



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 359 718**

51 Int. Cl.:

**A61K 8/73** (2006.01)

**A61Q 19/08** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04742453 .6**

96 Fecha de presentación : **07.04.2004**

97 Número de publicación de la solicitud: **1613291**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **11.01.2006**

54

Título: **Composición no terapéutica de dos polisacáridos a base de fucosa y de ramnosa.**

30

Prioridad: **08.04.2003 FR 03 04336**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**26.05.2011**

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**26.05.2011**

73

Titular/es: **INDUSTRIA E COMERCIO DE  
COSMÉTICOS NATURA Ltda.  
Rodovia Anhanguera s/n - Km. 30,5  
CEP-0007750-000 Cajamar, SP, BR**

72

Inventor/es: **Gesztesi, Jean-Luc;  
Villa, Nova, Silva, Luciana;  
Robert, Ladislav y  
Robert, Alexandre, Michel**

74

Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 359 718 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Composición no terapéutica de dos polisacáridos a base de fucosa y de ramnosa.

La presente invención se refiere a una nueva composición cosmética de dos polisacáridos a base de fucosa y de ramnosa y su utilización principalmente en productos para aplicación tópica, para los cuales se busca una actividad sobre el tejido cutáneo epitelial y conjuntivo, en particular productos cosméticos con efecto anti-envejecimiento.

En el curso del envejecimiento la piel adelgaza aproximadamente 7% por término medio cada diez años (*Skin thickness changes in normal aging skin*, Branchet et al., *Gerontology*, 1990, 36: 28-35). Este adelgazamiento cutáneo afecta a la epidermis y a la dermis. Esta pérdida de tejido representa una pérdida aproximadamente equivalente de células, queratinocitos de la epidermis y fibroblastos de la dermis. Se sabe que los queratinocitos presentes en la epidermis, así como los fibroblastos presentes en la dermis elaboran enzimas proteolíticas que contribuyen a un importante adelgazamiento cutáneo (Dr. L. ROBERT: *Le vieillissement*, CNRS, Belin, 1994; Dr. L. ROBERT: *Le vieillissement, faits et théories*, Dominos, Flammarion, 1995).

Sin embargo, diferentes macromoléculas de la matriz extracelular (abreviadamente en lo sucesivo ECM por la expresión inglesa *ExtraCellular Matrix*) se comportan de diferente. Se ha demostrado que la pérdida de fibras de colágeno es menos rápida que la pérdida de tejido de toda la piel. A la inversa, se ha demostrado que la biosíntesis de fibronectina aumenta en la piel con la edad y en los fibroblastos en cultivo en función del número de pases. Las fibras elásticas de la dermis papilar, que forman una red vertical, se degradan progresivamente. Con la edad predominan en la dermis una mayoría de las redes de fibras elásticas horizontales. Se ha demostrado que con la edad aumenta la densidad de superficie de fibras elásticas, cuantificada por análisis de imagen. Este aumento neto con la edad de la densidad de superficie de la elastina va, sin embargo, acompañado de una disminución progresiva de la elasticidad de la piel. Estos datos muestran la complejidad de las modificaciones dependientes de la edad, del tejido de la piel y de su composición macromolecular.

Uno de los parámetros mencionados anteriormente es el espesor de la piel que disminuye con la edad. Las dos capas, dermis y epidermis, son afectadas por esta evolución.

En los últimos años, numerosos investigadores han intentado obtener compuestos activos contra ciertos efectos del envejecimiento cutáneo. Un primer objetivo ha sido obtener un engrosamiento de la piel. Otro objetivo fue ralentizar este proceso de adelgazamiento cutáneo y restaurar el espesor normal de la dermis.

Los sacáridos y los polisacáridos son sustancias bien conocidas en cosmética, principalmente por sus propiedades hidratantes.

Los oligosacáridos y polisacáridos ricos en ramnosa (abreviadamente en lo sucesivo OPRR) se utilizan en solución acuosa al 2,5% (p/p) de polisacáridos de alto peso molecular compuestos de 50% de ramnosa. Los OPRR actúan sobre la adherencia a los queratinocitos al nivel de las lectinas con ramnosa y sobre la inhibición de la adherencia de los polinucleares a los queratinocitos. Los OPRR permiten pues modular la propagación de los mensajes celulares y atenuar en consecuencia las reacciones irritantes consecutivas (efecto anti-inflamatorio).

Los oligosacáridos y polisacáridos ricos en fucosa (abreviadamente en lo sucesivo OPRF) son oligosacáridos y polisacáridos compuestos de polímeros de un trisacárido que contiene galactosa, ácido acetil-galacturónico y fucosa, que actúa sobre los fibroblastos de la dermis estimulando su proliferación, protegiéndolos contra la citotoxicidad inducida por los radicales libre emitidos por el ascorbato en presencia de hierro y de EDTA (Solicitudes de patentes francesas FR 2813885 y FR 2813789).

El documento DE-19704693 describe una composición cosmética para el cuidado de la piel (aumenta la vitalidad de la piel) que contiene una mezcla de un polisacárido con una unidad de fucosa, como por ejemplo el Fucogel 1000, y ramnosa o su polisacárido natural: *Gummi arabicum*. En el polisacárido de la goma arábica hay solamente 13% de ramnosa (1/8 partes) (véase la tabla 1 y página 2, líneas 24-27).

El documento FR-2652742 describe una composición analérgica cosmética para tratar o mejorar las propiedades elásticas de la piel y acelerar la regeneración de la epidermis. Las composiciones contienen monosacáridos como fucosa, galactosa y ramnosa. Dichos monosacáridos pueden estar integrados en una estructura de polisacárido, sin precisar los porcentajes de cada uno de los monosacáridos (véase página 2, líneas 10-19 y reivindicaciones).

Se ha comprobado ahora de manera sorprendente e inesperada que una nueva mezcla de compuesto ramnósico y de compuesto fucósico presenta actividades significativas sobre diferentes componentes de la piel, que se traducen en un resultado verdadero anti-envejecimiento netamente visible. Este efecto anti-envejecimiento de la composición se debe a las propiedades complementarias de los OPRR que actúan sobre los queratinocitos en la superficie de la piel y de los OPRF que actúan sobre los fibroblastos de la dermis, principalmente por inhibición de la degradación por los radicales libres del ácido hialurónico que asegura en la dermis una función fundamental de relleno y de cohesión de la piel. El efecto anti-envejecimiento de la composición se traduce igualmente en el aumento del espesor de la dermis y de la epidermis.

## Descripción

5 Por tanto la presente invención tiene por objeto la utilización no terapéutica de una composición destinada a una acción anti-envejecimiento de la piel, caracterizada porque comprende al menos un compuesto ramnósico OPRR, un compuesto fucósico OPRF y un excipiente cosméticamente aceptable, siendo el compuesto ramnósico OPRR un oligosacárido o polisacárido compuesto de 50% de ramnosa y siendo el compuesto fucósico OPRF un oligosacárido o un polisacárido compuesto de polímeros de un trisacárido que contiene galactosa, ácido acetil-galacturónico y fucosa.

10 La composición cosmética según la presente invención puede presentar porcentajes variables de compuesto fucósico OPRF y de compuesto ramnósico OPRR, en general con una mayoría de compuesto fucósico OPRF, pudiendo llegar hasta una composición de partes iguales de compuesto fucósico OPRF y de compuesto ramnósico OPRR. Preferentemente, la mezcla de polisacáridos según la invención comprende 1/10 de compuesto ramnósico y 9/10 de compuesto fucósico.

Más particularmente, la mezcla de polisacáridos según la invención comprende 1/5 de compuesto ramnósico y 4/5 de compuesto fucósico.

15 Más particularmente, la mezcla de polisacáridos según la invención comprende 1/3 de compuesto ramnósico y 2/3 de compuesto fucósico.

Incluso más particularmente, la mezcla de polisacáridos según la invención comprende 1/2 de compuesto ramnósico y 1/2 de compuesto fucósico.

20 La mezcla de polisacáridos es muy particularmente apropiada como principio activo en una composición cosmética principalmente anti-envejecimiento (aplicación tópica). En particular, los efectos biológicos comprobados de esta mezcla de polisacáridos se han revelado comparables o incluso superiores a los de estos polisacáridos tomados por separado, revelándose sus acciones complementarias y sinérgicas.

25 El excipiente cosméticamente aceptable puede ser cualquier excipiente entre los conocidos por el experto en la técnica con el fin de obtener una composición según la invención en forma de crema, loción, gel, pomada, etc., eventualmente en forma de emulsión con otros componentes conocidos por los expertos en la técnica, para mejorar, modificar o estabilizar la composición desde un punto de vista cosmético.

30 Como ejemplo, la composición según la invención puede comprender excipientes muy conocidos por los expertos en la técnica para la formulación de una composición destinada a una aplicación tópica. Dichos excipientes pueden ser elegidos entre el grupo constituido por agentes estructurantes de la piel (tales como escualeno y esfingolípidos), agentes humectantes (tales como, glicerina e hidroxil-prosilano C), emolientes (tales como, butilenglicol y lactato de cetilo), siliconas (tales como, ciclometicona), agentes de protección solar (tales como, Parsol 1789 y Eusolex 6300), emulsionantes (principalmente Carbopol 1342 asociado a trietanolamina y lecitina de soja), espesantes (especialmente goma xantán), agentes secuestrantes (principalmente EDTA), antioxidantes (tales como, BHT), fragancias, conservantes, agua y sus mezclas.

35 La mezcla de oligosacáridos se utiliza según una proporción comprendida entre aproximadamente 0,1 y 10% en peso, con respecto al peso total de la composición cosmética.

Ha de quedar entendido que las condiciones para preparar la composición cosmética según la invención forman parte de los conocimientos generales de los expertos en la técnica.

## Leyendas de las figuras de los dibujos

40 La Figura 1 es una curva que representa los resultados de la eficacia de captura de radicales libres por los OPRF y OPRR presentados en el ejemplo 1, en términos de porcentaje de inhibición de la degradación por los radicales libres del ácido hialurónico sobre ex-plantas de piel por concentración en OPRF y OPRR.

45 La Figura 2 es una curva que presenta los resultados de degradación del ácido hialurónico en presencia de radicales libres y/o de los OPRR presentados en el ejemplo 2, utilizando una medida viscosimétrica basada en la liberación de radicales libres ( $^{\circ}\text{OH}$ ) por ascorbato en presencia de Fe y EDTA.

## Ejemplos

## Ejemplo 1

En este ejemplo se ha comparado la capacidad de captura de radicales libres de los OPRR y OPRF utilizando una medida viscosimétrica basada en la liberación de radicales libres ( $^{\circ}\text{OH}$ ) por ascorbato en presencia de Fe y EDTA.

50 Figura 1

La Figura 1 presenta la inhibición dependiente de la dosis por los OPRF y los OPRR de la degradación por radicales libres del ácido hialurónico.

Se observa que los OPRR presentan una inhibición importante a una baja concentración (menos de 10 µg/ml) pero que este efecto llega a una meseta a concentraciones más altas, después de 100 µg/ml.

Se observa que los OPRF presentan una débil inhibición a bajas concentraciones (menos de 20% de inhibición hasta 50 µg/ml). Sin embargo, la inhibición aumenta de modo lineal a concentraciones más altas y sobrepasa la inhibición observada para los OPRR: a 100 µg/ml la inhibición es 38% para los OPRR y 55% para los OPRF. En conclusión, estos resultados sugieren que a las concentraciones relativas a la composición de la mezcla de OPRF y OPRR de la presente invención, hay un efecto sinérgico de estos dos polisacáridos sobre la captura de radicales libres.

#### Ejemplo 2

En este ejemplo se ha medido la variación de la viscosidad del ácido hialurónico en presencia de radicales libres y/o de OPRR utilizando una medida viscosimétrica basada en la liberación de radicales libres ( $^{\circ}\text{OH}$ ) por ascorbato en presencia de Fe y EDTA.

#### Figura 2

La Figura 2 representa la degradación del ácido hialurónico por los radicales libres liberados por el ascorbato en presencia de Fe y EDTA en función del tiempo de exposición: 1) en ausencia de agente que libera radicales libres; 2) en presencia de dichos agentes a 1/1000 y 3) en presencia de dichos agentes a 1/1000 y de OPRR a 500 µg/ml.

Se observa que la variación de viscosidad entre el ácido hialurónico solo y en presencia de radicales libres es de 14,5 cpoises/min, mientras que no es más que de 7,0 cpoises/min en presencia de los OPRR. El porcentaje de inhibición por los OPRR de la degradación del ácido hialurónico por el agente que libera los radicales libres es pues de 52%.

Se llega a la conclusión de que los OPRR tienen una acción de protección del ácido hialurónico frente a los radicales libres.

#### Ejemplo 3

En este ejemplo se han examinado los efectos de una aplicación local de OPRR (Rhamnosoft<sup>®</sup>) y de OPRF (Elastinol<sup>®</sup>) y la mezcla de los dos sobre el espesor de la piel de rata sin pelos.

### 25 MATERIAL Y MÉTODOS

#### Animales y tratamientos

Para este estudio se utilizaron 10 ratas hembras sin pelos de un peso inicial medio de 170 g. Estos 10 animales se dividieron en 3 grupos:

el primer grupo incluía 3 ratas (Nº 1, 2 y 3).

30 El segundo grupo incluía igualmente 3 ratas (Nº 4, 5 y 6), y finalmente

el tercer grupo comprendía 4 ratas (Nº 7, 8, 9 y 10).

Las ratas se mantuvieron en jaulas individuales y con acceso libre a agua y a alimento industrial para ratas. Se utilizó el costado izquierdo de estos animales se utilizó para el control y se trató únicamente con la preparación base utilizada como vehículo: BioDerma "Biobase Crème H/E". El costado derecho de los animales se trató con la misma base que contenía igualmente los principios activos siguientes: Rhamnosoft al 0,25% para el primer grupo, Elastinol al 0,75% para el segundo grupo, y mezcla de los dos polisacáridos en las mismas proporciones, que dan una concentración final de 1% para el tercer grupo. 1 g de estas tres preparaciones se administró localmente 5 días por semana durante 4 semanas. La penetración de estas preparaciones se efectuó por extensión del producto y fricción durante aproximadamente un minuto en cada costado.

#### 40 Recogida de muestras de piel

Después del periodo de tratamiento los animales se sacrificaron por inyección de una dosis letal de anestésico con pentobarbital. Con el fin de evitar la contracción de la piel después de la toma de muestra, se pegaron sobre la piel de la ratas anillos de plástico de 10 mm de diámetro utilizando el pegamento cianoacrilato (*cyanolithe*). La piel se recortó a continuación alrededor del anillo (0,785 cm<sup>2</sup>) y se retiró. Se pegó un segundo anillo sobre la superficie interior de la piel, exactamente en la parte opuesta del otro anillo. Estas muestras circulares de piel se fijaron a continuación en una solución de Bouin durante 24 horas, seguido de un lavado, una deshidratación, una impregnación de disolventes de la parafina y después se practicó la inclusión en la parafina que contenía un polímero sintético (paraplast). De cada bloque de paraplast se realizaron 12 cortes de un espesor de 5 µm con un microtomo Reichert. Dos de estos cortes se colorearon con hematoxilina y eosina (HE), que son dos colorantes histológicos. Dichos cortes coloreados con HE se utilizaron para medir el espesor de la dermis.

### Evaluación del espesor de la dermis

Esta evaluación se realizó sobre los cortes coloreados con hematoxilina-eosina, observados bajo un fotomicroscopio Zeiss provisto de una cámara de vídeo en blanco y negro, conectada a un microordenador *Nixdorf Power Tower* que contenía el programa informático de análisis de imágenes Visiolab 1000 de Biocom (Francia). Se utilizó la función de medida de longitud semiautomática, expresándose los resultados en píxeles (puntos de imagen). La relación de ampliación fue 20 aumentos. La calibración se realizó midiendo las longitudes conocidas en una celda de Malassez, lo que permitió la conversión de los valores expresados en píxeles en micrómetros. Para obtener el espesor de la dermis, se trazaron rectas perpendiculares de la lámina basal dermo-epidérmica hasta el límite superior de la hipodermis. Por cada muestra de piel se analizaron 10 campos microscópicos seleccionados de manera aleatoria, con 25 medidas por campo, lo que da un total de 250 medidas para cada muestra. Se registraron las medidas individuales, así como los valores medios  $\pm$  la desviación estándar de cada campo y sirvieron para la evaluación final de los resultados.

Como las 10 ratas tenían un costado de control, los valores testigos eran los valores medios de 2500 medidas individuales. Como solamente 3 ratas componían los dos primeros grupos, los valores medios para éstos se obtuvieron de 750 medidas. Finalmente, para el grupo tratado con la mezcla de los dos polisacáridos, el valor medio se basó en 1000 medidas individuales. Un número tan elevado de medidas confería un alto grado de seguridad a la evaluación estadística de los resultados, efectuada con el programa informático StatView y la prueba de la t de Student.

### Resultado del espesor de la dermis

Para las medidas del espesor de la dermis se utilizó un objetivo de 2,5 aumentos, que dio una ampliación engrosamiento final de 20 aumentos. La Tabla 2 muestra los resultados obtenidos expresados en píxeles (puntos de imagen).

Tabla 1

Tratamiento de ratas	Valor medio en píxeles	Error estándar de la media	Prueba de la t de Student comparativamente de los dos controles
Controles	172,21	4,67	
Rhamnosoft	182,96	5,52	N.S.
Elastinol	179,96	5,63	N.S.
Mezcla Elastinol/Rhamnosoft	199,19	2,88	p<0,0001

Se ve que los tres valores medios correspondientes a las dermis de las muestras de pieles tratadas son más o menos superiores al valor del testigo. El espesor medio de las dermis testigo es  $172,21 \pm 4,67$  píxeles.

Para las dermis tratadas con Rhamnosoft, la cifra correspondiente es  $182,96 \pm 5,52$  píxeles. Lo que corresponde a un aumento del espesor de la dermis de 6,2% con respecto al valor testigo, pero esta diferencia no es estadísticamente significativa.

Para las dermis tratadas con Elastinol, el espesor medio obtenido es  $179,96 \pm 5,63$  píxeles, superior solamente en 4,5% al valor testigo. Esta diferencia tampoco es estadísticamente significativa.

El espesor medio de la dermis después de 4 semanas de tratamiento con una mezcla de Rhamnosoft y Elastinol es  $199,19 \pm 2,88$  píxeles. Este aumento del espesor de la dermis tratada con esta mezcla, comparado con el valor testigo, es estadísticamente muy significativo:  $p < 0,0001$ .

### ANÁLISIS

Los resultados expuestos precedentemente indican que a bajas concentraciones ni el Rhamnosoft (0,25%) ni el Elastinol (0,7 %) sólo aumentan significativamente el espesor de la dermis de la piel de las ratas tratadas. A la inversa, cuando la mezcla de los dos de estos polisacáridos se utiliza para el tratamiento, estando cada uno de ellos presente a la concentración utilizada individualmente, se observa un aumento estadísticamente significativo del espesor de la dermis, correspondiente a aproximadamente 16% del espesor de la dermis testigo. Este aumento es superior a la suma de los efectos individuales de los dos polisacáridos ensayados ( $6,2 + 4,5 = 10,7$ ) prácticamente en 50%, y esto sugiere que los dos sustancias ensayadas potencializan sus acciones, o más simplemente que tienen un efecto sinérgico sobre el espesor de la dermis.

#### Ejemplo 4

Se ha mostrado en el ejemplo precedente que la asociación de los OPRF y los OPRR permite un aumento estadística y significativamente elevado del espesor de la dermis. En el presente ejemplo se han comparado por morfometría semi-automática el efecto sobre la densidad celular de la epidermis de los OPRF (Elastinol<sup>®</sup>) y los OPRR (Rhamnosoft<sup>®</sup>) o de la mezcla de los dos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Experimentación animal

#### Animales y tratamientos

5 Se utilizaron 10 ratas hembras sin pelos de un peso inicial de 170 g. Se mantuvieron en jaulas individuales, con acceso libre al agua y a alimento industrial para ratas. El costado izquierdo de los animales se utilizó como control y se trató únicamente con la preparación base utilizada como vehículo. El costado derecho se trató de forma diferente en los tres grupos de ratas.

El primer grupo, ratas Nº 1, 2 y 3: Rhamnosoft al 0,25%

El segundo grupo, ratas Nº 4, 5 y 6: Elastinol al 0,75%

10 El tercer grupo, ratas Nº 7, 8, 9 y 10: Rhamnosof al 25% + Elastinol al 0,75%

1 g de estas preparaciones se administró localmente, 5 días por semana durante 4 semanas. La penetración de estas preparaciones se aseguró por extensión y fricción durante aproximadamente un minuto en cada costado.

#### Recogida de muestras de piel

15 Después del periodo de administración, los animales se sacrificaron por inyección de una dosis letal de anestésico con pentobarbital. Con el fin de evitar la contracción de la piel después de la toma de muestras, se pegaron sobre la piel de las ratas anillos de plástico de 10 mm de diámetro utilizando el pegamento cianoacrilato (*cyanolithe*). La piel se recortó a continuación alrededor del anillo (0,785 cm<sup>2</sup>) y se retiró. Se pegó un segundo anillo sobre la superficie interior de la piel, exactamente en la parte opuesta del otro anillo. Estas muestras circulares de piel se fijaron a continuación en una solución de Bouin durante 24 horas, seguido de un lavado, una deshidratación, una impregnación de disolventes de la parafina y después se practicó la inclusión en la parafina que contenía un polímero sintético (paraplast). En cada bloque de paraplast se realizaron 12 cortes de un espesor de 5 µm con un microtomo Reichert y se montaron sobre láminas. Dos de estas láminas se colorearon con hematoxilina-eosina (HE), que son dos colorantes histológicos. Dichos cortes coloreados con HE se utilizaron para medir la densidad celular de la epidermis.

#### Evaluación de la densidad celular

25 Esta evaluación se realizó sobre los cortes coloreados con hematoxilina-eosina, observados bajo un fotomicroscopio Zeiss provisto de una cámara de vídeo en blanco y negro, conectada a un microordenador *Nixdorf Power Tower* que contenía el programa informático de análisis de imágenes Visiolab 1000 de Biocom (Francia). Se utilizó la función de extracción manual de los contornos, expresándose los resultados en píxeles (puntos de imagen). La relación de ampliación fue 320 aumentos. En primer lugar se midió la superficie explorada, expresada en píxeles. A continuación se extrajeron manualmente todos los perímetros de todas las células presentes en el campo microscópico. El programa informático calculó a partir de estas medidas para cada campo el número de células, la superficie de cada célula y el número de píxeles que contenía una célula, así como las medias de estos valores para cada muestra estudiada. Se analizaron 10 campos microscópicos seleccionados de forma aleatoria para cada muestra de piel. La evaluación estadística de los resultados se efectuó con el programa informático StatView y la prueba de la t de Student.

#### Resultados

40 Los resultados obtenidos expresados en píxeles se recogen en las Tablas 3, 4 y 5, uno por cada tratamiento administrado. En estas tablas se indican 4 parámetros. El primero es la superficie explorada (en píxeles  $\pm$  el error estándar de la media). El segundo da el número de células observadas sobre la superficie explorada. El tercer parámetro es la superficie, expresada siempre en píxeles, que contiene una célula, dando así la posibilidad de expresar numéricamente la densidad de células de la muestra estudiada. Finalmente, la variación de la superficie media de las células puede indicar un efecto trófico eventual sobre las células.

Tabla 2.

Resultados obtenidos en ratas tratadas por Rhamnosoft (Nº 1, 2 y 3)

	Superficies exploradas	n células	Píxeles por célula	Superficie media de las células
Controles	50909 $\pm$ 1820	31,7 $\pm$ 1,27	1648,07 $\pm$	415,6 $\pm$ 11,65
Rhamnosoft	64279+4609	42,36 $\pm$ 2,97	1529 $\pm$ 65,23	494,93 $\pm$ 20,38
Prueba de la t	p<0,002	p<0,000	p< 0,1 +61 N.S.	p<0,001

45 En esta Tabla se aprecia que en los cortes de pieles tratadas con Rhamnosoft, el número de células es significati-

vamente superior al número correspondiente de los testigos. Igual sucede con la superficie media de las células. Por el contrario el número de píxeles que contiene una célula no difiere significativamente entre tratados y testigos. Esto significa, que la celularidad de la epidermis tratada con Rhamnosoft es del mismo orden que la de la epidermis de control. Por el contrario aparece un efecto trófico significativo sobre las células en la piel tratada.

## 5 Tabla 3.

Resultados expresados en píxeles obtenidos en las ratas tratadas con Elastinol (Nº 4, 5 y 6)

	Superficie explorada	n células	Píxeles por célula	Superficie media de las células
Controles	50909±1820	31,7±1,27	1648,07±	415,6±11,65
Elastinol	56987±6931	36,00±2,78	1556,02±79,61	468,53±31,8
Prueba de la t	p<0,227 N.S.	p<0,145 N.S.	p<0,360 N.S.	p<0,000

10 Los resultados de las medidas representados en la Tabla 4 no muestran diferencias estadísticamente significativas entre los testigos y las muestras tratadas con Elastinol, ni en la superficie explorada, ni en el número de células contadas sobre la superficie explorada, ni en el número de píxeles que contiene una célula. Solo es significativa la diferencia de la superficie media de las células: muestras tratadas: 468,53 frente al testigo: 415,60; p<0,000.

## Tabla 4.

Resultados expresados en píxeles obtenidos en las ratas tratadas con Elastinol + Rhamnosoft (Nº 7, 8, 9 y 10)

	Superficie explorada	n células	Píxeles por célula	Superficie media de las células
Controles	50909±1820	31,7±1,27	1648,07±45,6	415,6±11,65
Elastinol + Rhamnosoft	53853±2612	34,44±1,51	1623,80±111,1	497,88±23,53
Prueba de la t	p<0,387 N.S.	p<0,236 N.S.	p<0,810 N.S.	p <0,001

15 Como se puede observar en esta Tabla, las diferencias entre el testigo y las ratas tratadas con Elastinol + Rhamnosoft no son significativas para los tres primeros parámetros. Solamente la superficie media de una célula es significativamente superior para las muestras tratadas con respecto a los testigos.

**ANÁLISIS, CONCLUSIÓN**

20 Considerando que solo pueden ser considerados los resultados estadísticamente diferentes de los testigos, se observa que sólo el estudio de la superficie media de las células corresponde a este criterio, con aplicación de Rhamnosoft sólo y aplicación de la asociación Rhamnosoft + Elastinol. Incluso la mezcla de los dos polisacáridos (OPRR y OPRF) es la que permite obtener el aumento más importante de la superficie media de las células, es decir, el efecto anti-envejecimiento más importante de la epidermis.

**REIVINDICACIONES**

1. Utilización de una composición cosmética destinada a una acción anti-envejecimiento de la piel, caracterizada porque dicha composición comprende al menos un compuesto ramnósico OPRR, un compuesto fucósico OPRF y un excipiente cosméticamente aceptable, siendo el compuesto ramnósico OPRR un oligosacárido o polisacárido compuesto de 50% de ramnosa y siendo el compuesto fucósico OPRF un oligosacárido o polisacárido compuesto de polímeros de un trisacárido que contiene galactosa, ácido acetil-galacturónico y fucosa.
2. Utilización según la reivindicación 1, caracterizada porque la composición comprende, con respecto al peso total de la mezcla de polisacáridos 1/10 de compuesto ramnósico OPRR y 9/10 de compuesto fucósico OPRF.
3. Utilización según la reivindicación 1, caracterizado porque la composición comprende, con respecto al peso total de la mezcla de polisacáridos 1/5 de compuesto ramnósico OPRR y 4/5 de compuesto fucósico OPRF.
4. Utilización según la reivindicación 1, caracterizada porque la composición comprende, con respecto al peso total de la mezcla de polisacáridos 1/3 de compuesto ramnósico OPRR y 2/3 de compuesto fucósico OPRF.
5. Utilización según la reivindicación 1, caracterizada porque la composición comprende, con respecto al peso total de la mezcla de polisacáridos 1/2 de compuesto ramnósico OPRR y 1/2 de compuesto fucósico OPRF.
6. Utilización según la reivindicación 1, caracterizada porque la composición está adaptada a una aplicación tópica, principalmente porque se presenta en forma de una crema.
7. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizada porque la mezcla de oligosacáridos se utiliza según una proporción comprendida entre 0,1 y 10% en peso, con respecto al peso total de la composición.



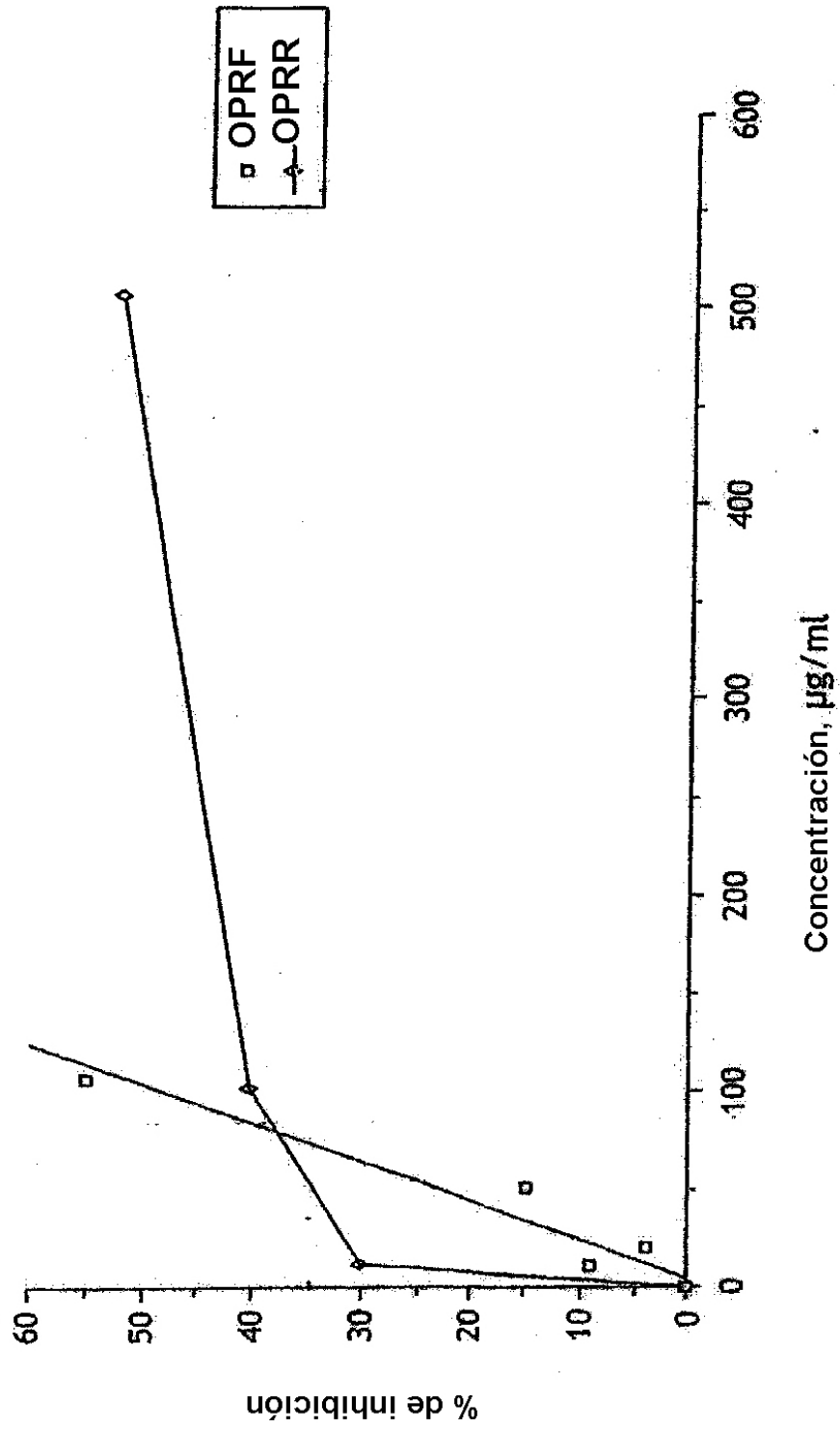


Figura 1

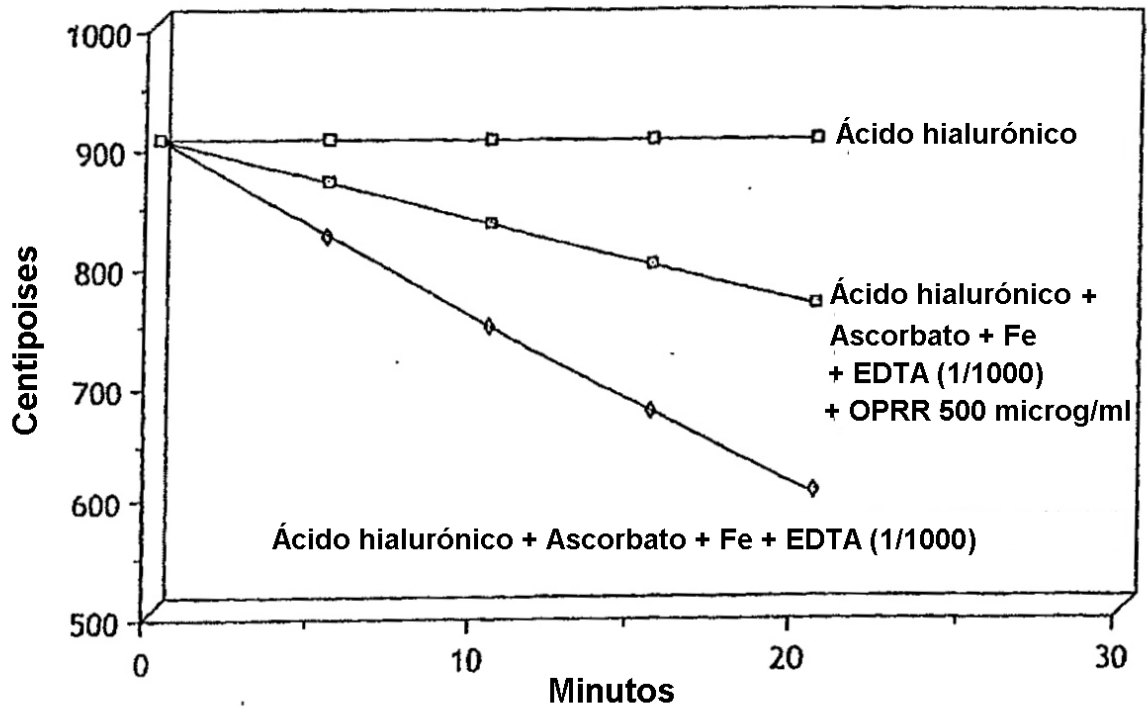


Figura 2