composición de uso en la presente invención puede incluir agentes dermatológicamente activos adicionales tal como componentes hidratantes para producir un producto para el cuidado de la piel que hidrate la piel y reduzca la pigmentación de la piel.

Ejemplo 1 – la melibiosa despigmenta la piel humana cultivada ex vivo

Son obtenidas muestras de piel humana *ex vivo* de espesor completo a partir de procedimientos de cirugía plástica electiva. (La aprobación ética para este proyecto fue obtenida de parte del North West Research Ethics Committee (y tiene el número 09/H 1010/10). Los pacientes recibieron paquetes de información explicando todos los detalles del proyecto y contaban con un mínimo de 24 horas para decidir si deseaban donar sus muestras de piel. Todas las muestras de piel son derivadas de procedimientos cosméticos electivos). Las muestras de piel son mantenidas en cultivo de órganos durante 6 días. Son analizadas dos concentraciones de la melibiosa OND, 1,5 y 3,0% (p/v) para determinar su capacidad para reducir la pigmentación de la piel mediante la adición al medio que rodea las muestras de piel cultivadas en el día 1 y cada vez que es cambiado el medio a partir de este momento. Como control, algunas muestras de piel son cultivadas en condiciones idénticas más allá de la presencia de melibiosa.

En el día 6, las muestras de piel son sumergidas en medio de crio-incrustación y son cortadas y teñidas secciones de 5 µm usando el ensayo Masson Fontana. El principio del ensayo de Masson Fontana es que los gránulos de melanina reducen la plata de la solución de nitrato de plata amoniacal a un estado metálico visible. Puede ser hallada información sobre el protocolo para el Ensayo de Masson Fontana en los manuales de laboratorio pertinentes, por ejemplo, Lille RD, 1965, Histopathologic Technique and Practical Histochemistry, 3rd Ed 1965, The Blakiston Division, McGraw Hill Book Company, p240, que es incorporado en la presente memoria por referencia.

Después de la fijación de las crio-secciones de la piel con etanol/ácido acético, los portaobjetos son calentados en una solución de nitrato de plata amoniacal 0,5% usando un microondas. Después, las secciones son tonalizadas en cloruro de oro 1%, fijadas en tiosulfato de sodio 5% y teñidas con coloración de contraste con hematoxilina antes de su montaje usando DPEX. La tinción de melanina después puede ser visualizada usando microscopía óptica.

El análisis de las secciones mostró una reducción significativa de la melanina en muestras tratadas con melibiosa en comparación con muestras de control no tratadas, como es mostrado en la Figura 2a. La Figura 2b muestra la densidad media de la tinción de melanina para las muestras de piel cultivadas en ausencia de un OND y cultivadas con melibiosa 25 mM o 50 mM. Este análisis de imagen demuestra una reducción en la tinción de melanina de aproximadamente 10% en la piel tratada versus control.

Ejemplo 2 – la melibiosa y P95 despigmentan la piel humana cultivada ex vivo

Son obtenidas muestras de piel humana *ex vivo* de espesor completo como es descrito en el Ejemplo 1 y son mantenidas en cultivo de órganos durante 6 días. Son probadas dos concentraciones de OND melibiosa, 25 mM y 50 mM, y dos concentraciones de OND P95 (una mezcla de oligofruktosa 95%, también conocida como fructooligosacáridos (FOS)), 25 mM y 50 mM, por su capacidad para reducir la pigmentación de la piel mediante la adición al medio que rodea las muestras de piel cultivada en el día 1 y cada vez que es cambiado el medio a partir de ese momento. Como control, algunas muestras de piel son cultivadas en condiciones idénticas pero en ausencia de OND.

En el día 6, las muestras de piel son sumergidas en medio de crio-incrustación y son cortadas y teñidas secciones de 5 µm usando el ensayo de Masson Fontana como es expuesto en el Ejemplo 1.

La Figura 3 muestra la densidad media de la tinción de melanina para las muestras de piel cultivadas en ausencia de un OND, cultivadas con P95 25 mM o 50 mM y cultivadas con melibiosa 25 mM o 50 mM. Este análisis de imagen demuestra una reducción en la tinción de melanina en la piel tratada con P95 o melibiosa frente al control como se muestra en la figura 3. Los resultados de los ejemplos 1 y 2 muestran que la aplicación de OND, tal como melibiosa y oligofruktosa, a la piel tiene la capacidad de reducir la pigmentación de la piel. Por lo tanto, los OND proporcionan un valioso efecto terapéutico en trastornos de pigmentación de la piel tal como vitiligo, melasma e hiperpigmentación y son útiles cuando es requerido un blanqueamiento cosmético de la piel.

55

Ejemplo 3 - composiciones cosméticas de uso en la reducción de la pigmentación de la piel o uniformidad del tono de la piel

Las siguientes tablas proporcionan ejemplos de composiciones cosméticas para aplicación tópica sobre la piel en un procedimiento de reducción de la pigmentación de la piel o uniformidad del tono de la piel.

5

Tabla 1

Ingrediente	% (p/v)
Melibiosa	3,0
Ungüento emulsionante BP	30,0
Miristato de isopropilo	5,0
Hidroxiethylcelulosa	0,2
Glicerol	1,0
Fenoxi etanol	1,0
Agua purificada	59,8

Tabla 2 (la formulación no es parte de la invención reivindicada)

Ingrediente	% (p/v)
FOS	3,0
Ungüento emulsionante BP	30,0
Miristato de isopropilo	5,0
Hidroxiethylcelulosa	0,2
Glicerol	1,0
Fenoxi etanol	1,0
Agua purificada	59,8

10

La siguiente tabla proporciona un protector solar para aplicación tópica en la piel en un procedimiento de reducción de la pigmentación de la piel o uniformidad del tono de la piel.

Tabla 3

Ingrediente	% (p/v)
Melibiosa	3,0
Ungüento emulsionante	20,0
Miristato de isopropilo	5,0
Hidroxiethylcelulosa	0,2
Glicerol	1,0
Fenoxi etanol	1,0
Tinosorb M TM	10,0
Agua purificada	59,8

Ejemplo 4: composiciones farmacéuticas de tratamiento o manejo de un trastorno de pigmentación de la piel

Las siguientes tablas proporcionan ejemplos de composiciones farmacéuticas para aplicación tópica en la piel de uso en un procedimiento de tratamiento o manejo de un trastorno de pigmentación de la piel.

5

Tabla 4

Ingrediente	% (p/v)
Melibiosa	3,0
Ungüento emulsionante BP (parafina blanda blanca, parafina líquida, mezcla de cera emulsionante)	30,0
Miristato de isopropilo	5,0
Glicerol	1,0
Fenoxi etanol	1,0
Agua purificada	59,8
Hidroxietilcelulosa	0,2

Tabla 5

Ingrediente	% (p/v)
Melibiosa	5,0
Ungüento emulsionante BP (parafina blanda blanca, parafina líquida, mezcla de cera emulsionante)	30,0
Miristato de isopropilo	5,0
Glicerol	1,0
Fenoxi etanol	1,0
Agua purificada	61,8
Hidroxietilcelulosa	0,2

Tabla 6 (la formulación no es parte de la invención reivindicada)

Ingrediente	% (p/v)
FOS	3,0
Ungüento emulsionante BP (parafina blanda blanca, parafina líquida, mezcla de cera emulsionante)	30,0
Miristato de isopropilo	5,0
Glicerol	1,0
Fenoxi etanol	1,0
Agua purificada	59,8
Hidroxietilcelulosa	0,2

10

Tabla 7 (la formulación no es parte de la invención reivindicada)

Ingrediente	% (p/v)
FOS	5,0
Ungüento emulsionante BP (parafina blanda blanca, parafina líquida, mezcla de cera emulsionante)	30,0
Miristato de isopropilo	5,0
Glicerol	1,0
Fenoxi etanol	1,0
Agua purificada	61,8
Hidroxietilcelulosa	0,2

Ejemplo 5 – la melibiosa suprime la producción de citocinas inflamatorias por los queratinocitos (este ejemplo no es parte de la invención reivindicada)

5 En este experimento son usados anticuerpos producidos contra la interleuquina-8 (IL-8), una citocina proinflamatoria, para detectar los niveles de IL-8 en el sobrenadante de cultivo derivado de queratinocitos para demostrar que la melibiosa OND es capaz de reducir la expresión de referencia de IL-8 por los queratinocitos HaCaT y que también es reducida la producción de IL-8 en respuesta a la estimulación de los queratinocitos con interleucina-1 β .

10 Después de un revestimiento durante la noche de una placa de 96 pocillos de fondo plano con un anticuerpo anti-IL-8, es generada una curva estándar de IL-8 de 9 puntos usando diluciones en serie de una solución estándar de IL-8 de 2000 pg/ml. Estos son cultivados en la placa de 96 pocillos durante 2 h junto con sobrenadantes de cultivo derivados de queratinocitos expuestos a azúcares. Después, la placa es lavada e incubada durante 2 horas con un anticuerpo anti-biotina IL-8 antes de que la placa sea lavada nuevamente y dejada durante 20 minutos con una solución de estreptavidina-HRP. Después de un lavado final, la placa es revestida con una solución de tetrametilbencidina, es formado un producto de reacción azul, cuya intensidad está relacionada con la cantidad de IL-8 presente en el sobrenadante de cultivo original. Esta reacción es detenida usando ácido sulfúrico, lo que hace que la solución se torne en amarilla, que después es leída en un lector de microplacas a 450 nm. Las concentraciones de muestra desconocidas de IL-8 son determinadas usando la curva estándar.

20 Como es mostrado en la Figura 4a, la melibiosa suprime la producción de IL-8 en queratinocitos HaCaT. La melibiosa muestra una leve supresión que responde a la dosis de la secreción de IL-8 constitutiva. Además, como es mostrado en la Figura 4b, la secreción de IL-8 en respuesta a la estimulación de IL-1 β de los queratinocitos (IL-1 β) es reducida a niveles casi de control en células tratadas con melibiosa 5% (Il-1 b + M). Los efectos de un segundo SND, P95, son mostrados para comparación (Il-1 b + P).

25 Por lo tanto, los OND, por ejemplo, melibiosa y P95 pueden ser usados para suprimir o reducir la expresión de citocinas proinflamatorias. Las composiciones que comprenden un OND pueden ser usadas para prevenir, tratar o mejorar la condición de la piel inflamada y/o la piel que tiene parches rojos y pruriginosos. Las composiciones que comprenden OND pueden ser usadas en el tratamiento o prevención o manejo de la inflamación de la piel asociada con trastornos de pigmentación de la piel. En ciertas realizaciones, los OND son usados para tratar, manejar o prevenir la inflamación asociada con el vitiligo. En otras realizaciones, las composiciones que comprenden OND pueden ser usadas en el
30 tratamiento, prevención o manejo de los trastornos de la piel asociados con inflamación tal como dermatitis, eccema, dermatitis atópica, dermatitis de contacto, psoriasis, acné, rosácea y urticaria.

Ejemplo 6 - formulación

La siguiente tabla indica la formulación de una composición de acuerdo con la presente invención.

Ingredientes (% peso)	Forma física	Gel 10%
Agua	Líquido	75,5
Melibiosa	Sólido	10
Glicerina	Líquido	7
Alcohol desnaturalizado (alcohol etílico)	Líquido	5
Goma de xantano	Sólido	1,5
Conservante (por ejemplo, Conservante ECO)	Líquido	1
Solución de ácido cítrico	Líquido	c.s.
TOTAL		100

- 5 La composición es preparada por debajo de la temperatura ambiente a aproximadamente 15-20 ° C. La melibiosa es añadida al agua y agitada lentamente para disolución durante 5 minutos. Son añadidos glicerina y alcohol desnaturalizado (IMS), y son agitados lentamente para disolución durante 5 minutos. La goma de xantano es añadida lentamente con agitación lenta durante 30 minutos. Luego, la composición es agitada durante aproximadamente 1 hora hasta que sea homogénea. Después, es añadido el conservante y es agitado lentamente durante 5 minutos. La solución de ácido cítrico es añadida en cantidad suficiente para llevar el pH a 4,5-5,5, y la composición es agitada
- 10 lentamente durante 30 minutos.

REIVINDICACIONES

1. Uso de melibiosa o una sal de la misma como un agente cosmético de blanqueo de la piel que reduce el contenido de melanina en la piel de un individuo deseoso de un tono de piel aclarado.
- 5 2. El uso de la reivindicación 1, en el que la melibiosa o una sal de la misma está presente en una composición cosmética que comprende un portador, vehículo o excipiente cosméticamente aceptable.
3. El uso de la reivindicación 2, en el que la melibiosa o una sal de la misma está presente en una composición en una cantidad de al menos 1,0% en peso de la composición.
4. El uso de la reivindicación 2 o 3, siendo la composición formulada para aplicación tópica.
- 10 5. El uso de la reivindicación 4, siendo la composición formulada para una composición tópica como una crema, emulsión, loción, gel, hidrogel, pasta, polvo, ungüento, espuma, jabón, barra, spray, aerosol, aceite o solución de baño.
6. El uso de cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, estando la composición libre de otros agentes de blanqueo de la piel.

Figura 1

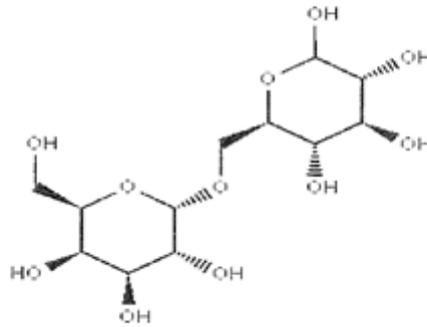
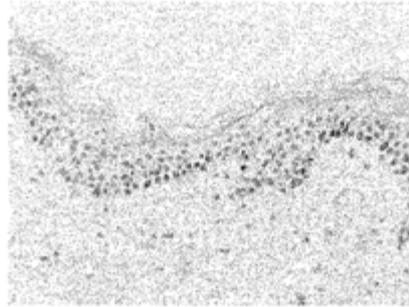
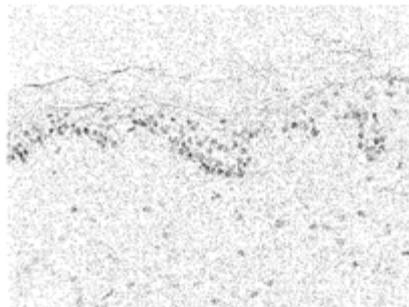


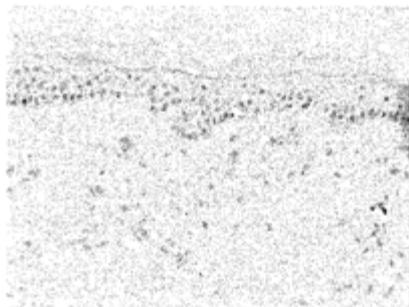
Figura 2a



1



2



3

Figura 2b

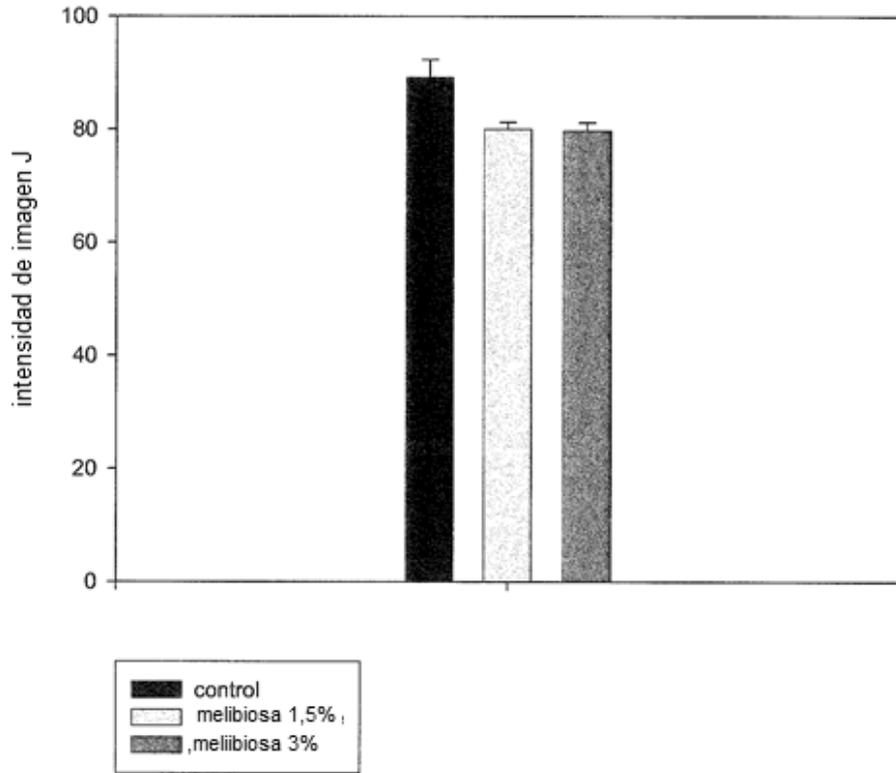


Figura 3

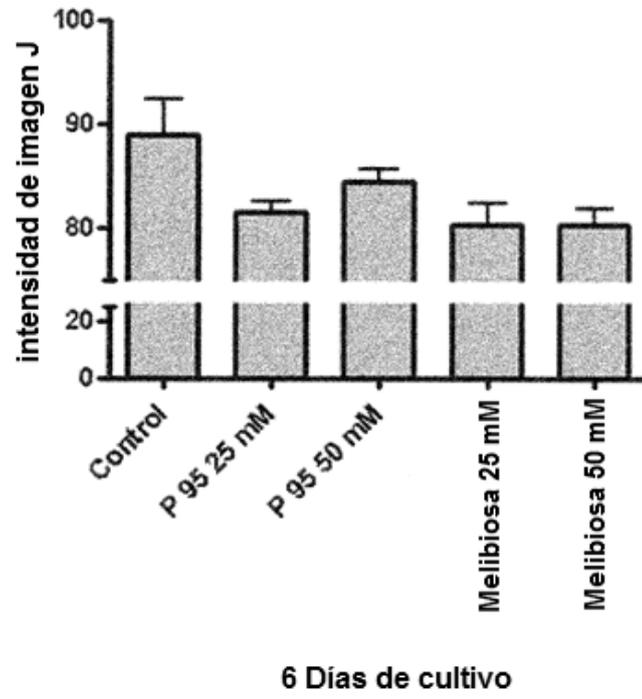


Figura 4a

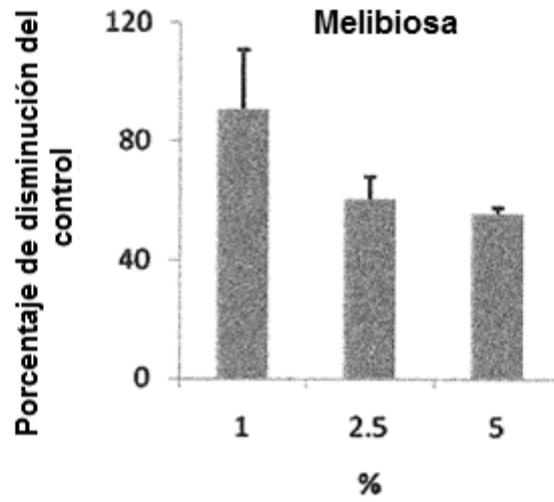


Figura 4b

