

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 461 791**

51 Int. Cl.:

**A61K 8/99** (2006.01) **A61K 35/74** (2006.01)

**A61Q 19/00** (2006.01) **A61K 36/062** (2006.01)

**A61K 8/60** (2006.01)

**A61Q 19/08** (2006.01)

**A23L 1/30** (2006.01)

**A61K 8/31** (2006.01)

**A61K 9/00** (2006.01)

**A61K 45/06** (2006.01)

**A61K 9/48** (2006.01)

**A61K 31/7048** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.09.2008 E 08163627 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.02.2014 EP 2082731**

54 Título: **Utilización de una combinación de hesperidina y de un microorganismo para actuar sobre la función de barrera de la piel**

30 Prioridad:

**04.09.2007 FR 0757346**

**04.09.2007 FR 0757350**

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

**21.05.2014**

73 Titular/es:

**L'ORÉAL (50.0%)**

**14, rue Royale**

**75008 Paris, FR y**

**NESTEC S.A. (50.0%)**

72 Inventor/es:

**GUENICHE, AUDREY y**

**CASTIEL, ISABELLE**

74 Agente/Representante:

**TOMAS GIL, Tesifonte Enrique**

ES 2 461 791 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 una combinación de hesperidina y de un microorganismo para actuar sobre la función de barrera de la piel

- 5 [0001] La presente invención se refiere a la utilización, particularmente cosmética, de una combinación/asociación, dicha combinación está destinada a prevenir una disminución de y/o reforzar la función barrera de la piel y en particular a prevenir y/o tratar los desórdenes asociados, y particularmente la sequedad cutánea.
- 10 [0002] La presente invención se refiere igualmente a la prevención y/o el tratamiento de los signos cutáneos del envejecimiento, particularmente de aquellos inducidos o exacerbados por la contaminación.
- [0003] La piel humana consiste en dos compartimentos, a saber un compartimento profundo, la dermis y un compartimento superficial, la epidermis.
- 15 [0004] Ella constituye una barrera contra las agresiones exteriores, particularmente químicas, mecánicas o infecciosas, y en este aspecto un cierto número de reacciones defensa contra los factores medioambientales (clima, rayos UV, tabaco, ...) y/o los xenobióticos, como por ejemplo los microorganismos, se producen a su nivel. Esta propiedad, llamada función barrera, está principalmente asegurada por la capa la más superficial de la epidermis, a saber la capa córnea, llamada el *stratum corneum*.
- 20 [0005] Las células que constituyen la epidermis (mayoritariamente los queratinocitos, pero también los melanocitos y las células de Langerhans) se delimitan por una estructura lipídica intercelular. Cada uno de estos tipos celulares contribuye por sus funciones propias a la función esencial en el organismo por la piel. En particular, los queratinocitos sufren un proceso de maduración continuo y orientado que, de los queratinocitos situados en la capa basal de la epidermis, llega a la formación de corneocitos, que son las células muertas totalmente queratinizadas constituidas por queratinocitos en la fase terminal de su diferenciación.
- 25 [0006] Durante la diferenciación, los fosfolípidos cuya función consiste en elaborar la estructura fluida de las membranas celulares de las capas vivas de la epidermis, son poco a poco reemplazados por una mezcla compuesta principalmente por ácidos grasos, de colesterol y de esfingolípidos (ceramidas). Estos lípidos, que son organizados en fases cristalinas líquidas laminares específicas, forman el cemento intracelular del estrato córneo y son esenciales para los intercambios en agua y la función barrera de la epidermis. De este modo, la estructura laminar de los lípidos del dominio lipídico de la epidermis y los corneocitos participan en la función barrera epidérmica.
- 30 [0007] Es evidente que la calidad de la barrera cutánea y de las mucosas es dependiente de mecanismos biológicos endógenos complejos que implican muchos factores de crecimiento, moléculas de adhesión, hormonas y enzimas del metabolismo lipídico.
- 35 [0008] De este modo una alteración de la barrera cutánea puede producirse en presencia de agresiones externas de tipo agentes irritantes (detergenes, ácidos, bases, oxidantes, reductores, solventes concentrados, gas o humos tóxicos), solicitudes mecánicas (rozamientos, choques, abrasión, arrancamiento de la superficie, proyección de polvos, de partículas, afeitado o depilación), desequilibrios térmicos o climáticos (frío, sequedad, radiaciones), xenobióticos (microorganismos indeseables, alérgenos) o de agresiones internas de tipo estrés psicológico.
- 40 [0009] Esta alteración de la barrera cutánea puede particularmente traducirse por un malestar cutáneo, fenómenos sensoriales y particularmente fenómenos desagradables o aún una sequedad cutánea, que puede ser particularmente medida por la pérdida insensible en agua. El hombre puede entonces experimentar una sensación de malestar cutáneo que puede manifestarse particularmente a través de hormigueos, tirantez, una sensación de tensión, de calentamiento, y/o de pruritos.
- 45 [0010] Estas sensaciones de malestar cutáneo son más frecuentes en las zonas más expuestas del organismo, a saber las manos, los pies, la cara, y el cuero cabelludo.
- 50 [0011] Ellas pueden ocurrir particularmente sobre las zonas sometidas a ciertas acciones de higiene diaria o frecuentemente renovadas tales como el afeitado, la depilación, la limpieza a través de productos de aseo o de productos domésticos, la aplicación de adhesivos (apósitos, parches, fijación de prótesis) o en el caso de acciones deportivas, profesionales o sencillamente ligadas al modo de vida y a la utilización de ropas, de herramientas o de equipos generándose los rozamientos localizados. Ellas pueden igualmente ser amplificadas por el estrés psicológico.
- 55 [0012] Las sensaciones de malestar cutáneo, los fenómenos sensoriales o de nuevo la sequedad cutánea, conciernen las personas teniendo todo tipo de pieles, normal e incluso graso, y particularmente:
- 60 - las personas con piel denominada « frágil » o « delicada » y vulnerable a los factores exteriores y a menudo acompañada de eritema y de rosácea, desequilibrándose rápidamente, por ejemplo, en el momento de variaciones de la temperatura o de la humedad relativa de grande amplitud (caso de las pieles de bebé por ejemplo);
- 65

- las personas con piel denominada "debilitada", reagrupándose particularmente:

- Las personas cuyo metabolismo cutáneo disminuye y particularmente cuya película hidro-lipídica protectora compuesta por sudor, sebo y factores de hidratación natural se rarifica, como es el caso de las personas mayores de 60 años y particularmente en el contexto de la edad avanzada (al menos 75 años). Se califica estas pieles como « pieles seniles »;
- Las personas cuya composición de la película hidro-lipídica es modificada, como es el caso de las personas diabéticas, o dializadas, o alcanzadas por ciertas enfermedades, tal y como la xerosis vulgar (de origen genético probable y manifestándose de forma prioritaria sobre la cara, los miembros y el dorso de las manos).

[0013] Se podrá igualmente hablar de personas con piel « agredida » para las pieles afeitadas por ejemplo.

[0014] Se trata por lo tanto de prevenir una disminución de y/o reforzar la función barrera cutánea para:

- prevenir y/o disminuir las sensaciones de malestar cutáneo, de hormigueos, tirantez, calentamientos y pruritos, en particular en las personas con piel frágil o delicada (por ejemplo los bebés); o las personas con piel debilitada (tales como las personas mayores de por lo menos 60 años y en particular las personas de por lo menos 75 años), o las personas cuya composición de la película hidro-lipídica es modificada, como es el caso de las personas diabéticas, o dializadas, o alcanzadas por ciertas enfermedades,

- y/o mejorar la función barrera cutánea de pieles atópicas y/o prolongar las fases de remisión entre las crisis agudas de este tipo de afección.

[0015] Se trata igualmente de prevenir una disminución y/o reforzar la función barrera cutánea para:

- tratar los estados de sequedad cutánea, los estados escamosos; particularmente los estados peliculares;

- tratar las pieles secas, particularmente las pieles secas hipo-seborreicas;

- tratar los pruritos y/o tirantez asociados a las pieles secas;

- tratar los desórdenes cutáneos ligados a un defecto de excreción y/o de secreción de sebo;

- restaurar fisiológicamente un estado de hidratación aceptable al estrato córneo;

- tratar las fibras queratínicas secas;

- tratar los desórdenes funcionales de la unidad pilosebácea;

- prevenir y/o reducir las arrugas ligadas a una sequedad cutánea;

- mejorar el confort de las pieles y cueros cabelludos secos;

- luchar contra el aspecto opaco y/o atonal de la piel y/o de los cabellos, consecuencias de su deshidratación.

[0016] Por cuanto concierne a una forma más particular la sequedad cutánea, ella se manifiesta esencialmente por una sensación de tirantez y/o de tensión. Cuando una piel padece de sequedad, ésta es también rugosa al tocar y aparece cubierta de escamas. Cuando la sequedad cutánea es ligera, estas escamas son abundantes pero poco visibles a simple vista. Ellas son cada vez menos numerosas pero cada vez más visibles a simple vista cuando este desorden se agrava.

[0017] La sequedad cutánea puede igualmente estar asociada a una tasa baja de los índices de hidratación de la barrera cutánea y puede particularmente ser evaluada por corneometría.

[0018] El origen de esta sequedad cutánea puede ser de tipo constitucional o adquirida.

[0019] Además, en el curso del tiempo, aparecen diferentes signos sobre la piel, muy característicos del envejecimiento intrínseco, traduciéndose particularmente por una modificación de la estructura y de las funciones cutáneas.

[0020] Otro componente del envejecimiento es de origen exógeno (Yaar y Gilchrest, J Invest Dermatol, 1998). De hecho, el envejecimiento puede ser acelerado a través de factores medioambientales tales como una exposición repetida de la piel a la luz solar, y particularmente a las radiaciones ultravioletas A y B, o a la contaminación. De este modo, diferentes tipos de productos químicos, xenobióticos y partículas de la contaminación urbana. Entre estos compuestos, tres grandes categorías de polucionantes pueden ejercitar los efectos deletéreos sobre la piel: el gas, los metales pesados y las partículas, que son los residuos de combustión sobre las cuales son adsorbidos muchos compuestos orgánicos.

[0021] Por otra parte, en la contaminación urbana, la exposición concomitante a O<sub>3</sub> y a los UV puede causar un estrés oxidativo sinérgico.

5 [0022] Igualmente, se puede pensar que existe una sinergia de acción entre el ozono y los compuestos orgánicos resultantes de la combustión.

10 [0023] Por razones evidentes, se busca por lo tanto de manera permanente mejorar la resistencia de la piel contra el gas, los metales pesados, los compuestos orgánicos residuos de combustión y sus efectos deletéreos - maximizados por los rayos UV - encontrados particularmente en la contaminación urbana, actuando de manera aislada o combinada, y de hecho para ralentizar los signos de irritación, de envejecimiento y/o del fotoenvejecimiento, particularmente inducidos por la alteración tisular inducida por dichos contaminantes.

15 [0024] También, la utilización de sustancias que tengan la capacidad de proteger las células de la piel y la matriz extracelular contra las agresiones anteriormente mencionadas podría igualmente reducir los signos y alteraciones ligadas al envejecimiento y/o al fotoenvejecimiento, particularmente aquellos inducidos o exacerbados por la contaminación.

20 [0025] En este contexto, los inventores han descubierto que la asociación de hesperidina, de hesperitina o de glucurónido de hesperitina y de por lo menos un microorganismo probiótico de la especie *Lactobacillus paracasei*, o de una de las sus fracciones era capaz de prevenir una disminución y/o de reforzar la función barrera de la piel.

25 [0026] En particular, se mostró que una tal asociación resulta particularmente eficaz para prevenir y/o tratar los estados de sequedad cutánea y en particular los estados de sequedad cutánea adquirida y/o constitucional.

[0027] Este hallazgo se basa en la observación, por los inventores, de una eficacia de la asociación considerada para tratar la sequedad de las materias queratínicas y trastornos asociados.

30 [0028] En particular, los inventores han descubierto que la asociación considerada según la invención podía permitir prevenir y/o limitar significativamente la deshidratación de la piel.

[0029] De este modo, ellos han más precisamente evidenciado que una tal asociación resulta particularmente eficaz para prevenir y/o tratar las pieles secas, y aún más particularmente las pieles secas adquiridas y/o las pieles secas constitucionales.

35 [0030] En el caso de una sequedad cutánea adquirida, la intervención de parámetros exteriores tales como la exposición a los agentes químicos, a las condiciones climáticas difíciles, a los rayos solares o también ciertos tratamientos terapéuticos (retinoides, por ejemplo) es determinante. Bajo estas influencias exteriores, la piel puede hacerse entonces momentáneamente y localmente seca.

40 [0031] En el caso de una sequedad cutánea constitucional, se pueden distinguir dos categorías: la sequedad cutánea patológica y no patológica.

45 [0032] La sequedad cutánea constitucional patológica está esencialmente representada por la dermatitis atópica y la ictiosis. Ella es casi independiente de las condiciones exteriores.

[0033] La dermatitis atópica se describe como asociada a un déficit en el metabolismo de los lípidos del estrato córneo, y particularmente de las ceramidas. Esta patología se presenta bajo la forma de una xerosis más o menos crónica con relación a una grande extensión del cuerpo, asociada a las recaídas inflamatorias y pruriginosas por placas.

50 [0034] Las ictiosis son las patologías caracterizadas por un déficit genético que afecta el proceso de queratinización a diferentes estadios. Ellas se manifiestan por una descamación importante por placas.

55 [0035] La sequedad cutánea constitucional no patológica caracteriza las pieles secas cuya severidad puede depender de los factores exteriores ya evocados.

[0036] La utilización de flavonoides, de los que la hesperidina, para aumentar la proliferación celular, y tratar particularmente las cicatrices, es ya conocida de WO 03/057210.

60 [0037] WO 2005/058255 describe también la acción de flavanonas específicas, de las que hesperidina, para tratar los trastornos de la piel y de los cabellos, en particular a través de las propiedades citoprotectoras y antiinflamatorias de estos.

65 [0038] FR 2 802 088 y DE 1 980 68 90 describen por su parte las propiedades de un extracto de citrus dosificado en hesperidina para restablecer o mantener el lustre de la piel o de los cabellos.

[0039] Además, se conoce la puesta en práctica de los microorganismos para la cura y/o el tratamiento de materias queratínicas.

5 [0040] El documento WO 02/28402 divulga la puesta en marcha de microorganismos probióticos para regular las reacciones de hipersensibilidad cutánea, como las reacciones inflamatorias y alérgicas, que pertenecen a un proceso inflamatorio.

[0041] WO 03/070260, por su parte, describe que tales microorganismos pueden ser útiles con el fin de fotoprotección de la piel.

10 [0042] Sin embargo, la asociación de hesperidina con un microorganismo no se describe.

[0043] EP 0 774 249 divulga el efecto de una combinación de flavanonas específicas por una parte y de una combinación de flavanonas específicas con una ceramida particular por otra parte, sobre la diferenciación de los queratinocitos.

15 [0044] El documento WO 2006/037 922 apunta en cuanto a él composiciones dedicadas al tratamiento de las pieles sensibles, poniendo en práctica una asociación de dos microorganismos.

20 [0045] Por lo que se refiere a FR 2 872 047, describe la asociación de un microorganismo probiótico con un catión mineral bivalente.

[0046] Finalmente, FR 2 889 057 divulga una composición tópica que incluye un microorganismo en asociación con un ácido graso poliinsaturado y/o éster de ácido graso poliinsaturado, útil para el tratamiento de las pieles sensibles.

25 [0047] La asociación de una cantidad eficaz de hesperidina, de hesperitina o de glucurónido de hesperitina y de una cantidad eficaz de por lo menos un microorganismo probiótico de la especie *Lactobacillus paracasei*, o de una de sus fracciones, no ha sido hasta ahora nunca utilizado de este modo para prevenir una disminución de y/o para reforzar la función barrera de la piel, y en particular para prevenir y/o tratar los desórdenes asociados a la sequedad cutánea.

30 [0048] Por la prevención de una disminución y/o el refuerzo de la función barrera cutánea inducida por la administración de una asociación según la invención, todas las pieles y en particular las pieles frágiles o debilitadas (por ejemplo las pieles de bebé, de personas de por lo menos 60 años, preferiblemente de por lo menos 75 años, de personas diabéticas, o dializadas), o que padecen de sequedad están mejor protegidas contra las agresiones exteriores, químicas, mecánicas, o infecciosas.

35 [0049] Los inventores han en particular demostrado sobre un modelo de piel reconstruida una mejora de la función barrera de la piel después del tratamiento de dicha piel por la asociación según la invención.

40 [0050] La invención se refiere de este modo según un primer de sus aspectos, a la utilización cosmética de por lo menos una cantidad eficaz de hesperidina, de hesperitina o de glucurónido de hesperitina en asociación con al menos una cantidad eficaz de por lo menos un microorganismo probiótico de la especie *Lactobacillus paracasei*, o una de sus fracciones, como agente para prevenir una disminución de y/o reforzar la función barrera de la piel, y en particular como agente para prevenir y/o tratar los desórdenes asociados a la aridez cutánea.

45 [0051] Ella se refiere a igualmente la utilización cosmética de una cantidad eficaz de hesperidina, de hesperitina o de glucurónido de hesperitina en asociación con al menos una cantidad eficaz de por lo menos un microorganismo probiótico de la especie *Lactobacillus paracasei*, o de una de sus fracciones, como agente para prevenir y/o tratar los estados de sequedad cutánea.

50 [0052] Ella se refiere a también la utilización cosmética de una cantidad eficaz de hesperidina, de hesperitina o de glucurónido de hesperitina en asociación con al menos una cantidad eficaz de por lo menos un microorganismo probiótico de la especie *Lactobacillus paracasei*, o de una de sus fracciones, como agente para prevenir y/o tratar las pieles secas, y en su caso los desórdenes asociados.

55 [0053] Ella apunta también la utilización de una cantidad eficaz de hesperidina, de hesperitina o de glucurónido de hesperitina en asociación con al menos una cantidad eficaz de por lo menos un microorganismo probiótico de la especie *Lactobacillus paracasei*, o de una de sus fracciones, para la preparación de una composición, particularmente cosmética y/o dermatológica, destinada a prevenir y/o tratar los estados de sequedad cutánea adquirida y/o constitucional patológica elegida entre la dermatitis atópica o la ictiosis.

60 [0054] La asociación considerada según la invención permite de este modo asegurar el mantenimiento de la función barrera de la piel a su nivel de eficacia normal, es decir el nivel al cual ella asegura su función de protección del organismo.

65 [0055] Al sentido de la invención, la expresión « reforzar la función barrera de la piel » significa mejorar la función

barrera de la piel.

5 [0056] Esta mejora es en particular determinante cuando la función barrera de la piel se altera y es necesario restablecerla. Esta alteración de la piel puede particularmente estar debida a un estado de sequedad de las materias queratínicas y en particular de sequedad cutánea.

10 [0057] Ella puede ser igualmente ventajosa cuando se desea consolidar la función barrera nativa de la piel, a fin de conferir particularmente al organismo una mejor resistencia a las agresiones exteriores frente las cuales es susceptible de estar expuesto.

15 [0058] La invención se refiere igualmente, según otro de sus aspectos, a la utilización cosmética de por lo menos una cantidad eficaz de hesperidina, de hesperitina o de glucurónido de hesperitina en asociación con al menos una cantidad eficaz de por lo menos un microorganismo probiótico de la especie *Lactobacillus paracasei*, o una de sus fracciones, como agente para reforzar la protección de la piel frente de agresiones exteriores.

20 [0059] En particular, dicha asociación y/o una composición que contiene tal asociación se pueden destinar a prevenir y/o disminuir una incomodidad cutánea de una piel, en particular inducida por un estrés exógeno de origen químico, medioambiental, mecánico y/o un estrés endógeno, en particular de una piel frágil y/o debilitada y/o que padece de sequedad, tales como definidas previamente.

[0060] La incomodidad cutánea puede ser particularmente caracterizado a través de tirantez, picores, calentamientos y/o de los pruritos.

25 [0061] Según otra forma de realización, dicha asociación y/o una composición que contiene tal asociación se pueden destinar a prevenir una disminución de y/o reforzar la función barrera de una piel elegida entre una piel frágil, particularmente atópica, una piel debilitada, una piel agredida y/o que padece de sequedad.

30 [0062] En el campo de la invención, la asociación según la invención se puede utilizar para la aplicación sobre la piel sana, sometida o que puede estar sometida a la influencia de agentes tales como agentes climáticos y y así susceptible de manifestar una incomodidad cutánea. En otros casos particulares, la asociación de la invención se puede aplicar sobre la piel cuando esta presenta las señales clínicas de déficit de la barrera cutánea, por ejemplo las pieles atópicas.

35 [0063] La asociación según la invención o una composición conteniendo tal asociación según la invención pueden particularmente estar destinadas a prolongar las fases de remisión entre las crisis agudas de afecciones dermatológicas, por ejemplo de tipo atopia.

40 [0064] Más aún esta prevención de una disminución de y/o este refuerzo de la función barrera cutánea permite volverla más resistente, particularmente a los polucionantes y a las radiaciones solares, y, de hecho, de proteger los tejidos vivos de la piel contra los efectos deletéreos - maximizados por las UV - del gas, de los metales pesados y de los compuestos orgánicos residuos de combustión.

45 [0065] Los inventores han de este modo descubierto que la asociación considerada según la invención podía manifestar ventajosamente una actividad protectora a nivel de la función barrera cutánea y permitir de este modo limitar la penetración de los diversos polucionantes y aumentar la resistencia de la piel a las agresiones.

[0066] Ha sido igualmente constatado de este modo que una composición que incluye la asociación considerada según la invención permite preservar y proteger la piel contra los efectos nocivos de la contaminación.

50 [0067] Los inventores han además igualmente constatado que la utilización de la asociación considerada según la invención resulta particularmente eficaz, en particular para el adulto, para el tratamiento de las señales cutáneas del envejecimiento y/o del fotoenvejecimiento de la piel provocados por una deficiencia de la función barrera, y, particularmente inducidos o exacerbados por la contaminación, protegiendo la función barrera de la piel.

55 [0068] De este modo la presente invención se refiere a, según otro de sus aspectos, una composición cosmética y/o dermatológica, particularmente útil para prevenir una disminución de y/o reforzar la función barrera de la piel, y en particular para prevenir y/o tratar las señales cutáneas del envejecimiento y/o del fotoenvejecimiento, en particular aquellos inducidos o exacerbados por la contaminación, y/o desórdenes asociados a la sequedad cutánea que incluye, en un soporte fisiológicamente aceptable, al menos una cantidad eficaz de hesperidina, de hesperitina o de glucurónido de hesperitina en asociación con al menos una cantidad eficaz de por lo menos un microorganismo de la especie *Lactobacillus paracasei*, probiótico o una de sus fracciones.

60 [0069] La presente invención se refiere igualmente a la utilización cosmética de por lo menos una cantidad eficaz de hesperidina o de uno de sus derivados en asociación con al menos una cantidad eficaz de por lo menos un microorganismo, particularmente probiótico o una de sus fracciones, como agente para prevenir y/o tratar las señales cutáneas del envejecimiento en particular inducidas o exacerbadas por la contaminación.

65

5 [0070] La presente invención se refiere a igualmente, según otro de los sus aspectos, un procedimiento de tratamiento cosmético de la piel destinada a prevenir una disminución de y/o reforzar la función barrera de la piel, que incluye la administración de por lo menos una cantidad eficaz de hesperidina, de hesperitina o de glucurónido de hesperitina en asociación con al menos una cantidad eficaz de por lo menos un microorganismo probiótico de la especie *Lactobacillus paracasei*, o una de sus fracciones.

10 [0071] La presente invención se refiere también, según otro de sus aspectos, a un procedimiento de tratamiento cosmético para prevenir y/o tratar los desórdenes asociados a la sequedad adquirida o constitucional no patológica de la piel, que incluye la administración, por ejemplo a un sujeto que presenta una piel seca, de por lo menos una cantidad eficaz de hesperidina, de hesperitina o de glucurónido de hesperitina en asociación con al menos una cantidad eficaz de por lo menos un microorganismo probiótico de la especie *Lactobacillus paracasei*, o una de sus fracciones.

15 [0072] La presente invención se refiere igualmente, según otro de sus aspectos, a un procedimiento de tratamiento cosmético de las señales cutáneas del envejecimiento particularmente de las señales inducidas o exacerbadas por la contaminación, que incluye la administración de por lo menos una cantidad eficaz de hesperidina, de hesperitina o de glucurónido de hesperitina en asociación con al menos una cantidad eficaz de por lo menos un microorganismo probiótico de la especie *Lactobacillus paracasei*, o una de sus fracciones.

20 [0073] Un procedimiento según la invención puede particularmente comprender al menos una etapa que consiste en aplicar sobre la piel de personas que presentan una piel frágil o delicada y/o sobre la piel de personas que presentan una piel debilitada, en particular la piel de personas de por lo menos 60 años, incluso de por lo menos 75 años, y/o sobre la piel de personas que presentan una piel o una zona de piel agredida, en particular la piel afeitada del rostro o del cuerpo y/o una piel que padece de sequedad, al menos una cantidad eficaz de la asociación según la invención.

25 [0074] Excepto indicación contraria, en el campo de la invención, por piel, se entiende toda superficie cutánea del cuerpo incluyendo la piel y ampliada al cuero cabelludo y a los mucosas y semi-mucosas.

30 [0075] Al sentido de la presente invención, el término « prevenir » pretende el hecho de disminuir el riesgo de que ocurra un fenómeno.

[0076] Al sentido de la invención, la expresión « prevenir una disminución de la función barrera de la piel » significa prevenir toda alteración de dicha función barrera a este lado de su nivel de eficacia natural y que tendría por consecuencia iniciar la manifestación de uno o varios problemas cutáneos tales como se definen previamente.

35 [0077] Por « cantidad eficaz », se entiende al sentido de la presente invención una cantidad suficiente para obtener el efecto esperado.

40 [0078] Por « señales cutáneas del envejecimiento y/o del fotoenvejecimiento de la piel provocadas por una deficiencia de la función barrera », se entiende al sentido de la presente invención las alteraciones del tejido dérmico y/o epidérmico, una piel mate, no flexible, aflojada por la alteración de las fibras elásticas, un aspecto disco de la piel, una pérdida de tonicidad, una alteración del microrelieve de la piel, del oval del rostro, de las discromías ...

[0079] La asociación según la invención se puede formular en composiciones cosméticas o dermatológicas.

45 [0080] Según una forma de realización, la utilización o el procedimiento según la invención puede comprender la aplicación de la asociación según la invención por vía tópica, o la administración oral o parenteral.

50 [0081] Por vía tópica, se pretende una administración de la asociación según la invención o de las composiciones que la comprenden por aplicación sobre la piel tal y como está definida arriba.

[0082] Según otra forma de realización, la utilización o el procedimiento según la invención puede entender la administración de la asociación según la invención por vía aérea o en subcutánea.

55 [0083] La administración en subcutánea puede particularmente ser efectuada a través de una jeringa.

[0084] Como se indica anteriormente, las vías tópicas y orales son previsibles para la puesta en práctica de la invención.

60 [0085] Los productos tópicos actúan sin embargo, por definición, localmente sobre las zonas a tratar, zonas sobre las cuales ellos pueden estar distribuidos de forma desigual, y necesitan las aplicaciones cuidadosas y repetidas. Ellos pueden estar además en cierto caso en el origen de reacciones secundarias cutáneas, incluso de incomodidad.

65 [0086] Por oposición, la vía oral presenta la ventaja de actuar de manera global sobre el conjunto de la piel y este en sus capas profundas (dermis; hipodermis), siguiendo un modo de administración rápido y poco constringente. De hecho, los metabolitos y otros nutrientes activos son en particular distribuidos dentro de la matriz dérmica mediante la circulación sanguínea. La vía oral o la administración por parche presentan igualmente la ventaja de un modo de administración rápido y poco constringente.

[0087] Según una forma de realización preferida, la utilización cosmética según la invención es por lo tanto efectuada por vía oral y el procedimiento según la invención incluye la administración por vía oral de dicha asociación según la invención.

5

**Microorganismos, y particularmente microorganismos probióticos**

[0088] Los microorganismos convenientes a la invención son los microorganismos que se pueden administrar sin riesgos para el animal o el hombre.

10

[0089] El microorganismo es de tipo probiótico.

[0090] Al sentido de la presente invención, se entiende por « microorganismo probiótico », un microorganismo vivo que, cuando este se consume en cantidad adecuada, tiene un efecto positivo sobre la salud de su huésped (« Adjunto FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotic in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria, 6 octubre 2001 »), y que puede en particular mejorar el equilibrio microbiano intestinal.

15

[0091] Según una variante de la invención, este microorganismo es aplicado bajo una forma aislada, es decir no mezclada a uno o varios compuesto(s) susceptible(s) de estarlo asociado(s) en su medio de origen.

20

[0092] Al sentido de la invención, el término « fracción » designa de una forma más particular un fragmento de dicho microorganismo dotado de una eficacia para el tratamiento de las pieles secas por analogía a dicho microorganismo entero.

25

[0093] El microorganismo conveniente a la invención es de la especie *Lactobacillus paracasei*.

[0094] Estos microorganismos se pueden formular al estado de polvos, es decir bajo una forma seca, o en forma de suspensiones o de soluciones.

30

[0095] De una forma más particular, se trata de microorganismos probióticos salidos del grupo de las bacterias lácticas, como particularmente el *Lactobacillus* y/o las *Bifidobacterium*. A título ilustrativo de estas bacterias lácticas, se puede de una forma más particular citar el *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus casei* o *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium adolescentis* o *Bifidobacterium pseudocatenulatum* y sus mezclas, y preferiblemente el *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei*, y sus mezclas.

35

[0096] Según una forma de realización, el microorganismo probiótico es la cepa *Lactobacillus paracasei* depositada según el tratado de Budapest con el instituto Pasteur (28 rue du Doctor Roux, F-75024 Paris cedex 15) el 12/01/99 bajo la designación CNCM I-2116.

40

[0097] Según una forma de realización particular, la asociación según la invención puede comprender al menos dos microorganismos o fracciones de estos, diferentes. El o los microorganismo(s) puede(n) estar incluidos en la composición según la invención bajo una forma viva, medio activa o inactivada, muerta.

45

El(los) puede(n) igualmente estar incluidos en forma de fracciones de componentes celulares. El o los microorganismo(s) o fracción(fracciones) puede(n) igualmente estar introducido(s) bajo la forma de un polvo liofilizado, de un sobrenadante de cultivo y/o en su caso bajo una forma concentrada.

[0098] De una manera general, las composiciones según la invención pueden incluir de 0,00001 a 20 % en peso, en particular de 0,001 a 20 % en peso y de una forma más particular de 0,01 a 10 % en peso de microorganismo(s), particularmente probiótico(s), respecto al peso total de la composición.

50

[0099] Puede ser ventajoso poner en práctica estos microorganismos en forma inactivada, incluso muerta, y de una forma más particular en forma de un lisado.

55

[0100] Un tal lisado puede ser obtenido a partir de la lisis celular del microorganismo concernido, según un método convencional.

[0101] El(los) microorganismo(s) probiótico(s) en forma de lisado en suspensión desintegrado puede(n) estar formulado(s) en un soporte apropiado a razón de menos de 20 % en peso, en particular a razón de 0,0001 a 20 % en peso, y de una forma más particular a razón de 0,01 a 10 % en peso respecto al peso total de dicho soporte.

60

[0102] Cuando estos están vivos, los microorganismos y/o sus fracciones se pueden formular en un soporte apropiado en una cantidad equivalente a al menos  $10^3$  ufc/g, en particular a las dosis variando de  $10^5$  a  $10^{15}$  a ufc/g, y de una forma más particular de  $10^7$  a  $10^{12}$  a ufc/g de soporte.

65



[0103] También, las composiciones según la invención comprenden habitualmente de  $10^3$  a  $10^{12}$  a ufc, en particular de  $10^5$  a  $10^{10}$  ufc y de una forma más particular de  $10^7$  a  $10^9$  ufc de microorganismos vivos particularmente probióticos por gramo de soporte.

5

**Hesperidina y sus derivados**

[0104] La hesperidina pertenece a la familia de las flavanonas, que son los compuestos glucósidos naturales recobrados principalmente en los cítricos, es decir los frutos del género *Citrus*, tales como por ejemplo las naranjas, los limones, las naranjas amargas o de nuevo las uvas.

10

[0105] Ellas están presentes mayoritariamente en la piel de los cítricos pero son igualmente recobradas en grandes cantidades en la pulpa, y por lo tanto en el jugo de los cítricos.

[0106] La hesperidina es un compuesto glucosilado que incluye un núcleo flavanona de hesperitina (3',5',5-trihidroxi- 4'-metoxiflavanona) al cual está ligado de manera covalente una parte glucosídica de rutinosa L-ramnosil-( $\alpha$  1 $\rightarrow$ 6)-glucosa) fijada sobre el grupo hidroxilo presente sobre el carbono en posición 7 de la hesperitina.

15

[0107] Por hesperidina, se entiende de este modo el compuesto (S)-7[[6-O-(6-deoxi- $\alpha$ -L-manopiranosil)- $\beta$ -D-glucopiranosil]oxi]-2,3-dihidro-5-hidroxi-2-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-4H-1-benzopiran-4-ona.

20

[0108] El compuesto hesperetina que consiste en núcleo flavanona no glicosilado de la hesperidina, tiene la fórmula siguiente: (S)-2,3-dihidro-5,7-dihidroxi-2-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-4H-1-benzopiran-4-ona; 3',5,7-trihidroxi-4'-metoxi flavanona;

25

[0109] El conjugado de hesperetina y de glucurónido, es recobrado, con la hesperetina, como producto del metabolismo de la hesperidina en la circulación sanguínea.

[0110] En general, la cantidad eficaz de hesperidina o unos de sus derivados según la invención se puede utilizar en una proporción de 0,00001 a 20 % en peso, por ejemplo de 0,001 a 10 % en peso, incluso de 5 % a 10 % en peso respecto al peso total de una composición que lo contiene.

30

[0111] De manera general, en los procedimientos y utilizaciones según la invención, la dosis de hesperidina o unos de sus derivados según la invención se efectúa de manera que se administre, particularmente por vía oral, entre 100 mg y 1000 mg, preferiblemente entre 200 mg y 800 mg, preferiblemente entre 300 mg y 600 mg y aproximadamente 500 mg de hesperidina o uno de sus derivados, por persona y por día.

35

[0112] Ventajosamente, una composición según la presente invención, particularmente para una administración oral, contiene una cantidad de hesperidina o uno de sus derivados según la invención comprendida entre 100 mg y 800 mg, preferiblemente entre 200 mg y 800 mg, preferiblemente entre 300 mg y 600 mg y aproximadamente 500 mg.

40

[0113] Tal composición puede particularmente presentarse en forma de una cápsula o parecido.

[0114] Las composiciones según la invención pueden presentarse en todas las formas galénicas normalmente disponibles para el modo de administración adoptado.

45

[0115] El soporte puede ser de diversos tipos según el tipo de composición considerado.

[0116] En lo que se refiere a una forma más particular las composiciones destinadas a una administración por vía tópica externa es decir sobre la piel, puede tratarse de soluciones acuosas, hidroalcohólicas o aceitosas, de dispersiones del tipo de soluciones o dispersiones del tipo loción o suero, de emulsiones de consistencia líquida o semi-líquida del tipo leche, de suspensiones o emulsiones, del tipo crema, de gel acuoso o anhidro, de microemulsiones, de microcápsulas, de micropartículas, o de dispersiones vesiculares de tipo iónico y/o no iónico.

50

[0117] Estas composiciones se preparan según los métodos usuales.

55

[0118] De manera conocida, las formas galénicas dedicadas a una administración tópica pueden contener igualmente adyuvantes habituales en el dominio cosmético, farmacéutico y/o dermatológico, tales como gelificantes hidrófilos o lipófilos, gelificantes activos hidrófilos o lipófilos, conservantes, antioxidantes, solventes, perfumes, cargas, filtros, bactericidas, absorbentes de olor y materias colorantes. Las cantidades de estos diferentes adyuvantes son aquellas habitualmente utilizadas en el dominio considerado, y por ejemplo de 0,01 a 20 % del peso total de la composición. Estos adyuvantes, según su naturaleza, se pueden introducir en la fase grasa y/o en la fase acuosa.

60

[0119] Como materias grasas utilizables en la invención, se pueden citar los aceites minerales como por ejemplo el poliisobuteno hidrogenado y el aceite de vaselina, los aceites vegetales como por ejemplo una fracción líquida de la manteca de karité, aceite de girasol y de almendras de damasco, los aceites animales como por ejemplo el

65

perhidroescualeno, los aceites de síntesis particularmente el aceite de Purcellin, el miristato de d'isopropyle y el palmitato de etil hexilo, los ácidos grasos insaturados y los aceites fluorados como por ejemplo los perfluoropoliéteres. Se pueden también utilizar los alcoholes grasos, los ácidos grasos como por ejemplo el ácido esteárico y como por ejemplo las ceras particularmente de parafina, carnauba y la cera de abejas. Se pueden también utilizar los compuestos siliconados como los aceites siliconados y por ejemplo la ciclometicona y dimeticona, las ceras, las resinas y los cauchos de silicona.

[0120] Como emulsionantes utilizables en la invención, se pueden citar por ejemplo el estearato de glicerol, el polisorbato 60, la mezcla alcohol cetilesteárico/alcohol cetilsteárico oxietileno a 33 moles de óxido de etileno vendido con la denominación Sinnowax AO<sup>®</sup> a por la sociedad HENKEL, la mezcla de PEG-6/PEG-32/Glicol Estearato vendido bajo la denominación de Tefose<sup>®</sup> 63 por la sociedad GATTEFOSSE, el PPG-3 miristil éter, los emulsionantes siliconados tales como la cetildimeticona copoliol y el mono- o triestearato de sorbitano, el estearato de PEG-40, el monoestearato de sorbitano oxietileno (20OE).

[0121] Como solventes utilizables en la invención, se pueden citar los alcoholes inferiores, particularmente el etanol y el Isopropanol, el propilenglicol.

[0122] La composición de la invención puede igualmente contener de manera ventajosa una agua termal y/o mineral, particularmente elegida entre el agua de Vittel, las aguas de la cuenca de Vichi y el agua de la Roche Posay.

[0123] En el caso de una utilización conforme a la invención por vía oral, se privilegia la utilización de un soporte ingerible.

[0124] El soporte ingerible puede ser de diversos tipos según el tipo de composición considerada.

[0125] Conviene de este modo particularmente como soportes nutricionales o farmacéuticos los comprimidos o las tabletas, los suplementos orales en forma seca y los suplementos orales en forma líquida.

[0126] Puede por ejemplo tratarse de complementos alimenticios, cuya formulación se puede realizar por los procedimientos usuales para producir particularmente de las grageas, cápsulas, geles, emulsiones, comprimidos, cápsulas e hidrogeles que permiten una liberación controlada.

[0127] En particular, la combinación según la invención se puede incorporar en todas otras formas de complementos alimenticios o de alimentos fortificados, por ejemplo barras alimenticias o polvos, compactados o no. Los polvos se pueden diluir en agua, en refrescos, en productos lácteos o derivados de la soja, o ser incorporadas en barras de comida.

[0128] La combinación según la invención se puede adicionalmente formular con los excipientes y componentes usuales para dichas composiciones orales o complementos alimenticios, a saber particularmente componentes grasos y/o acuoso, agentes humectantes, espesantes, conservantes, agentes de textura, de sabor y/o de revestimiento, antioxidantes, conservantes y colorantes usuales en el dominio de la alimentación.

[0129] Los agentes de formulación y excipientes para composición oral, y particularmente para complementos alimenticios, se conocen en este dominio y no hacen aquí el objeto de una descripción detallada.

[0130] Conviene particularmente como soportes nutricionales o farmacéuticos, la leche, el yogur, el queso, las leches fermentadas, los productos fermentados a base de leche, los helados, productos a base de cereales o productos a base de cereales fermentados, los polvos a base de leche, fórmulas para niños y bebés, los productos alimenticios de tipo confitería, chocolate, cereales, alimentos para animales en particular domésticos, los comprimidos, cápsulas o tabletas, las suspensiones de bacterias líquidas, los suplementos orales en forma seca y los suplementos orales en forma líquida.

[0131] Sea cual sea el modo de administración considerado, la combinación según la invención puede igualmente ser ventajosamente asociada con al menos otro activo.

[0132] Como activos utilizables, se pueden citar, las vitaminas A, B3, B5, B6, B8, C, D, E, o PP, los curcuminoides, los carotenoides, los compuestos polifenoles y minerales, los azúcares, los aminoácidos, los aminoácidos sulfurados, los ácidos grasos poliinsaturados 3 y 6, la taurina y los fitosteroles.

[0133] En particular, se puede utilizar un complejo antioxidante que incluye las vitaminas C y E, y al menos un carotenoide, particularmente un carotenoide elegido entre el β-caroteno, el licopeno, la astaxantina, la zeaxantina y la luteína, los flavonoides tales como las catequinas, las proantocianidinas, las antocianinas, las ubiquinonas, los extractos de café con los polifenoles y/o de los diterpenos, los extractos de achicoria, los extractos de ginkgo biloba, los extractos de uvas ricos en proantocianidinas, los extractos de pimiento, los extractos de soja, otras fuentes de flavonoides que poseen propiedades antioxidantes, los ácidos grasos, los prebióticos, la taurina, el resveratrol, los aminoácidos del selenio, los precursores de glutatión.

[0134] Entre los flavonoides, se eligen preferiblemente las catequinas y las OPC (oligoméricos procinidólicos).

[0135] En las formas galénicas tópicas, se puede utilizar de una forma más particular como activos hidrófilos las proteínas o los hidrolizados de proteína, los aminoácidos, los polioles particularmente en C<sub>2</sub> a C<sub>10</sub> como la glicerina, sorbitol, butilenglicol y polietilenglicol, la urea, la alantoína, los azúcares y los derivados de azúcar, las vitaminas hidrosolubles, el almidón, los extractos bacterianos o vegetales como aquellos de Aloe Vera.

[0136] En cuanto a los activos lipófilos, se puede utilizar el retinol (vitamina A) y sus derivados, el tocoferol (vitamina E) y sus derivados, las ceramidas, los aceites esenciales y los insaponificables (tocotrienol, sesamina, gama orizanol, fitoesteroles, escualenos, ceras, terpenos).

[0137] Como activos igualmente susceptibles de ser asociados a la combinación según la invención, convenientes por la vía tópica pero de una forma más particular adaptados a una fórmula galénica oral, se puede igualmente considerar todos los ingredientes comúnmente utilizados y/o autorizados, particularmente los agentes activos destinados a la prevención y/o al tratamiento de las afecciones cutáneas.

[0138] A título ilustrativo, se pueden citar las vitaminas, los minerales, los lípidos esenciales, los oligoelementos, los polifenoles, los flavonoides, los fitoestrógenos, los antioxidantes tales como el ácido lipoico y la coenzima Q10, los carotenoides, los prebióticos, las proteínas y los aminoácidos, los mono y polisacáridos, los aminoazúcares, los fitoesteroles y alcoholes triterpénicos de origen vegetal.

[0139] Se trata, en particular, las vitaminas A, C, D, E, PP y del grupo B. Entre los carotenoides, se elige preferiblemente, el beta-caroteno, el licopeno, la luteína, la zeaxantina y la astaxantina. Los minerales y oligoelementos particularmente utilizados son el zinc, el calcio, el magnesio, el cobre, el hierro, el yodo, el manganeso, el selenio, el cromo (III). Entre los compuestos polifenoles, se retienen también en particular los polifenoles de uva, de té, de aceituna, de cacao, de café, de manzana, de mirtilo, de saúco, de fresa, de arándano, y de cebolla. Preferiblemente entre los fitoestrógenos, se retienen las isoflavonas en forma libre o glicosilada, tales como la genisteína, la daidzeína, la gliciteína o de nuevo los lignanos, en particular aquellos del lino y de la Schizandra chinensis. Los aminoácidos o los péptidos y las proteínas que los contienen, tales como la taurina, la treonina, la cisteína, el triptófano, la metionina. Los lípidos pertenecen preferiblemente al grupo de los aceites con los ácidos grasos mono y poliinsaturados tales como los ácidos oleicos, linoleico, alfa-linolénico, gamma-linolénico, estearidónico, los ácidos grasos omega-3 de pez de cadena larga tales como el EPA y el DHA, los ácidos grasos conjugados resultantes de vegetales o de animales tales como los CLA (ácido linoleico conjugado).

[0140] De este modo, en particular cuando la combinación según la invención se destina a una administración por vía oral, ella se puede asociar además con al menos un activo nutricional elegido entre el licopeno, la vitamina C, la vitamina E y los compuestos polifenoles.

[0141] La combinación según la invención puede igualmente ser asociada a otros activos nutricionales elegidos entre:

- las activos nutricionales anti-envejecimiento, tales como los antioxidantes alimenticios, los nutrientes con las propiedades antiradicales y los cofactores de las enzimas endógenos antioxidantes, las vitaminas A, C, E, los carotenoides, las xantofilas, las isoflavonas, ciertos minerales tales como el zinc, el cobre, el magnesio, el selenio, el ácido lipoico, la coenzima Q10, el superóxido dismutasa (SOD) o de nuevo la taurina. Entre las activos anti-envejecimiento, se puede particularmente citar las fracciones insaponificables extraídas de lípidos de origen vegetal, aloe vera, el colágeno marino nativo o hidrolizado, los aceites vegetales o marinos ricos en ácidos grasos omega-3, en omega-6 (comprendiendo el ácido gamma linolénico),

- las activos nutricionales de fotoprotección tales como: los antioxidantes y los antiradicales, : las vitaminas A, C, E, carotenoides, xantofilas, ciertos minerales tales como el zinc, el cobre, el magnesio, el selenio, la coenzima Q10, el superóxido dismutasa (SOD), - los ingredientes nutricionales con las propiedades de hidratación o de nuevo inmunomoduladoras tales como el extracto de polypodium leucotomos, los aceites vegetales o marinos ricos en ácidos grasos omega-3, en omega-6, comprendiendo el ácido gamma-linolénico,

- los activos nutricionales activos sobre los signos clínicos de la menopausia (por ejemplo bocanadas de calor, ...), tales como las isoflavonas, los lignanos, la DHEA, los extractos de yam, de salvia, de lúpulo, el calcio, el magnesio, los hidrolizados de proteínas, los aceites vegetales o marinos ricos en ácidos grasos omega-3,

- los ingredientes nutricionales utilizados en el dominio de la delgadez, tales como los extractos de té verde, mate, castaña de India, cola, cafeína, teobromina, sinefrina, bromelina, efedra, citrus aurantium, calcio, hoodia, garcinia, quitosano, fibras vegetales (cactus, manzanas, piña, ...), hinojo, casis, reina de los prados, rábano negro.

[0142] La invención se refiere también a un procedimiento de tratamiento cosmético para prevenir una disminución de y/o reforzar la función barrera de la piel, y en particular para la cura de las pieles mayores, que incluye al menos una etapa de administración de la combinación según la invención.

[0143] El procedimiento de tratamiento cosmético de la invención se puede utilizar particularmente administrando por vía oral y/o tópica al menos una combinación según la invención.

5 [0144] La administración por vía tópica consiste en la aplicación de composiciones cosméticas y/o dermatológicas o asociaciones tales como definidas arriba, según la técnica de utilización habitual de estas composiciones.

[0145] El procedimiento cosmético según la invención puede ser utilizado por administración tópica, diaria por ejemplo, de composiciones cosméticas y/o dermatológicas, o de la combinación según la invención que puede ser por ejemplo formulada en forma de geles, lociones, emulsiones.

10 [0146] La administración por vía oral consiste en ingerir en una o más dosis una composición oral tal como se define anteriormente.

15 [0147] Según una variante, el procedimiento cosmético incluye al menos una etapa de administración oral de la combinación según la invención y al menos una etapa de administración tópica de la combinación según la invención.

[0148] El procedimiento según la invención puede entender una administración única.

20 [0149] Según otra forma de realización, la administración es repetida por ejemplo 2 a 3 veces al día por un día o más y habitualmente sobre una duración prolongada de por lo menos 4 semanas, incluso 4 a 15 semanas, con en su caso uno o varios períodos de interrupción.

25 [0150] En la descripción y en los ejemplos siguientes, excepto indicación contraria, los porcentajes son los porcentajes en peso y las zonas de valores escritas en la forma « entre ... y ... » incluye los límites inferior y superior precisados.

[0151] Los ingredientes son mezclados, antes de su formación, en el orden y en condiciones fácilmente determinadas por el experto en la técnica.

30 [0152] Los ejemplos y figura a continuación se presentan a título ilustrativo y no limitativo del dominio de la invención.

- figura 1: Índices de penetración de la antraquinona catiónica en función de las condiciones de cultivo (representada por las letras A, B, C, D, E).

35 **Ejemplo 1 - Évaluación del efecto de una combinación según la invención sobre la función barrera de pieles reconstruidas**

[0153] La transformación de un agente nutricional (llamado más adelante medio acondicionado probiótico) después de la ingestión es en primer lugar estimulada, en vista de una utilización consecutiva directamente sobre un modelo de piel (etapa A).

40 [0154] El medio de los co-cultivos estimulados con el *Lactobacillus paracasei*, sacado del compartimento baso-lateral es a continuación tomado y sus efectos en asociación con el metabolito más importante de la hesperidina, la hesperitina 7 glucurónida (Hes7Glu) sobre la función barrera en el modelo EPISKIN<sup>®</sup> son a continuación testados *in vitro* (etapa B).

45 **A - Preparación del medio acondicionado probiótico**

[0155] Un modelo de barrera intestinal (que incluye enterocitos humanos en líneas (CaCO-2) cocultivadas con leucocitos humanos en un sistema de cocultivo celular 'transwell' [Haller D, 2000]) ha sido desarrollado.

50 [0156] Este modelo consiste en cultivar separadamente:

- una línea de células intestinales CaCO-2 sobre los insertos « trans-well » que son a continuación colocados en una placa de 12 pocillos (Nunc) donde las células se cultivan durante 21 días; y

55 - células mononucleares de sangre periférica (leucocitos) humano que son purificadas luego resuspendidas en un medio de cultivo apropiado.

[0157] Esta suspensión de leucocitos es entonces añadida en el compartimento basolateral de los cultivos « trans-well » cuando éstas presentan una capa confluyente de células CaCO-2.

60 [0158] Los co-cultivos de este modo establecidos son estimulados añadiendo  $1 \times 10^7$  UFC/mL de microorganismo probiótico a nivel de la superficie apical de la monocapa de células epiteliales (CaCO-2). El sistema es a continuación incubado durante 16h a 37°C/5%CO<sub>2</sub>.

65 [0159] Al final de incubación (16h) el medio situado en el compartimento basolateral se toma para ser testado.

[0160] Este modelo de cocultivo de células intestinales y de leucocito permite simular las interacciones celulares presentan en el momento de la ingestión por vía oral de un ingrediente nutricional y de imitar *in vitro*, la situación *in vivo*.

5 [0161] La interacción de los enterocitos activados o no con agentes nutricionales, tales como los probióticos, actuando al nivel apical comporta un estímulo de los leucocitos subyacentes y la producción de mediadores (citoquinas). Bajo el efecto de un estímulo a través de microorganismos probióticos, estos mediadores u otras moléculas inmunorreguladoras producidas a nivel de la mucosa intestinal se envían por la sangre hasta la piel a nivel de la cual contribuyen a su refuerzo y/o a contrapesar una reacción inflamatoria local.

10

B - Medida del efecto de varios agentes nutricionales sobre un modelo de piel reconstruida

[0162] Los kits Episkin<sup>®</sup> han sido recibidos a J6, luego cultivados durante la fase proliferativa hasta J13 según cinco condiciones

15

1. *Condición tradicional de Episkin (condición A)*

[0163] Tratados de J6 a J13 con el medio de diferenciación d'Episkin<sup>®</sup>

20

2. *Control negativo (condición B)*

[0164] Tratados de J6 a J13 con 30% de medio de control negativo (medio acondicionado resultante de 16h00 de cultivo CaCO<sub>2</sub>/PBMC)

25

3. *Control positivo (condición C)*

[0165] Tratados de J6 a J13 con 20% de medio acondicionado probiótico.

30

4. *Control positivo (condición D)*

[0166] Tratados de J6 a J13 con 20% de medio acondicionado probiótico + Hes7Glu 10µM

35

5. *Control positivo (condición E)*

[0167] Tratados de J6 a J13 con Hes7Glu 10µM

[0168] Las condiciones A, B, C, D y E han sido estudiadas sobre 6 pocillos para cada lote EPISKIN<sup>®</sup>, midiendo la penetración de un compuesto por referencia no penetrándose (antraquinona catiónica) formulado en un medio simplex. Los índices de penetración de la antraquinona catiónica permite caracterizar la influencia de los diferentes condiciones de cultivo sobre la función barrera del tejido reconstruido.

40

[0169] Antes de la aplicación, el medio de cultivo se retira y se reemplaza por 1,5 ml de medio de prueba Episkin, y los kits son instalados durante 30 minutos en un horno a 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>. En una segunda vez, el medio fue retirado y reemplazado por el medio fresco, y los kits se colocaron durante 30 minutos en horno. Finalmente, el medio de prueba Episkin se reemplaza por 1,5 ml de PBS+Tween 0,25 % (p/p) y los kits se colocan en un recinto termostataado a 32 °C bajo agitación (Certomat).

45

[0170] El colorante de referencia no penetrante (antraquinona catiónica) ha sido utilizado. 250 µl de una formulación simplex taponada a pH 7 a una concentración de 1 mM, se aplican durante 4 horas.

50

[0171] El líquido receptor (LR) es recogido luego dosificado directamente al final de aplicación, por HPLC. Cada punto se analiza en duplicado.

[0172] En el momento del desarrollo del método analítico, la especificidad ha sido verificada a partir de blancos LR (líquidos receptores obtenidos después de la aplicación en las mismas condiciones de formulación sin colorante).

55

[0173] La concentración se determina con ayuda de una gama de calibración hecha el mismo día. Los índices de penetración son calculados efectuando la relación de la cantidad en el LR sobre la cantidad aplicada, los resultados siguientes habiendo sido además objeto de un estudio estadístico utilizando las pruebas de Wilcoxon.

60

[0174] La condición A utiliza el medio de diferenciación d'EPISKIN<sup>®</sup> como medio de cultivo, que es óptimo para la diferenciación del modelo.

[0175] La condición B utiliza un medio en el cual ha sido incorporado 30 % de medio acondicionado no estimulado (afín a un medio de cultivo tradicional de diferenciación EPISKIN<sup>®</sup> disminuido de 30 %). También, la función barrera presentada por la condición B ha sido por lo tanto encontrada más débil que aquella de la condición A.

65

[0176] La figura 1 indica los índices de penetración del compuesto de referencia antraquinona catiónica en el líquido receptor para cada condición estudiada.

5 [0177] Se constata que los medios acondicionados resultantes del estímulo por 20% *Lactobacillus paracasei* ofrecen resultados significativamente diferentes de aquellos obtenidos en la condición B control negativo que utiliza el medio no estimulado.

10 [0178] Cuando el Hes7Glu introducido a una concentración de 10µM no tiene efecto significativo sobre la función barrera, esta misma concentración añadida a 20 % de medios acondicionados probióticos permite recobrar una también buena eficacia de la función barrera que aquella obtenida con el medio de diferenciación tradicional EPISKIN®.

15 [0179] En consecuencia, estos resultados muestran claramente una sinergia de actividad para la Hesperitina 7 glucurónida en asociación con el medio acondicionado estimulado con el probiótico *Lactobacillus paracasei*.

[0180] La introducción de 10M de Hesperitina 7 glucurónida en medio de cultivo complementado con 20 % de medios acondicionados estimulados por el probiótico *Lucrubacillus paracasei* permite recobrar una función barrera eficaz y comparable a aquella obtenida en las condiciones de referencias estándar EPISKIN®.

20 **Ejemplo 2:** Gel unidosis (fuera de la invención)

[0181]

Principio activo	% pds
Hesperidina OBC comercializada por la sociedad Nutrafur (hesperidina en forma micronizada pura a 93%)	10
Licopeno	10
<i>Lactobacillus johnsonii</i> (CNCMI-1225)	10 <sup>10</sup> ufc
<b>Excipiente</b>	
Jarabe de azúcar	50
Maltodextrina	17
Goma Xanthana	0,8
Benzoato de sodio	0,2
Agua	qsp 100

25 [0182] Se puede tomar una dosis de 200 a 400 ml por día.

**Ejemplo 3:** cápsula

[0183]

30

	mg/capsule
Hesperidina comercializada por la sociedad SELECTCHEMIE (hesperidina en forma micronizada pura a 93%)	10
<i>Lactobacillus paracasei</i> (CNCM I-2116)	10 <sup>10</sup> ufc
Glicerina	150
Estearato de magnesio	0,02
Aroma natural	qsp 100

[0184] Se puede tomar una a tres de estas cápsulas por día.

**Ejemplo** (fuera de la invención)

35

[0185] Se agrega a la formulación del ejemplo 2 un complejo vitamínico que comporta 60 mg de vitamina C, 100 µg de

vitamina E y 6 mg de  $\beta$ -caroteno.

**Ejemplo 5** (fuera de la invención)

5 [0186] Se agrega a la formulación del ejemplo 2 un complejo vitamínico que comporta 100 mg de vitamina C, 100  $\mu$ g de vitamina E y 6 mg de licopeno por cápsula.

**Ejemplo 6:** Gel unidosis

10 [0187]

Principio activo	% pds
Hesperidina comercializada por la sociedad SELECTCHEMIE (hesperidina micronizada pura a 93%)	10
Licopeno	10
<i>Lactobacillus paracasei</i> (CNCM I-2116)	10 <sup>10</sup> ufc
Excipiente	
Jarabe de azúcar	50
Maltodextrina	17
Goma Xanthana	0,8
Benzoato de sodio	0,2
Agua	qsp 100

[0188] Se puede tomar una dosis de 200 a 400 ml por día.

15 **Ejemplo 7:** cápsula

[0189]

	mg/capsule
Vitamina C	60
Hesperidina OBC comercializada por la sociedad Nutrafur (hesperidina micronizada pura a 93%)	8
<i>Lactobacillus paracasei</i> (CNCM I-2116)	10 <sup>10</sup> ufc
Glicerina	150
Estearato de magnesio	0,02
Aroma natural	qsp 100

20 [0190] Se puede tomar una a tres de estas cápsulas por día.

**Ejemplo 8**

25 [0191] Se agregado a la formulación del ejemplo 7 un complejo vitamínico que comporta 60 mg de vitamina C, 100  $\mu$ g de vitamina E y 6 mg de  $\beta$ -caroteno.

**Ejemplo 9**

30 [0192] Se añade a la formulación del ejemplo 7 un complejo vitamínico que comporta 100 mg de vitamina C, 100  $\mu$ g de vitamina E y 6 mg de licopeno por cápsula.

**Ejemplo 10:**

[0193]

Crema para la cura de la cara		(% en peso)
Hesperitina		5,00
<i>Lactobacillus paracasei</i> (CNCM I-2116)		10,00
Antioxidante		0,05
Isopropanol		40,00
Estearato de glicerol		1,00
Alcohol cetilestearílico/alcohol cetilsteárico oxietileno		
A 33 moles OE (Sinnowax AO vendido por la sociedad Henkel)		3,00
Alcohol cetílico		1,00
Dimeticona (DC 200 Fluid vendido por la sociedad Dow Corning)		1,00
Aceite de vaselina		6,00
Miristato de isopropilo (Estol IPM 1514 vendido por Unichema)		3,00
Antioxidante		0,05
Glicerina		20,00
Conservante		0,30
Agua	qsp	100,00

**Ejemplo 11:** Loción para la cura del cuerpo

5

[0194]

		(% en peso)
Glucurónido de Hesperitina		5,00
<i>Lactobacillus paracasei</i> (CNCM I-2116)		10,00
Antioxidante		0,05
Isopropanol		40,00
Conservante		0,30
Agua	qsp	100,00

10 **Ejemplo 12:** Loción para las manos

[0195]

		(% en peso)
Hesperitina		5,00
<i>Lactobacillus paracasei</i> (CNCM I-2116)		10,00
Antioxidante		0,05
Isopropanol		40,00
Conservante		0,35
Agua qsp		100,00

15 **Ejemplo 13:** Gel para la cura del cuerpo

[0196]

	(% en peso)
Glucurónido de Hesperitina	5,00
<i>Lactobacillus paracasei</i> (CNCM I-2116)	10,00
Antioxidante	0,05
Vitamina C	2,50
Antioxidante	0,05
Isopropanol	40,00
Conservante	0,30
Agua	qsp 100,00

20

**Ejemplo 14:** cápsula



[0197]

	mg/cápsula
Vitamina C	60
Hesperidina OBC comercializada por la sociedad Nutrafur (hesperidina micronizada pura a 93%)	500
<i>Lactobacillus paracasei</i> (CNCM I-2116)	10 <sup>9</sup> ufc
Glicerina	150
Estearato de magnesio	0,02
Aroma natural	qsp 1000

5 [0198] Se puede tomar una a tres de estas cápsulas por día.

**Ejemplo 15: cápsula**

10 [0199]

	mg/cápsula
Hesperidina comercializada por la sociedad SELECTCHEMIE (hesperidina en forma micronizada pura a 93%)	500
<i>Lactobacillus paracasei</i> (CNCM I-2116)	10 <sup>9</sup> cfu
Glicerina	150
Estearato de magnesio	0,02
Aroma natural	qsp 1000

15 [0200] Se puede tomar una a tres de estas cápsulas por día.

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Utilización cosmética no terapéutica de por lo menos una cantidad eficaz de hesperidina, de hesperitina o de glucurónido de hesperitina, en asociación con al menos una cantidad eficaz de por lo menos un microorganismo probiótico de la especie *Lactobacillus paracasei*, o una de sus fracciones, como agente para prevenir una disminución de y/o reforzar la función barrera de la piel
- 10 2. Utilización cosmética no terapéutica para aplicación sobre una piel sana, de por lo menos una cantidad eficaz de hesperidina, de hesperitina o de glucurónido de hesperitina, en asociación con al menos una cantidad eficaz de por lo menos un microorganismo probiótico de la especie *Lactobacillus paracasei*, o una de sus fracciones, como agente para prevenir y/o disminuir la molestia cutánea de una piel sana sometida a la influencia de agentes climáticos.
- 15 3. Utilización según la reivindicación 1, **caracterizada por el hecho de que** dicha asociación se destina a prevenir y/o disminuir la molestia cutánea de una piel, en particular inducida por un estrés exógeno de origen químico, medioambiental, mecánico y/o un estrés endógeno.
- 20 4. Utilización según la reivindicación 2 o 3, **caracterizada por el hecho de que** la molestia cutánea se caracteriza a través de tirantez, hormigueos, una sensación de tensiones, calentamientos y/o pruritos.
- 25 5. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, **caracterizada por el hecho de que** dicha asociación se destina a prevenir una disminución de y/o reforzar la función barrera de una piel elegida entre una piel frágil, particularmente atópica, una piel debilitada, una piel agredida y/o que sufre de sequedad.
- 30 6. Utilización cosmética no terapéutica de una cantidad eficaz de hesperidina, de hesperitina o de glucurónido de hesperitina, en asociación con al menos una cantidad eficaz de por lo menos un microorganismo probiótico de la especie *Lactobacillus paracasei*, o de una de sus fracciones, como agente para prevenir y/o tratar una piel seca adquirida o constitucional no patológica.
- 35 7. Utilización de una cantidad eficaz de hesperidina, de hesperitina o de glucurónido de hesperitina, en asociación con al menos una cantidad eficaz de por lo menos un microorganismo, probiótico de la especie *Lactobacillus paracasei*, o de una de sus fracciones, para la preparación de una composición dermatológica destinada a prevenir y/o tratar una piel seca constitucional patológica elegida entre la dermatitis atópica o la ictiosis.
- 40 8. Utilización cosmética no terapéutica de por lo menos una cantidad eficaz de hesperidina, de Hesperitina o de glucurónido de Hesperitina, en asociación con al menos una cantidad eficaz de por lo menos un microorganismo probiótico de la especie *Lactobacillus paracasei*, o una de sus fracciones, como agente para prevenir y/o tratar los signos cutáneos del envejecimiento.
- 45 9. Utilización cosmética no terapéutica de por lo menos una cantidad eficaz de hesperidina, de hesperitina o de glucurónido de hesperitina, en asociación con al menos una cantidad eficaz de por lo menos un microorganismo probiótico de la especie *Lactobacillus paracasei*, o una de sus fracciones para una actividad protectora a nivel de la función barrera cutánea para limitar la penetración de contaminantes y aumentar la resistencia de la piel a las agresiones.
- 50 10. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, **caracterizada por el hecho de que** el microorganismo es la cepa *Lactobacillus paracasei* depositada el 12/01/99 bajo la designación CNCM I-2116.
- 55 11. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la cual dicho microorganismo se utiliza en una proporción de 0,00001 a 20 % en peso, en particular de 0,001 a 20 % en peso y de una forma más particular de 0,01 a 10 % en peso respecto al peso total de una composición que lo contiene.
- 60 12. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la cual la cantidad eficaz de hesperidina, de hesperitina o de glucurónido de hesperitina, se efectúa en una proporción de 0,00001 a 20% en peso, por ejemplo de 0,001 a 10 % en peso respecto al peso total de una composición que lo contiene.
- 65 13. Utilización según sus reivindicaciones 1 y 5 a 8, que incluye la administración de dicha asociación por vía tópica u oral.
14. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, **caracterizada por el hecho de que** la dosis de hesperidina, de hesperitina o de glucurónido de hesperitina, se efectúa de manera que se administre entre 100 mg y 1000 mg, preferiblemente entre 200 mg y 800 mg, preferiblemente entre 300 mg y 600 mg y aproximadamente 500 mg de hesperidina, de hesperitina o de glucurónido de hesperitina, por persona y por día.
15. Composición cosmética y/o dermatológica, particularmente útil para prevenir una disminución de y/o reforzar la función barrera de la piel, y en particular para prevenir y/o tratar los signos cutáneos del envejecimiento y/o del fotoenvejecimiento y/o los trastornos asociados a la sequedad cutánea que incluye, en un soporte fisiológicamente

aceptable, al menos una cantidad eficaz de hesperidina, de hesperitina o de glucurónido de hesperitina, en asociación con al menos una cantidad eficaz de por lo menos un microorganismo probiótico de la especie *Lactobacillus paracasei* o una de sus fracciones

- 5 16. Proceso de tratamiento cosmético no terapéutico de la piel destinado a prevenir una disminución de y/o reforzar la función barrera de la piel, que incluye la administración de por lo menos una cantidad eficaz de hesperidina, de hesperitina o de glucurónido de hesperitina, en asociación con al menos una cantidad eficaz de por lo menos un microorganismo probiótico de la especie *Lactobacillus parasei*, o una de sus fracciones
- 10 17. Proceso de tratamiento cosmético no terapéutico de los signos cutáneos del envejecimiento inducidos o exacerbados por la contaminación, que incluye la administración de por lo menos una cantidad eficaz de hesperidina, de hesperitina o de glucurónido de hesperitina, en asociación con al menos una cantidad eficaz de por lo menos un microorganismo probiótico de la especie *Lactobacillus paracasei*, o una de sus fracciones.
- 15 18. Proceso de tratamiento cosmético no terapéutico para prevenir y/o tratar una piel seca adquirida o constitucional no patológica, que incluye la administración, de por lo menos una cantidad eficaz de hesperidina, de hesperitina o de glucurónido de hesperitina, en asociación con al menos una cantidad eficaz de por lo menos un microorganismo probiótico de la especie *Lactobacillus paracasei*, o una de sus fracciones.

20

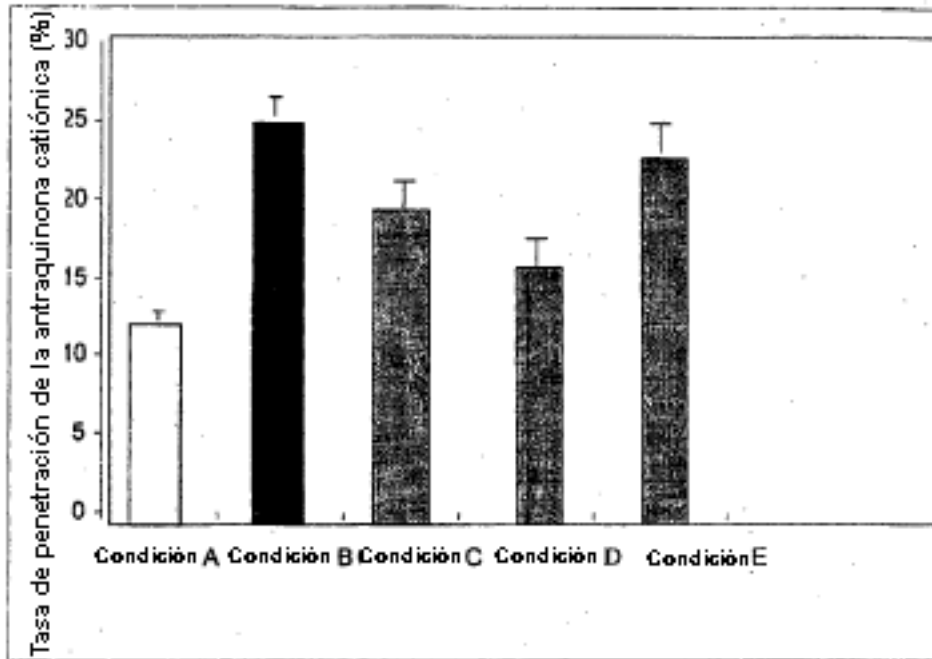


Figura 1: Tasa de penetración de la antraquinona en función de las condiciones de cultivo