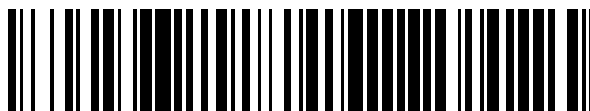


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 404 157**

51 Int. Cl.:

A61K 8/34 (2006.01)

A61K 8/97 (2006.01)

A61Q 5/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.06.2007** **E 07109693 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.02.2013** **EP 1870081**

54 Título: **Utilización de ácido elágico para el tratamiento de la canicie**

30 Prioridad:

20.06.2006 FR 0652552

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

24.05.2013

73 Titular/es:

**L'OREAL (100.0%)
14, RUE ROYALE
75008 PARIS, FR**

72 Inventor/es:

COMMO, STÉPHANE

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 404 157 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

Utilización de ácido elágico para el tratamiento de la canicie

La presente invención se refiere a la utilización cosmética del ácido elágico, de sus sales, de sus complejos metálicos, de sus derivados mono- o poli-éteres, mono- o poli-acilados y de sus derivados carbonatos o carbamatos que deriven de los grupos hidroxilos para tratar la canicie.

El folículo piloso es una invaginación tubular de la epidermis que se adentra hasta las capas profundas de la dermis. La parte inferior, o bulbo piloso, comprende en sí misma una invaginación en la que se encuentra la papila dérmica. La parte inferior del bulbo es una zona de proliferación celular en la que se encuentran los precursores de células queratinizadas que constituyen el cabello. Las células ascendentes procedentes de estos precursores se queratinizan progresivamente en la parte superior del bulbo, y este conjunto de células queratinizadas formará el tallo piloso.

El color del cabello y del pelo se basa, en particular, en la presencia, en cantidades y proporciones variables, de dos grupos de melaninas: las eumelaninas (pigmentos marrones y negros) y las feomelaninas (pigmentos rojos y amarillos). La pigmentación del cabello y del pelo requiere la presencia de melanocitos a nivel del bulbo del folículo piloso. Estos melanocitos están en un estado activo, es decir que sintetizan unas melaninas. Estos pigmentos son transmitidos a los queratinocitos destinados a formar el tallo piloso, lo que llevará al crecimiento de un cabello o de un pelo pigmentado. Esta estructura se denomina a continuación "unidad folicular de pigmentación".

En los mamíferos, la melanogénesis implica al menos tres enzimas: la tirosinasa, la DOPAcromo tautomerasa (TRP-2- por "Tyrosinase Related Protein 2) y la DHICAoxidasa (TRP-1, por "Tyrosinase Related Protein 1).

La tirosinasa es la enzima que inicia la biosíntesis de las melaninas. Está asimismo descrita como la enzima que limita la melanogénesis.

La TRP-2 cataliza la tautomerización del DOPAcromo en ácido 5,6-dihidroxiindol-2-carboxílico (DHICA). En ausencia de TRP-2, el DOPAcromo sufre una descarboxilación espontánea para formar el 5,6-dihidroxiindol (DHI).

DHICA y DHI son ambos unos precursores de pigmentos, TRP-1 oxida las moléculas de DHICA para formar unos derivados de quinonas (Pawelek JM y Chakraborty AK. The enzymology of melanogenesis. En: Nordlund JJ, Boissy RE, Hearing VJ, King RA, Ortonne J-P. The Pigmentary System: Physiology and Pathophysiology. Nueva York: Oxford university press; 1998. p. 391-400).

Las tres enzimas, tirosinasa, TRP-2 y TRP-1, aparecen específicamente implicadas en la melanogénesis. Además, la actividad de estas tres enzimas se ha descrito como necesaria para la actividad máxima de biosíntesis de las eumelaninas.

El cabello y el pelo sufren un ciclo. Este ciclo comprende una fase de crecimiento (fase anágena), una fase de degeneración (fase catágena) y una fase de reposo (fase telógena) tras la cual se desarrolla una nueva fase anágena. Debido a este ciclo piloso, y contrariamente a la unidad de pigmentación epidérmica, la unidad folicular de pigmentación debe también ser cíclicamente renovada.

La canicie (blanqueo natural del cabello) está relacionada con una rarefacción específica y progresiva de los melanocitos del cabello, que afecta al mismo tiempo a los melanocitos del bulbo piloso y a las células precursoras de melanocitos (Commo *et al.* Br J Dermatol 2004; 150:435-443). No están afectados otros tipos celulares presentes en los folículos pilosos. Además, esta rarefacción de melanocitos no se observa en la epidermis. La causa de esta rarefacción progresiva y específica de melanocitos y precursores de melanocitos en el folículo piloso no está hoy en día identificada.

Parece por lo tanto necesario luchar contra la desaparición de los melanocitos de los folículos pilosos humanos, proceso que afecta al mismo tiempo a los melanocitos activos de los bulbos y a los melanocitos quiescentes de la región superior de los folículos pilosos, para luchar contra la canicie.

La solicitante ha identificado un medio para luchar contra el blanqueamiento del cabello actuando sobre la enzima TRP-2 (WO 03/103568), en particular mediante el aumento del porcentaje de GSH. En efecto, ha puesto en evidencia que la expresión de la enzima TRP-2 está correlacionada con un porcentaje más elevado de GSH en los melanocitos, la expresión de TRP-2 induce a un aumento del porcentaje de GSH en los melanocitos. Así, en los melanocitos que no expresan TRP-2 (por ejemplo los precursores de melanocitos del cabello), existe un bajo porcentaje de GSH en comparación con los melanocitos que expresan la enzima TRP-2 (por ejemplo, todos los melanocitos de la piel).

La solicitante ha identificado, por lo tanto, un nuevo enfoque para el tratamiento de la canicie, más particularmente, ha puesto en evidencia que los compuestos capaces de aumentar el porcentaje de GSH en los melanocitos deficientes en TRP-2 aumentan la viabilidad de estos melanocitos, disminuyen el blanqueamiento del cabello y

conducen, contrariamente a sus efectos de despigmentación descritos en la bibliografía, a la restauración de la pigmentación del cabello (FR 04/13756).

- 5 La solicitante ha puesto en evidencia ahora que el ácido elágico, por su capacidad para aumentar el porcentaje de GSH (Khanduja K.L. Food and Chemical Tox, 1999; 37:313) en los melanocitos, se opone al blanqueamiento del cabello, contrariamente a su efecto despigmentante de la piel descrito en la bibliografía, y conduce a la restauración de la pigmentación del cabello.

Numerosas patentes anteriores describen la utilización del ácido elágico para sus propiedades despigmentantes, de filtración de las radiaciones ultravioletas, anticancerígenas y anti-inflamatorias (JP2003267818, EP 1 021 161, EP 1 282 395).

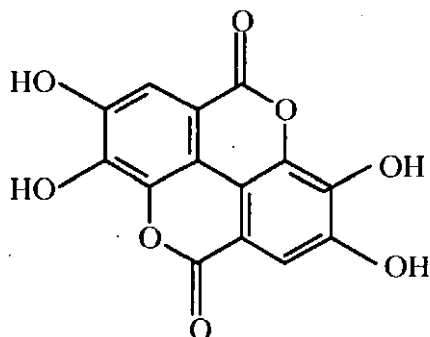
- 10 El objeto de la presente invención se refiere a la utilización de ácido elágico, de sus sales, de sus complejos metálicos, de sus derivados mono- o poli-éteres, mono- o poli-acilados y de sus derivados carbonatos o carbamatos que derivan de los grupos hidroxilos, como agente que permite prevenir, limitar o parar la progresión de la canicie, y mantener y/o favorecer la re-pigmentación natural del cabello y/o del pelo.

- 15 En particular, el objeto de la invención se refiere a la utilización de ácido elágico, de sus sales, de sus complejos metálicos, de sus derivados mono- o poli-éteres, mono- o poli-acilados y de sus derivados carbonatos o carbamatos que derivan de los grupos hidroxilos, para prevenir y/o limitar y/o parar el desarrollo de la canicie.

El objeto de la invención se refiere asimismo a la utilización de ácido elágico, de sus sales, de sus complejos metálicos, de sus derivados mono- o poli-éteres, mono- o poli-acilados y de sus derivados carbonatos o carbamatos que derivan de los grupos hidroxilos, para mantener la pigmentación natural del cabello y/o del pelo gris.

- 20 El ácido elágico, asimismo denominado 2,3,7,8-tetra-hidroxi(1)-benzopirano(5,4,3-cde)(1)benzopiran-5,10-diona es una molécula bien conocida que pertenece al grupo de los polifenoles y presente en el reino vegetal. Se podrá hacer referencia a la publicación de "Merck Index" 20ª edición (1996), n° 3588. Se conoce por el documento FR-A-1 478 523, un procedimiento de purificación del ácido elágico así como los ácidos elágicos purificados obtenidos mediante tal procedimiento.

- 25 El ácido elágico presenta la fórmula química siguiente:



que comprende cuatro ciclos unidos.

El ácido elágico está disponible en el comercio, en particular en la compañía Sigma, Francia.

- 30 En el ámbito de la invención, las sales del ácido elágico comprenden en particular las sales metálicas, en particular alcalinas o alcalinotérreas, tales como el sodio o el calcio, las sales de aminas tales como las sales de metilglutamina, de dietanolamina, de trietanolamina, de colina, de bis-trietilamina, las sales de aminoácidos, en particular las sales de aminoácidos básicos tales como la arginina, la lisina y la ornitina, los complejos metálicos que comprenden en particular unos complejos metálicos con el zinc o el cobre, y los derivados mono- o poli-acilados que comprenden en particular unos grupos acilos, saturados o insaturados, que tienen de 2 a 22 átomos de carbono.
- 35 Preferiblemente, estos grupos acilos corresponden a los ácidos acético, palmítico, oleico, linoleico, linolénico, araquidónico, esteárico, brasídico, erúcido, behénico y (todo Z)-5,8,11,14,17-eicosapentaenoico. Los derivados mono- o poliéteres antes citados son en particular unos derivados alcoxi que comprenden de 1 a 4 átomos de carbono, o bien unos derivados de condensación de uno o de varios grupos hidroxilo del ácido elágico con un azúcar o una cadena de azúcares. En particular, se trata del ácido 3-metoxi-elágico o de los derivados mono- o poliéteres
- 40 con los azúcares tales como la glucosa, la arabinosa, la ramnosa y la galactosa.

Los derivados éteres o acilados antes citados se pueden obtener mediante unos procedimientos de eterificación o de acilación de los polifenoles bien conocidos por el experto en la técnica. Algunos pueden también ser obtenidos por extracción a partir de plantas.

- La composición utilizada comprende una cantidad de compuesto seleccionado entre el ácido elágico, sus sales, sus complejos metálicos, sus derivados mono- o poli-éteres, mono- o poli-acilados y sus derivados carbonatos o carbamatos que derivan de los grupos hidroxilos comprendida entre el 0,001 y el 10% en peso con respecto al peso total de la composición, preferiblemente entre el 0,01 y el 5% en peso con respecto al peso total de la composición, y aún más preferiblemente entre el 0,1 y el 1% en peso con respecto al peso total de la composición.
- La composición se puede administrar por vía oral o ser aplicada tópicamente sobre la piel (sobre cualquier zona cutánea del cuerpo recubierta de pelos) y/o el cuero cabelludo.
- Por vía oral, la composición puede contener el o los compuestos seleccionados entre el ácido elágico, sus sales, sus complejos metálicos, sus derivados mono- o poli-éteres, mono- o poli-acilados y sus derivados carbonatos o carbamatos que derivan de los grupos hidroxilos en disolución en un líquido alimenticio tal como una disolución acuosa o hidroalcohólica, eventualmente aromatizada. Pueden también ser incorporados en un excipiente sólido ingerible y presentarse por ejemplo en forma de granulados, de píldoras, de comprimidos o de grageas. Pueden también estar dispuestos en disolución en un líquido alimenticio envasado él mismo eventualmente en unas cápsulas ingeribles.
- Según el modo de administración, la composición puede presentarse en todas las formas galénicas normalmente utilizadas, particularmente en cosmetología.
- Una composición preferida de la invención es una composición cosmética adaptada a una aplicación tópica sobre el cuero cabelludo y/o la piel.
- Para una aplicación tópica, la composición utilizable puede estar en particular en forma de una disolución acuosa, hidroalcohólica u oleosa, o de dispersión de tipo loción o suero, de emulsiones de consistencia líquida o semi-líquida de tipo leche, obtenidas por dispersión de una fase grasa en una fase acuosa (H/E) o a la inversa (E/H), o de suspensiones o emulsiones de consistencia blanda de tipo crema o gel acuoso o anhidros, o también de microcápsulas o micropartículas, o de dispersiones vesiculares de tipo iónico y/o no iónico. Puede así presentarse en forma de ungüento, de tinte, de crema, de pomada, de polvo, de parche, de tampón empapado, de disolución, de emulsión o de dispersión vesicular, de loción, de gel, de spray, de suspensión, de champú, de aerosol o de espuma. Pueden ser anhidras o acuosas. Pueden también consistir en unas preparaciones sólidas que constituyen unos jabones o unas pastillas de lavado.
- Estas composiciones son preparadas según los métodos habituales.
- La composición utilizable puede en particular ser una composición para cuidados capilares, y en particular un champú, una loción de marcado, una loción tratante, una crema o un gel de peinado, una composición de tintes (en particular tintes de oxidación) eventualmente en forma de champús colorantes, unas lociones reestructurantes para el cabello, de mascarilla.
- La composición cosmética será preferiblemente una crema, una loción capilar, un champú o un acondicionador.
- Las cantidades de los diferentes constituyentes de las composiciones utilizables son las clásicamente utilizadas en los campos considerados.
- Cuando la composición utilizable es una emulsión, la proporción de la fase grasa puede ir del 5% al 80% en peso, y preferentemente del 5% al 50% en peso con respecto al peso total de la composición. Los aceites, las ceras, los emulsionantes y los co-emulsionantes utilizados en la composición en forma de emulsión se seleccionan entre los clásicamente utilizados en el campo cosmético. El emulsionante y el co-emulsionante están presentes, en la composición, en una proporción que va del 0,3% al 30% en peso, y preferentemente del 0,5 al 20% en peso con respecto al peso total de la composición. La emulsión puede, además, contener unas vesículas lipídicas.
- Cuando la composición utilizable es una disolución o un gel oleoso, la fase grasa puede representar más del 90% del peso total de la composición.
- En una variante de la invención, el ácido elágico, sus sales, sus complejos metálicos, sus derivados mono- o poli-éteres, mono- o poli-acilados y sus derivados carbonatos o carbamatos que derivan de los grupos hidroxilos está encapsulado en un revestimiento tal como unas microesferas, unas nanoesferas, unos oleosomas o unas nanocápsulas.
- Este tipo de formulación se demuestra ventajoso, ya que permite determinar específicamente el folículo piloso y liberar así el principio activo sobre su sitio de acción.
- A título de ejemplo, las microesferas se podrán preparar según el método descrito en la solicitud de patente EP 0 375 520.
- Las nanoesferas podrán presentarse en forma de suspensión acuosa y estar preparadas según los métodos descritos en las solicitudes de patente FR 0015686 y FR 0101438.

Los oleosomas consisten en una emulsión de aceite en agua formada por unos glóbulos oleosos provistos de un revestimiento de cristal líquido laminado disperso en una fase acuosa (véase las solicitudes de patente EP 0 641 557 y EP 0 705 593).

- 5 El ácido elágico, sus sales, sus complejos metálicos, sus derivados mono- o poli-éteres, mono- o poli-acilados o sus derivados carbonatos o carbamatos que derivan de los grupos hidroxilos podrá también ser encapsulado en unas nanocápsulas que consisten en un revestimiento laminado obtenido a partir de un tensioactivo siliconado (véase la solicitud de patente EP 0 780 115), las nanocápsulas podrán también ser preparadas a base de poliésteres sulfónicos hidrodispersables (véase la solicitud de patente FR 0113337).
- 10 El ácido elágico, sus sales, sus complejos metálicos, sus derivados mono- o poli-éteres, mono- o poli-acilados o sus derivados carbonatos o carbamatos que derivan de los grupos hidroxilos podrá también estar acomplejado en la superficie de glóbulos oleosos catiónicos, sea cual sea su tamaño (véanse las solicitudes de patente EP 1 010 413, EP 1 010 414, EP 1 010 415, EP 1 010 416, EP 1 013 338, EP 1 016 453, EP 1 018 363, EP 1 020 219, EP 1 025 898, EP 1 120 101, EP 1 120 102, EP 1 129 684, EP 1 160 005 y EP 1 172 077).
- 15 El ácido elágico, sus sales, sus complejos metálicos, sus derivados mono- o poli-éteres, mono- o poli-acilados o sus derivados carbonatos o carbamatos que derivan de los grupos hidroxilos puede finalmente estar acomplejado en la superficie de nanocápsulas o nanopartículas provistas de un revestimiento laminado (véanse los documentos EP 0 447 318 y EP 0 557 489) y que contiene un tensioactivo catiónico en la superficie (véanse las referencias citadas anteriormente para los tensioactivos catiónicos).
- 20 En particular, se preferirá una composición tal como el revestimiento que contiene el ácido elágico, sus sales, sus complejos metálicos, sus derivados mono- o poli-éteres, mono- o poli-acilados o sus derivados carbonatos o carbamatos que derivan de los grupos hidroxilos tiene un diámetro inferior o igual a 10 µm. Cuando el revestimiento no forma una vesícula esférica, se entiende por diámetro la dimensión mayor de la vesícula.
- 25 De manera conocida, la composición puede también contener unos adyuvantes habituales en el campo cosmético, tales como los gelificantes hidrófilos o lipófilos, los aditivos hidrófilos o lipófilos, los conservantes, los antioxidantes, los disolventes, los perfumes, las cargas, los filtros, los absorbentes de olor y las materias colorantes. Las cantidades de estos diferentes adyuvantes son las clásicamente utilizadas en el campo cosmético, y por ejemplo son del 0,01% al 10% del peso total de la composición. Estos adyuvantes, según su naturaleza, pueden ser introducidos en la fase grasa, en la fase acuosa y/o en las esférulas lipídicas.
- 30 Las composiciones utilizables pueden asociar al menos un compuesto seleccionado entre el ácido elágico, sus sales, sus complejos metálicos, sus derivados mono- o poli-éteres, mono- o poli-acilados o sus derivados carbonatos o carbamatos, que derivan de los grupos hidroxilos con otros agentes activos. Entre estos agentes activos, se pueden citar a título de ejemplo:
 - los agentes que modulan la diferenciación y/o la proliferación y/o la pigmentación de las células de la piel, tales como el retinol y sus ésteres, la vitamina D y sus derivados, los estrógenos tales como el estradiol, los moduladores de AMPc tales como los derivados de POMC, la adenosina, o la forskolina y sus derivados, las prostaglandinas y sus derivados, la triyodotironina y sus derivados;
 - unos extractos de vegetales tales como los de Iridáceas o de soja, extractos que pueden entonces contener o no unas isoflavonas;
 - unos extractos de micro-organismos;
 - 40 - los agentes antirradicales libres tales como el α -tocoferol o sus ésteres, las superóxido dismutasas o sus miméticos, algunos quelantes de metales o el ácido ascórbico y sus ésteres;
 - los anti-seborréicos, tales como algunos aminoácidos azufrados, el ácido 13-cis-retinoico, el acetato de ciproterona;
 - los otros agentes para combatir los estados descamativos del cuero cabelludo como el disulfuro de selenio, el climbazol, el ácido undecilénico, el ketoconazol, la piroctona olamina (octopirox) o la ciclopicroctona (ciclopiprox);
 - 45 en particular, podrá tratarse de principios activos que estimulan el nuevo crecimiento y/o que favorecen la disminución de la caída del cabello, se pueden más particularmente citar a título no limitativo:
 - los ésteres de ácido nicotínico, de los cuales en particular el nicotinato de tocoferol, el nicotinato de bencilo y los nicotinatos de alquilo de C₁-C₆ como los nicotinatos de metilo o de hexilo;
 - 50 - los derivados de pirimidina, como el 2,4-diamino-6-piperidinopirimidina-3-óxido o "Minoxidil" descritos en las patentes US 4,139,619 y US 4,596,812; el Aminexil o 2,4-diamino-pirimidin-3-óxido descrito en el documento W096/09048;
 - los agentes inhibidores de la lipoxigenasa o inductor de la ciclooxidasas que favorecen el nuevo crecimiento del cabello como los descritos por la solicitante en la solicitud de patente europea EP 0 648 488;

- los agentes antibacterianos tales como los macrólidos, los piranosidos y las tetraciclinas, y en particular la Eritromicina;

- los agentes antagonistas de calcio, como la Cinnarizina, la Nimodipina y la Nifedipina;

- unas hormonas, tales como el estriol o unos análogos, o la tiroxina y sus sales;

5 - unos agentes antiandrógenos, tales como la oxendolona, la espironolactona, el dietilestibestrol y la flutamina;

- unos inhibidores esteroideos o no esteroideos de las 5- α -reductasas tales como los descritos por la solicitante en las solicitudes de patente europeas EP 0 964 852 y EP 1 068 858, o también la finastérida;

- unos agonistas de los canales potásicos que dependen del ATP tales como la cromocalima y el nicorandil;

10 - unos extractos vegetales de actividad pro-pigmentante como los extractos de crisantemo tales como se describen en el documento FR 2768343 y los extractos de Sanguisorba descritos en el documento FR 2782920.

Preferiblemente, el compuesto seleccionado entre el ácido elágico, sus sales, sus complejos metálicos, sus derivados mono- o poli-éteres, mono- o poli-acilados o sus derivados carbonatos o carbamatos que derivan de los grupos hidroxilos está asociado a al menos otro principio activo capilar seleccionado entre los agentes para combatir los estados descamativos del cuero cabelludo, unos agentes que ralentizan la caída de los cabellos o que favorecen su nuevo crecimiento, unos extractos vegetales de actividad propigmentante.

Otro objeto de la presente invención se refiere a un procedimiento de tratamiento cosmético de la canicie caracterizado porque se administra o se aplica sobre la zona a tratar una composición tal como se ha definido anteriormente, que comprende al menos un compuesto seleccionado entre el ácido elágico, sus sales, sus complejos metálicos, sus derivados mono- o poli-éteres, mono- o poli-acilados y sus derivados carbonatos o carbamatos que derivan de los grupos hidroxilos.

La invención se refiere también a un procedimiento de tratamiento cosmético destinado a mantener la pigmentación natural de los cabellos y/o del pelo gris o blanco, caracterizado porque se administra o se aplica sobre la zona a tratar una composición tal como se definió anteriormente que comprende al menos un compuesto seleccionado entre el ácido elágico, sus sales, sus complejos metálicos, sus derivados mono- o poli-éteres, mono- o poli-acilados y sus derivados carbonatos o carbamatos que derivan de los grupos hidroxilos.

Los procedimientos de tratamiento de la canicie y de la pigmentación del cabello y/o del pelo gris o blanco pueden asimismo consistir en la ingestión de una composición que comprende al menos un compuesto seleccionado entre el ácido elágico, sus sales, sus complejos metálicos, sus derivados mono- o poli-éteres, mono- o poli-acilados y sus derivados carbonatos o carbamatos que derivan de los grupos hidroxilos.

30 Las zonas a tratar pueden ser, por ejemplo y sin ninguna limitación, el cuero cabelludo, las cejas, el bigote y/o la barba y cualquier zona de la piel recubierta de pelo.

Más particularmente, los procedimientos de tratamiento cosmético de la canicie y de la pigmentación natural del cabello y/o del pelo gris o blanco consisten en aplicar una composición que comprende al menos un compuesto seleccionado entre el ácido elágico, sus sales, sus complejos metálicos, sus derivados mono- o poli-éteres, mono- o poli-acilados y sus derivados carbonatos o carbamatos que derivan de los grupos hidroxilos.

Los procedimientos de tratamiento cosmético para luchar contra la canicie y/o para mantener la pigmentación natural del cabello y/o del pelo gris o blanco, pueden consistir, por ejemplo, en aplicar la composición sobre el cabello y el cuero cabelludo, por la tarde, guardar la composición toda la noche y eventualmente aplicar un champú por la mañana o lavar el cabello con la ayuda de esta composición y dejar de nuevo en contacto durante algunos minutos antes de aclarar. La composición conforme a la invención se revela particularmente interesante cuando se aplica en forma de loción capilar, eventualmente aclarada o incluso en forma de champú.

Ejemplo 1: Demostración de la protección de los melanocitos por el ácido elágico

1-A-1. Protocolo de medición de las especies reactivas del oxígeno (ROS) generados por un estrés H₂O₂ en unos melanocitos humanos normales (MHN) en cultivo

45 Los melanocitos humanos normales (MHN) son inoculados a J0 con la densidad de 4.10⁴ células/cm². A J1, el medio de cultivo se sustituye por la disolución de diacetato de 6-carboxi-2',7'-diclorodihidrofluoresceína, di[acetoximetiléster] a 10 μ M en PBS (H₂DCFDA, C2938, Molecular Probes). Después de 20 minutos, la disolución de H₂DCFDA se sustituye por el medio de cultivo. Se dejan los MHN durante 30 minutos antes de la adición de H₂O₂ (250 μ M). La fluorescencia se mide después de 15 minutos con Fluoroscanner (excitación: 485 nm, emisión: 538 nm).

50 Los compuestos estudiados son utilizados en función de sus propiedades (concentración, duración de preincubación). La N-acetil-cisteína (A9165, Sigma) se utiliza como molécula de referencia. Los melanocitos son pretratados durante 12h/18h a 37°C con el compuesto estudiado en el medio de cultivo, antes de ser puestos en

contacto durante 20 minutos con el H₂DCFDA (10 μ M en PBS). La disolución de H₂DCFDA se sustituye después por un medio de cultivo que contiene el principio activo estudiado. Después de 30 minutos de incubación, se induce el estrés oxidativo mediante adición de 250 μ M de H₂O₂ en el medio de cultivo. La fluorescencia se mide después de 15 minutos en el Fluoroscán (excitación: 485 nm, emisión: 538 nm).

5 1-A-2. Resultados

Los resultados representan los datos brutos de fluorescencia a los que se han restado los valores de autofluorescencia de las células ("blanco"), expresados en unidad de fluorescencia (uf), obtenidos durante un experimento representativo.

10 Los resultados son presentados en la figura 1. Se observa en efecto una disminución de las especies reactivas del oxígeno en presencia de ácido elágico.

1-B-1. Protocolo de medición de la viabilidad (control de toxicidad)

Los melanocitos humanos normales (MHN) son inoculados a J0 con la densidad de 4.10^4 células/cm². Después de la adhesión de las células (3h), el compuesto estudiado se añade al medio de cultivo. Después de 24h a 48h, la viabilidad celular se mide con la ayuda del azul Alamar (UP669413 UPTIMA, Interchim) según las instrucciones del fabricante.

15 1-B-2. Resultados

Los resultados representan los porcentajes de señal fluorescente obtenidos para un experimento representativo (medición en triplicado) (se han realizado 2 experimentos independientes) y presentados en forma de curva % de fluorescencia en función de la concentración del principio activo estudiado (en μ M). Los resultados están representados en la figura 2.

20 1-C-1. Protocolo de senescencia acelerada inducida *in vitro* por un estrés H₂O₂ crónico

(Según O.Toussaint, EE.Medrano y T.von Zglinicki Experimental Gerontology 2000; 35:927-945)

25 Los melanocitos humanos normales (MHN) son inoculados a J0 con la densidad de $0,8 \times 10^4$ células/cm². Después de la adhesión de las células (3h) el principio activo estudiado se añade al medio de cultivo. El H₂O₂ (250 μ M) se añade al medio de cultivo durante 1 hora, a J1, J2 y J3. Después, el medio de cultivo se renueva cada dos días sin adición de estrés. A J7, el número de células viables se mide con la ayuda del azul Alamar (UP669413 UPTIMA, Interchim) según las instrucciones del fabricante.

1-C-2. Resultados

Los resultados ilustran el efecto del ácido elágico (AE) sobre la senescencia inducida *in vitro* por un estrés H₂O₂ crónico y muestran un aumento significativo de la viabilidad en presencia de ácido elágico.

30 El ensayo se ha realizado también con la N-acetil-cisteína, que es un compuesto de referencia.

Los resultados están presentados en la tabla siguiente y en la figura 3.

	Ctle	NAC	AE	Sin tratamientos	NAC	AE
Fluorescencia media	7601,67	8056,00	7343,67	2524,33	2869,00	2934,00
Desviación típica	164,08	166,01	97,45	158,00	128,19	200,53
% con respecto al Ctle	100	106	97	33	38	39

Ejemplo 2 - Composiciones

- Loción capilar

Ácido elágico	0,5 g
Propilenglicol	20 g
Etanol a 95°	30 g
Agua	qsp 100g

Esta loción se aplica a diario sobre las zonas a tratar y preferiblemente sobre el conjunto del cuero cabelludo durante al menos 10 días y preferiblemente 1 a 2 meses.

Se constata entonces una disminución de la aparición del cabello blanco o gris y una repigmentación del cabello gris.

5 Champú de tratamiento

Ácido elágico		1,5 g
3-hidroxilariléter de poliglicerilo		26 g
Hidroxipropilo vendido bajo la denominación de Klucell G por la société Hercules		2g
Conservantes		cs
Etanol a 95°		50 g
Agua	csp	100g

Este champú se utiliza en cada lavado con un tiempo de reposo de aproximadamente un minuto. Un uso prolongado, del orden de dos meses, lleva a la disminución de la canicie y a la repigmentación progresiva del cabello gris.

10 Este champú puede también ser utilizado a título preventivo a fin de retrasar el blanqueamiento de los cabellos.

- Gel de tratamiento

Ácido elágico	0,75 g
Aceites esenciales de Eucalipto	1 g
Econozol	0,2 g
Lauril poligliceril 6 cetearil glicoéter	1,9 g
Conservantes	cs
Carbopol 934P vendido por la compañía BF Goodrich Corporation	0,3 g
Agente de neutralización	cs pH 7
Agua csp	100 g

Este gel se aplica sobre las zonas a tratar dos veces por día (por la mañana y por la tarde) con un masaje terminal. Después de tres meses de aplicación, se observa una repigmentación del pelo o del cabello de la zona tratada.

REIVINDICACIONES

1. Utilización cosmética de ácido elágico, de sus sales, de sus complejos metálicos, de sus derivados mono- o poli-éteres, mono- o poli-acilados y de sus derivados carbonatos o carbamatos que derivan de los grupos hidroxilos para prevenir y/o limitar y/o parar el desarrollo de la canicie.
- 5 2. Utilización según la reivindicación 1, para mantener y/o restaurar la pigmentación natural del cabello y/o del pelo gris.
3. Utilización según la reivindicación 1 ó 2, caracterizada porque el ácido elágico, sus sales, sus complejos metálicos, sus derivados mono- o poli-éteres, mono- o poli-acilados y sus derivados carbonatos o carbamatos que derivan de los grupos hidroxilos son administrados por vía tópica u oral.
- 10 4. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque el ácido elágico, sus sales, sus complejos metálicos, sus derivados mono- o poli-éteres, mono- o poli-acilados y sus derivados carbonatos o carbamatos que derivan de los grupos hidroxilos están asociados a otro principio activo seleccionado entre los agentes para combatir los estados descamativos del cuero cabelludo seleccionados entre el disulfuro de selenio, el climbazol, el ácido undecilénico, el Ketoconazol, la piroctona olamina o la ciclopiroctona y/o un agente que ralentiza la caída del cabello o que favorece su nuevo crecimiento, seleccionado entre los ésteres de ácido nicotínico
- 15 seleccionados entre el nicotinato de bencilo y los nicotinatos de alquilo de C₁-C₆ y el 2,4-diamino-pirimidin-3-óxido.
5. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el ácido elágico, sus sales, sus complejos metálicos, sus derivados mono- o poli-éteres, mono- o poli-acilados y sus derivados carbonatos o carbamatos que derivan de los grupos hidroxilos se aplican en una cantidad comprendida entre el 0,001 y el 10% en peso, preferiblemente entre el 0,01 y el 5% en peso.
- 20 6. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el ácido elágico, sus sales, sus complejos metálicos, sus derivados mono- o poli-éteres, mono- o poli-acilados y sus derivados carbonatos o carbamatos que derivan de los grupos hidroxilos se utilizan en disolución en un líquido alimenticio tal como una disolución acuosa o hidroalcohólica, eventualmente aromatizada.
- 25 7. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que el ácido elágico, sus sales, sus complejos metálicos, sus derivados mono- o poli-éteres, mono- o poli-acilados y sus derivados carbonatos o carbamatos que derivan de los grupos hidroxilos son incorporados en un excipiente sólido ingerible y que se presentan en forma de gránulos, de píldoras, de comprimidos o de gageas.
8. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que el ácido elágico, sus sales, sus complejos metálicos, sus derivados mono- o poli-éteres, mono- o poli-acilados y sus derivados carbonatos o carbamatos que
- 30 derivan de los grupos hidroxilos están dispuestos en disolución en un líquido alimenticio envasado él mismo eventualmente en unas cápsulas ingeribles.
9. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que el ácido elágico, sus sales, sus complejos metálicos, sus derivados mono- o poli-éteres, mono- o poli-acilados y sus derivados carbonatos o carbamatos que
- 35 derivan de los grupos hidroxilos se aplican en una composición para aplicación tópica sobre el cuero cabelludo y/o sobre las zonas de la piel recubiertas de pelo que se presentan en forma de una disolución acuosa, hidroalcohólica u oleosa, o de dispersión de tipo loción o suero, de emulsiones de consistencia líquida o semi-líquida de tipo leche, obtenidas por dispersiones de una fase grasa en una fase acuosa (H/E) o a la inversa (E/H), o de suspensiones o emulsiones de consistencia blanda de tipo crema o gel acuoso o anhidros, o también de microcápsulas o micropartículas, o de dispersiones vesiculares de tipo iónico y/o no iónico.
- 40 10. Utilización de al menos un compuesto seleccionado entre el ácido elágico, sus sales, sus complejos metálicos, sus derivados mono- o poli-éteres, mono- o poli-acilados y sus derivados carbonatos o carbamatos que derivan de los grupos hidroxilos según la reivindicación 9, caracterizada porque dicho compuesto está encapsulado en un revestimiento tal como unas microesferas, unas nanoesferas, unos oleosomas o unas nanocápsulas.
- 45 11. Procedimiento de tratamiento cosmético de la canicie, caracterizado porque se administra oralmente o se aplica tópicamente sobre la zona a tratar, una composición que comprende un compuesto seleccionado entre el ácido elágico, sus sales, sus complejos metálicos, sus derivados mono- o poli-éteres, mono- o poli-acilados y sus derivados carbonatos o carbamatos que derivan de los grupos hidroxilos.
12. Procedimiento según la reivindicación 11, en el que el ácido elágico, sus sales, sus complejos metálicos, sus
- 50 derivados mono- o poli-éteres, mono- o poli-acilados y sus derivados carbonatos o carbamatos que derivan de los grupos hidroxilos se utiliza según cualquiera de las reivindicaciones 5 a 10.

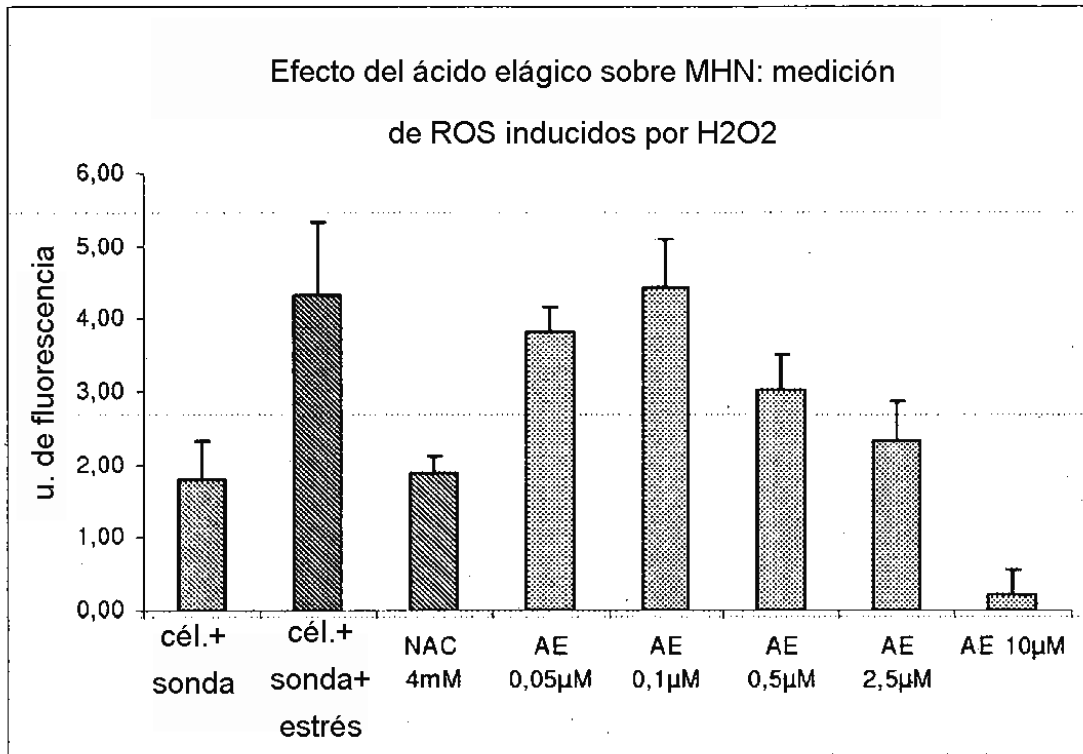


Figura 1

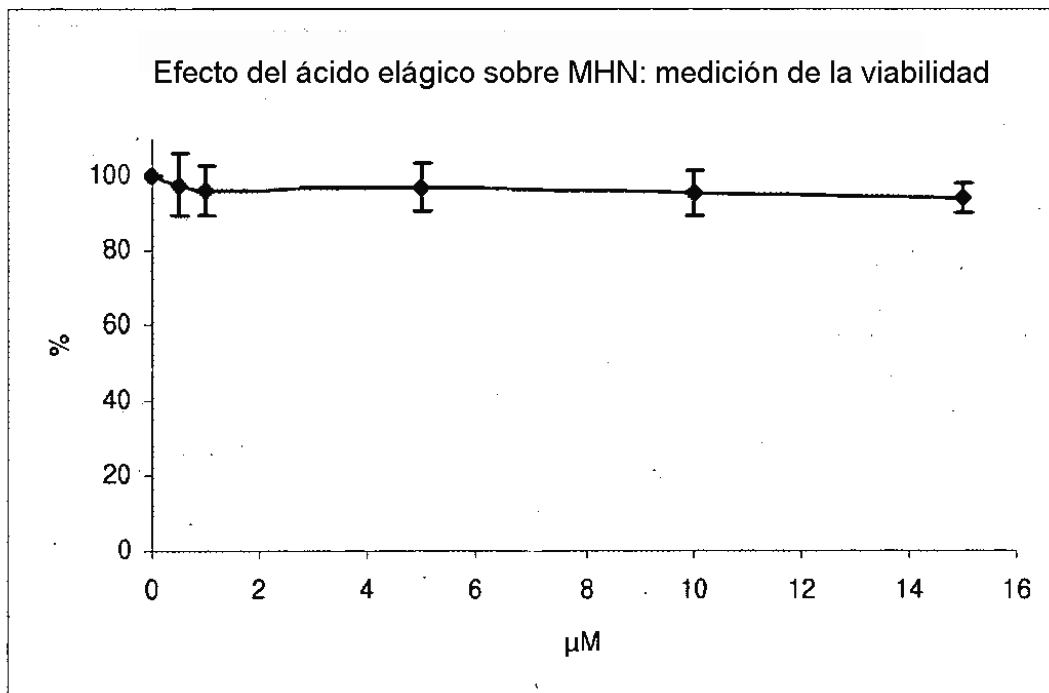


Figura 2

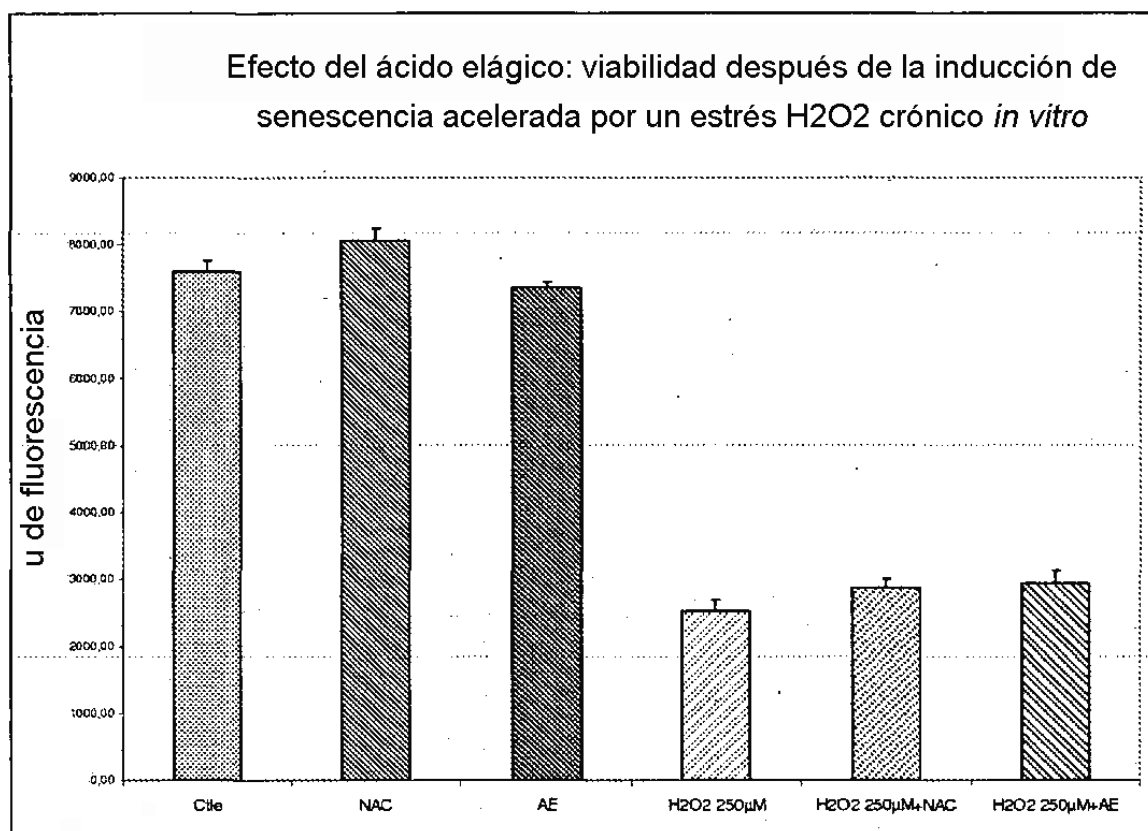


Figura 3