

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 465 575**

51 Int. Cl.:

**A61K 9/00** (2006.01)

**A61P 17/08** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.09.2003 E 03750473 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.05.2014 EP 1583509**

54 Título: **Composición administrable por vía oral para mejorar la calidad del pelo y de la piel**

30 Prioridad:

**09.09.2002 EP 02078706**

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

**06.06.2014**

73 Titular/es:

**NESTEC S.A. (100.0%)  
Avenue Nestlé 55  
1800 Vevey, CH**

72 Inventor/es:

**PRIDMORE-MERTEN, SYLVIE;  
LURATI, EMMANUELLE;  
POURZAND-AZARMEHR, FARZANEH;  
ROSSIO, PATRICIA y  
DEMARCHEZ, MICHEL**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**ES 2 465 575 T3**

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

**DESCRIPCIÓN**

Composición administrable por vía oral para mejorar la calidad del pelo y de la piel

La presente invención se refiere a las composiciones administrables por vía oral para mejorar la calidad de la piel o del pelo y su crecimiento.

Fundamento de la invención

5

En los últimos años tanto la piel como el pelo se han visto afectados de un modo creciente por diversos factores. Ciertamente, el pelo es sometido a un gran estrés desde el exterior. Es decir, el pelo es sometido no sólo al estrés, la tensión o el esfuerzo natural como el de los rayos ultravioleta del sol, la polución y la suciedad ambiental sino también a tensiones fuertes como un lavado con champú, un cepillado, el calor de un secador y los tratamientos de belleza como el teñido del cabello y el blanqueo. Como resultado de todo ello aparecen diversos problemas entre los que se destacan el pelo seco y áspero, un número elevado de puntas cortadas, la caída y rotura frecuente del pelo y una menor resistencia de sus fibras.

10

Por lo tanto, para impedir o mitigar los daños anteriormente descritos, se han propuesto varios intentos siguiendo métodos distintos.

15

Se conocen varias composiciones cosméticas para el pelo que incluyen champús, acondicionadores y enjuagues de pelo. Por ejemplo, la patente JP-A-63-105000 revela diversas composiciones cosméticas para el pelo que contienen un péptido acilado. La US 6.251.379 proporciona una composición cosmética para el pelo que contiene queratina, que es cationizada con una sal de amonio cuaternario y un derivado de silicona. Los tensoactivos catiónicos se utilizan frecuentemente para impartir suavidad a las fibras del cabello. Sin embargo, el brillo impartido no es del todo satisfactorio y, además, la incorporación de tensoactivos catiónicos en grandes cantidades es poco favorable en lo que se refiere a términos de seguridad. La US 5.895.552 hace referencia a un método de rejuvenecimiento metabólico y reparación celular.

20

25

Se han hecho otros intentos por medio de composiciones administradas por vía oral. Por ejemplo, la US 5.250.300 muestra una medicina interna líquida para animales domésticos, que contiene únicamente un extracto de tallos de plantas de stevia naturales. Se pretende mejorar la constitución física de los animales domésticos para conseguir que la calidad de la carne, la calidad de la leche y el brillo del pelo de los animales domésticos mejoren.

30

Es decir, es bien sabido que las intervenciones nutricionales pueden impactar en las condiciones del pelo, como en la WO 9856263 que muestra la combinación de ácido linoleico y zinc para la mejora de la calidad de la piel y el estado de la piel en los animales de compañía.

35

Sin embargo, existe todavía la necesidad de conseguir un método que aporte una vía nutricional efectiva para mejorar la calidad del pelo o de la piel, en particular el brillo y el crecimiento del pelo en los humanos y en los animales.

40

Resumen de la invención

La invención hace referencia a una composición no terapéutica, administrable por vía oral para mejorar la calidad del pelo o de la piel en humanos o animales, que comprende una molécula que estimula el metabolismo energético de la célula y unos antioxidantes, donde dicha molécula es la L-carnitina y en la que los antioxidantes son la cisteína, la vitamina C, vitamina E y el extracto de semillas de uva.

45

Descripción detallada de la invención

La invención hace referencia a una composición no terapéutica, administrable por vía oral para mejorar la calidad del pelo o de la piel en humanos o animales, que comprende una molécula que estimula el metabolismo energético de la célula y unos antioxidantes, donde dicha molécula es la L-carnitina y en la que los antioxidantes son la cisteína, la vitamina C, vitamina E y el extracto de semillas de uva. El tema siguiente no es parte de la invención:

50

Se habla de una composición administrable por vía oral para mejorar la calidad del pelo y de la piel, que comprende como principio activo una cantidad eficaz de una molécula que estimula el metabolismo energético de la célula, un antioxidante o bien mezclas combinadas del mismo, en un portador o soporte aceptable por vía oral.

55

La molécula que estimula el metabolismo energético de la célula puede ser la L-carnitina, creatina, los ácidos grasos (ácidos grasos mono o poliinsaturados, los ácidos grasos en particular omega-3), la cardiolipina, la nicotinamida, los carbohidratos y las fuentes naturales de los mismos, por ejemplo.

60

La cantidad de dicha molécula es de al menos 1 mg por kg de peso corporal al día, más preferiblemente de 1 mg a 1 g por kg de peso corporal al día.

Los antioxidantes son compuestos que disminuyen la oxidación proteínica (por ejemplo, impiden la formación de carbonilos proteínicos). Pueden ser fuentes de tioles (por ejemplo, el ácido lipoico, la cisteína, cistina, metionina, S-adenosil-metionina, taurina, glutatión y fuentes naturales de los mismos) o bien compuestos que regulan su biosíntesis in vivo. Los antioxidantes pueden ser también otros antioxidantes como la vitamina C, vitamina E (tocoferoles y tocotrienoles), carotenoides (carotenos, licopenos, luteína, zeaxantina..) ubiquinonas (p.ej. CoQ10), catequinas del té (por ejemplo, galato de epigallocatequina), extractos de café que contienen polifenoles y/o diterpenos (por ejemplo, kawheol y cafestol), extractos de ginkgo biloba, extractos de uva o semilla de uva ricos en proantocianidinas, extractos de especias (por ejemplo, Rosemary), extractos de soja que contienen isoflavonas y fitoestrógenos afines y otras fuentes de flavonoides con actividad antioxidante, compuestos que regulan la defensa celular antioxidante (por ejemplo, el ácido ursodeoxicolico para una actividad elevada de glutatión S-transferasa, el ácido ursólico para una actividad elevada de catalasa, el ginseng y los ginsenósidos para incrementar la actividad del superóxido dismutasa y las fuentes naturales del mismo, es decir las hierbas medicinales).

La cantidad de antioxidantes es al menos de 0,025 mg por kg de peso corporal al día, más preferiblemente de 0,025 mg a 250 mg por kg de peso corporal al día.

El portador o soporte puede ser cualquier alimento o producto farmacéutico o bien suplemento nutricional o composición para una administración oral. Ejemplos de alimentos o portadores farmacéuticos son la leche, los yogures, el requesón, el queso, la leche fermentada, los productos fermentados de tipo lácteo, los helados, los productos a base de cereales fermentados, los polvos lácteos, las fórmulas o comprimidos para bebés, las suspensiones líquidas, los suplementos orales tanto húmedos como secos, la nutrición por sonda gástrica, los productos alimenticios para animales domésticos. La composición para la administración por vía oral puede ser en cápsulas, cápsulas blandas, pastillas, comprimidos masticables, soluciones bebibles o emulsiones. Los métodos para preparar el portador son conocidos.

La composición puede comprender también excipientes habituales como los endulzantes, edulcorantes o conservantes. Puede comprender también un microorganismo prebiótico y/o probiótico.

Las composiciones se pueden formular conforme a una serie de técnicas que son bien conocidas.

Se conoce la composición farmacéutica que contiene al menos una de las sustancias objetivo en una cantidad suficiente para conseguir el efecto deseado en un individuo. Esta composición puede ser un comprimido, un líquido, un suplemento oral húmedo o seco, la nutrición por sonda gástrica etc. Las composiciones farmacéuticas contienen además portadores y excipientes que son adecuados para el aporte de la molécula activa respectiva de diferente naturaleza al tejido final. El tipo o la clase de portador/excipiente y la cantidad del mismo dependerán de la naturaleza de la sustancia y del tipo de administración de fármaco que se ha contemplado. Se tendrá en cuenta el que la persona experimentada elija los componentes y la forma galénica apropiada, en base a sus conocimientos, en la administración del compuesto activo a la piel.

Se conoce la composición alimenticia para el consumo humano. Esta composición puede ser una fórmula nutricional completa, un producto lácteo, una bebida recién preparada o con periodo de caducidad, una sopa, un complemento dietético, un sustituto de una comida, y una barrita nutricional o un dulce.

La fórmula nutricional se puede administrar por vía enteral; por ejemplo, en forma de un polvo, un concentrado líquido o una bebida ya preparada para su consumo. En caso de desear la fabricación de una fórmula nutricional en polvo, la mezcla homogeneizada se transfiere a un aparato de secado apropiado como un secador por pulverización o a una instalación liofilizadora y se convierte en polvo.

Se conoce también el producto alimenticio habitual que puede haberse enriquecido con el combinado. Por ejemplo, una leche fermentada, un yogur, queso fresco, leche cuajada, barrita de repostería, cereales de desayuno, bebidas, leche en polvo, productos a base de soja, productos fermentados no lácteos o complementos nutricionales para la nutrición clínica. La cantidad de la molécula que estimula el metabolismo energético es preferiblemente como mínimo 50 ppm en peso y la cantidad de antioxidante es preferiblemente de al menos 10 ppm en peso.

Se pueden preparar también productos alimenticios para animales domésticos. La fórmula es una comida completa y equilibrada nutricionalmente. Puede tratarse de un complemento dietético para animales o bien de una composición farmacéutica. La fórmula alimenticia completa desde el punto de vista nutricional se puede presentar en forma de polvo, de granos, de croquetas o sea pienso seco o de cualquier otra forma seca, de una forma extruida, semi-húmeda o húmeda, como una porción, rebanada o galleta. Puede ser un producto fresco o con un periodo de caducidad. Este alimento para animales se puede preparar siguiendo los métodos convencionales.

Los complementos dietéticos se fabrican para mejorar la calidad del pienso. Como complementos dietéticos podemos encontrar en forma de polvo o encapsulados, que se tomarán junto con o aparte de una comida principal, secos o húmedos. A modo de ejemplo, un polvo que contiene sustancias elegidas según la invención se puede envasar en bolsitas en forma de polvo o en un gel o lípido o bien otro portador adecuado. Estas unidades se podrán

envasar por separado o bien junto a una comida principal o en envases de miles de unidades, según las instrucciones para el usuario.

5 La composición alimenticia pretende incrementar el grosor del cabello además del brillo, mejorar su composición y estructura, modificar la producción o composición del sebo.

10 Se conoce el uso en una cantidad eficaz de una molécula que estimula el metabolismo energético de la célula, de un antioxidante o mezclas combinadas, para preparar una composición que mejore la calidad del pelo o de la piel en humanos y animales.

15 Se conoce también un método que mejora la calidad del pelo o de la piel de los humanos y animales, que consiste en administrar al individuo una composición como la descrita anteriormente.

20 Dicha composición se podrá administrar al individuo como un suplemento a la dieta normal o bien como un componente de un alimento completo desde el punto de vista nutricional. Se conoce el alimento completo desde el punto de vista nutricional tal como se ha descrito antes.

25 La cantidad de composición que va a ser consumida por el individuo para obtener un efecto beneficioso dependerá de su tamaño, tipo y edad. Sin embargo, serían adecuadas una cantidad de al menos 1 mg por kg de peso corporal al día de L-carnitina y una cantidad de antioxidante de al menos 0,025 mg por kg de peso corporal al día.

30 Los ejemplos siguientes se dan a modo de ilustración únicamente y en ningún caso pretenden limitar el objeto principal de la presente solicitud. Todos los porcentajes se indican en peso a menos que se establezca lo contrario.

## 25 Ejemplos

Ejemplo 1: Ensayos in vitro sobre el efecto de los nutrientes dietéticos conforme a la presente invención

### 30 1. MATERIAL Y MÉTODOS

#### 35 1.1 Diseño del estudio:

La prueba dietética se efectuaba a los 12 meses de edad. Los ratones se distribuían al azar en 6 grupos de 12 ratones cada uno y se alimentaban durante 3 meses con las dietas A, B, C, D y E. Los ratones tenían acceso libre a la comida y al agua durante todo el estudio (alimentación ad libitum) y se sometían a ciclos de 12 horas de luz y de oscuridad. Se pesaba cada animal una vez a la semana.

#### 40 1.2 Animales:

Los ratones macho C57/BL6 procedían de Iffa credo (Francia) y tenían 9 semanas. Después de una adaptación de 3 semanas, los ratones (12 semanas) se colocaban en jaulas individuales y recibían la dieta control hasta la prueba dietética.

#### 45 1.3 Dietas:

La dieta de control (dieta A) compuesta de un 18% de proteínas (soja y trigo), 11% de grasas (aceite de soja), 59% de carbohidratos (almidón +sacarosa) y 10% de celulosa se complementaba con los principios activos. Estas dietas son como sigue:

Dieta A – Control: 18% de proteínas (soja y trigo), 11% de grasa, 59% de carbohidratos y 10% de celulosa.

Dieta B: Dieta A + 0,3% de L-carnitina

Dieta C – Coctel de antioxidantes: Dieta A + 0,19% de vitamina C, 0,03% de vitamina E, 0,075% de extracto de semilla de uva, 0,4% de cisteína.

50 Dieta D: Dieta A + 0,3% de L-carnitina + cóctel de antioxidantes de dieta C

Dieta E: Dieta A + 0,0375% de extracto de Ginkgo biloba (Linnea)

#### 55 1.4 Medición de lípidos en el sebo del pelo

##### 1.4.1 Muestra de pelo y extracción de lípidos del sebo

60 Se recogían pelos de ratón de una zona pequeña localizada en la parte trasera del animal y se guardaban a -80°C en un tubo con tapón de rosca lleno de argón. Los lípidos del sebo del pelo se extraían con 4 ml de heptano. Se agitaban los tubos vigorosamente durante 1 minuto, se centrifugaban durante 5 minutos a 5000 rpm antes de extraer la parte superior que contiene los lípidos. La fase lipídica se evaporaba bajo nitrógeno y los lípidos secos se disolvían finalmente en heptano (1000µl) antes de su almacenamiento a -80°C hasta su uso.

##### 65 1.4.2 Análisis cualitativo de los lípidos del sebo del pelo

Los lípidos se moteaban con un inyector automático (ATS4-Merck) y se separaban mediante cromatografía de capa fina de alto rendimiento (HPTL) en placas de vidrio de 10x20 cm revestidas de gel de sílice. Seguidamente se efectuaba la separación de lípidos: heptano, tolueno y heptano/diclorometano/ácido acético (70/30/1). Las ceras y los ésteres de esteroles se separaban durante las primeras dos migraciones mientras que los lípidos polares se

separaban durante la tercera migración. Las muestras lipídicas externas se utilizaban para el escualeno, los ésteres de colesterol, los ésteres de parafina, triglicéridos, diglicéridos, ácido linolénico y el colesterol.

1.4.3 Evaluación cuantitativa de los lípidos del sebo del pelo

Se inyectaba un volumen de 1 µl por cada muestra en una columna Licrospher DIOL (5 µm) y se separaban usando heptano y heptano/isopropanol/butanol como fases móviles antes de la cuantificación en una Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento (HPLC) acoplada a un detector de dispersión de luz (DDL31-Eurosep). Las muestras lipídicas externas formadas por escualeno, ésteres de colesterol, ésteres de cera, triglicéridos, diglicéridos, ácidos grasos libres y colesterol se utilizaban para la cuantificación. Los datos se expresan como µg de lípido por mg de pelo.

1.5 Evaluación sensorial del aspecto de la piel

La evaluación sensorial del brillo del pelo se basa en la información captada visualmente. Se acepta que el brillo depende de las propiedades de la fibra del pelo como la densidad, suavidad y el aspecto liso del pelo. La percepción del brillo se ve influenciada a menudo por el color de la muestra evaluada; un color oscuro parece más brillante que un color claro.

Un solo individuo sin preparación previa intentó una evaluación sensorial del brillo de la piel en el momento del sacrificio. El aspecto de la piel se evaluaba en una escala de 1 a 10 respecto al brillo y la grasa de la piel, la densidad del pelo y la presencia de pelo blanco.

Hemos hecho el intento de controlar los cambios de la piel mediante otros componentes que puedan contribuir al aspecto de la piel, como la densidad del pelo, el aspecto grasiento y la presencia de pelo gris.

2. RESULTADOS

2.1.1 Lípidos totales

Los valores lipídicos al medirse con el análisis de HPLC se comparaban con análisis de varianza de sentido único (1w-ANOVA) durante cada intervalo de control, seguidos por un procedimiento comparativo múltiple LSD (Diferencia menos significativa) cuando los ANOVAs eran significativos a un nivel de confianza de 0,95. Previamente, se comparaban las varianzas en el grupo mediante una prueba de homogeneidad de Bartlett. Los ANOVAs que incluían medianas y varianzas constantes en el grupo se utilizaban también para confirmar nuestras conclusiones estadísticas.

Tal como se muestra en la tabla 1, los lípidos totales de los ratones adultos se ven incrementados de forma significativa por un coctel de antioxidantes asociado a la L-carnitina. El coctel solo de antioxidantes no incrementa de forma significativa el número total de lípidos si se compara con los ratones de control (Dieta A), Dieta E (Ginkgo) y B(L-carnitina) no inducían cambios significativos.

Tabla 1: Los valores de los lípidos totales medidos mediante un análisis por HPLC se analizaban tras su transformación en logaritmos para reducir la dispersión del número de varianzas (prueba de Bartlett). Los resultados se expresaban como µg de lípidos por mg de pelo.

Dietas	Mediana	SD(Sn)	Anova
A: CONTROL	1,81	0,74	ns
B:L-Carnitina	1,70	0,44	ns
C:Antioxidantes	2,51	0,82	ns
D:Antioxidantes + L-carnitina	<b>3,18</b>	1,42	p<0,05
E:Ginkgo	1,82	0,62	ns

2.1.2 Composición lipídica total

El aumento de los lípidos totales que se observa en los ratones alimentados con las dietas que contienen un coctel de antioxidantes únicamente o que se combinan con la L-carnitina se debe principalmente a los cambios en la cantidad de lípidos polares y no polares (ver a continuación en la tabla 2A).

Tabla 2A: La cantidad de lípidos por cada grupo dietético se determinaba mediante HPLC y se agrupaban en 3 clases. Es decir lípidos no polares (ésteres de colesterol y cera), triglicéridos y lípidos polares (colesterol, diglicéridos y ácidos grasos). Los resultados se expresaban como la mediana y los µg de lípidos por mg de pelo. Los valores significativos aparecen en negrita (p<0,05).

Dietas	Lípidos no polares	Triglicéridos	Lípidos polares
A: CONTROL	0,90	0,68	0,19
B:L-Carnitina	0,96	0,63	0,18
C:Antioxidantes	<b>1,55</b>	0,60	<b>0,25</b>
D:Antioxidantes + L-carnitina	<b>1,88</b>	0,85	<b>0,27</b>
E:Ginkgo	1,05	0,60	0,19

2.1.3 Lípidos no polares

Los ratones alimentados con dietas que contienen un coctel de antioxidantes únicamente o que se combinan con L-carnitina (dietas C y D) tenían una cantidad notablemente superior de lípidos no polares si se comparan con los demás grupos (tabla 2A).

2.1.4 Triglicéridos

Los triglicéridos presentes en el sebo no eran muy diferentes entre los grupos (tabla 2A)

2.1.5 Lípidos polares

Los lípidos polares (colesterol, diglicéridos y ácidos grasos) eran notablemente superiores en los ratones alimentados con antioxidantes únicamente o con una combinación con antioxidante y L-carnitina (dieta C y dieta D) (tabla 2A).

2.2 Equilibrio de lípidos en el sebo del pelo

El análisis mediante HPLC de la composición sebácea del pelo de los ratones alimentados con una dieta de control (A) aportaba información sobre el equilibrio lipídico que coincidía con la obtenida en la literatura. Es decir un 46% de lípidos no polares (colesterol y ésteres de parafina), 46% de triglicéridos y 8% de lípidos polares (colesterol, diglicéridos y ácidos grasos (tabla 2B).

Tabla 2B: Determinación del equilibrio lipídico en el pelo para cada grupo dietético. Se determinaban las cantidades de lípidos mediante HPLC y se agrupaban en 3 clases, es decir, lípidos no polares (ésteres de colesterol y parafina), triglicéridos y lípidos polares (colesterol, diglicéridos y ácidos grasos). Los resultados se muestran en porcentaje del total de lípidos.

Dietas	Porcentaje de lípidos totales		
	Lípidos no polares	Triglicéridos	Lípidos polares
A: CONTROL	46	46	8
B:L-Carnitina	55	35	10
C:Antioxidantes	61	31	8
D:Antioxidantes + L-carnitina	62	30	8
E:Ginkgo	51	41	8

Las dietas que contienen el cóctel de antioxidante únicamente (dieta C) o que se combinan con L-carnitina (dieta D) incrementaban el porcentaje de lípidos no polares hasta aproximadamente un 60% en el sebo del pelo en comparación con un 46% en el control (tabla 2B). Las dietas complementadas con Ginkgo (dieta E) o L-carnitina (dieta B) tenían poco efecto en el equilibrio lipídico si se comparan con la dieta de control (A). El análisis de los lípidos en suero mediante HPTLC demuestra que no aparecían escualenos en el sebo del pelo de los ratones (no se muestran los datos).

2.3 Evaluación sensorial del aspecto de la piel en el momento del sacrificio: brillo, densidad del pelo, aspecto graso y presencia de pelo gris

En general, la evaluación sensorial no mostraba diferencias significativas en el brillo de la piel a excepción de los ratones alimentados con antioxidantes (Dieta C) que eran más brillantes que los de otros grupos y con Ginkgo (dieta E) que eran más brillantes que el grupo de control (dieta A). El pelo gris parecía ser más abundante en los ratones alimentados con antioxidantes en combinación con L-carnitina (dieta D).

3. CONCLUSIONES

Los ratones alimentados con una dieta que contiene un coctel de antioxidantes asociada o no a L-carnitina (dieta D y dieta C, respectivamente) mostraban un incremento en lípidos no polares (ésteres de colesterol y ésteres de parafina), y lípidos polares (ácidos grasos, diglicéridos y colesterol) así como lípidos totales en el sebo del pelo en comparación con la dieta de control (A).

Una modificación del equilibrio lipídico se observaba también en estas 2 dietas con un porcentaje elevado de lípidos no polares de hasta un 60% en comparación con el 46% de la dieta de control.

La evaluación sensorial daba mejores puntuaciones a los ratones alimentados con la dieta complementada con el coctel de antioxidantes únicamente (vit C, vit E, extracto de racimos de uva y cisteína) si se comparaba con los ratones alimentados con las demás dietas. Resulta interesante observar que la dieta que combinaba el coctel de antioxidantes y L-carnitina (dieta D) inducía también cambios similares en el sebo pero la puntuación en brillo no era buena. Una de las posibles razones de esta diferencia es la presencia de mayor cantidad de pelo gris en los ratones alimentados con esta dieta, ya que se ha demostrado previamente que el brillo se evalúa mejor en un color oscuro. Actualmente no existe explicación alguna por el aumento de la cantidad de pelo gris inducido por la dieta D, pero

podríamos decir que se trata de un defecto transitorio en melanogenesis ya que la alimentación a largo plazo con dieta D (20 meses) no induce dicho fenotipo.

**Ejemplo 2**

1. MATERIAL Y MÉTODOS

1.1 Diseño del estudio en animales:

El efecto de las pruebas nutricionales a largo plazo con las dietas A, B se estudiaba en ratones macho C57/BL6 procedentes de Iffa credo (France) de 9 semanas de edad. Durante el estudio, los ratones se colocaban en jaulas individuales, se sometían a ciclos de 12 horas de luz y de oscuridad y tenían acceso libre a comida y agua.

El efecto de las pruebas nutricionales se estudiaba a intervalos de tiempo diferentes durante la prueba, es decir en ratones jóvenes (6 meses de edad), adultos (12 y 18 meses de edad) y viejos (21 y 24 meses de edad) , es decir después de 3, 9, 15, 18 y 21 meses de tratamiento. Al inicio de la prueba los ratones se distribuían al azar en grupos de 12 ratones y se alimentaban ad libitum. Semanalmente se registraba el peso y el consumo de alimento de cada animal.

1.2 Dietas:

La dieta de control (dieta A) compuesta de un 18% de proteínas (soja y trigo), 11% de grasas, 59% de carbohidratos y 10% de celulosa se complementaba con un coctel de antioxidantes que comprendía vitamina C, vitamina E, extracto de semilla de uva y L-cisteína y L-carnitina (dieta B).

1.3 Medición del brillo de la piel

Nuestro objetivo consistía en evaluar la superficie dorsal de la piel de los ratones por medio de variables ópticas usando métodos no destructivos y relacionando estas variables con los grados visuales de brillo. Hemos utilizado 2 tecnologías instrumentales distintas y comparado sus resultados frente a la evaluación sensorial.

1.3.1 Medición del brillo con Macbeth ColorEye XTH

El brillo de la piel se medía por reflectometría usando un espectrofotómetro portátil "Macbeth, Colour-eye XTH" equipado con una fuente de iluminación de luz de día estándar CIE (Commission International de l'Eclairage) D<sub>65</sub>, un diámetro de visión circular de 10 mm (RAV), en el Componente Especular excluido (SCE) y el Componente Especular incluido (SCI). Esta medición incluye el componente especular y minimiza todos los aspectos del aspecto físico que no sean el color (→color). El brillo de la piel se calculaba como las diferencias de color (parámetros de color) L\*a\*b\* (parámetros de color) entre el modo SCI y el modo SCE conforme a la ecuación siguiente.

Ecuación 1

$$\Delta E^*_{SCI-SCE} = Brillo = \sqrt{(L^*_{SCI} - L^*_{SCE})^2 + (a^*_{SCI} - a^*_{SCE})^2 + (b^*_{SCI} - b^*_{SCE})^2}$$

Excluyendo el color de las mediciones, la ΔE\*(SCI-SCE) proporciona una evaluación del brillo de la muestra. Estos cálculos se utilizaban para medir los aspectos brillantes del pelo del animal. EL Macbeth CE-XTH es un espectrofotómetro y los valores del brillo obtenidos con esta metodología pueden verse influenciados por el color de la muestra, a pesar del uso de una ecuación para eliminar este efecto.

El brillo de la piel se medía en los ratones vivos en la parte inferior de la espalda cerca de la cola. Estas mediciones se realizaban en cada animal.

1.3.1 Brillo mediante una evaluación sensorial

La evaluación sensorial del brillo del pelo se basa en la información percibida por los ojos. El brillo parece que depende de las propiedades de la fibra del pelo como la rigidez del cabello, la densidad y suavidad. La percepción del brillo se encuentra influenciada por el color de la muestra evaluada; un color oscuro parece ser más brillante que un color claro.

Un único individuo sin previa experiencia realizaba una evaluación sensorial del brillo de la piel en el momento del sacrificio. El aspecto de la piel se evaluaba en una escala de 1 a 10 respecto al brillo y la grasa de la piel, la densidad del pelo y la presencia de pelo blanco.

2. RESULTADOS

2.1 Mediciones del brillo de la piel con Macbeth XTH

Efecto de la dieta en el brillo de la piel

La evaluación del brillo de la piel de los ratones se realizaba después de 15 meses de suplemento (ratones de 18 meses de edad). Los resultados se muestran en la tabla 3.

5 Tabla 3: Muestra la mediana de los valores del brillo de la piel medida con los espectrofotómetros Macbeth XTH. Los valores se muestran en unidades de brillo.

Dieta	Mediana de los valores de brillo
Control (A)	0,515
Carnitina + Antioxidante (B)	0,830

10 Los valores del brillo de la piel para cada ratón se normalizaban frente a los valores medios observados para la dieta de control en ratones de 18 meses (no se muestran datos) El análisis de la varianza ANOVA se utilizaba para comprobar el significado de la diferencia entre tratamientos con un margen de confianza del 95%. El grupo "Carnitina + Antioxidante"(B) tiene una piel más brillante (valor P de 0,00023) después de 15 meses de complemento si se compara con el grupo de control (A).

15 2.2. Evaluación sensorial del aspecto de la piel en el momento del sacrificio: brillo, densidad del pelo, aspecto graso y presencia de pelo gris

La densidad del pelo, el aspecto graso y la presencia del pelo gris se comprobaban por separado y se calculaba una matriz de correlación para determinar las relaciones entre los diferentes parámetros.

20 Si se consideraban todos los animales de los grupos dietéticos, se correlacionaba positivamente la densidad del pelo con el brillo de la piel. Eso significa que la densidad del pelo del ratón influye en la decisión de los panelistas. Sin embargo, el pelo gris se correlacionaba negativamente con la evaluación sensorial del brillo de la piel en los ratones de 18 meses de edad pero se podía calcular cualquier correlación con los ratones de 24 meses de edad (tabla 4).  
 25 No se hallaba correlación significativa respecto al efecto de la grasa del pelo sobre el brillo de la piel.

Tabla 4: Correlación entre los parámetros sensoriales. El coeficiente de correlación significativo se calculaba para n (número de mediciones)=60; p=5%, r>0,25 (tabla de Fisher & Yates). NS=relación no significativa.

	Parámetro sensorial del brillo	
	18 meses de edad	24 meses de edad
Densidad del pelo	+	+
Pelo gris	-	NS
Aspecto graso	NS	NS

30 **Ejemplo 3:** Ensayo in vivo en perros

35 Se medía la resistencia a la depilación en perros. Se preparaba una dieta que contenía aproximadamente un 4,6% de blanqueador grasiento, 66% de maíz amarillo, 16% de comida para aves de corral, 9% de comida de ternera & hueso, 4% de germen de maíz, 2% de comida de gluten de maíz a la que se añadía un coctel de principios bioactivos a base de 0,036% de vitamina E, 0,08% de extracto de semilla de uva, 0,1% de vit C, 35% y 0,1% de L-carnitina.

40 Hemos descubierto que el pelo del perro alimentado con la dieta mencionada mostraba una resistencia elevada a la depilación en comparación con los perros alimentados con la misma dieta sin el coctel de principios bioactivos.

**Ejemplo 4:** Alimento seco para animales domésticos

45 Una mezcla a base de aproximadamente un 58% en peso de maíz, un 5,5% de gluten de maíz, un 22% en peso aproximadamente de comida para pollos, un 2,5% de achicoria seca, un 0,1% de carnitina, 0,1% de vit. C, vit. E (150 IU/kg), 0,05% de extracto de proantocianidina de semilla de uva y 0,4% de cisteína como antioxidante, sales, vitaminas y minerales que constituyen el resto. La mezcla se introduce en un pre acondicionador y se humedece. La solución humedecida pasa luego a un extrusor-quemador y se gelatiniza. La matriz gelatinizada que sale del extrusor es forzada a través de una boquilla o troquel y extruida. El extrudado se corta en piezas adecuadas como alimento para perros, se seca a unos 110°C durante aproximadamente 20 minutos y se enfría para formar gránulos. Este alimento seco es capaz de mejorar la calidad de la piel en los perros, en especial el brillo de la piel.

**Ejemplo 5:** Alimento seco para animales domésticos

55 Se prepara una mezcla como en el ejemplo 4, usando un 0,2% de carnitina y un 0,05% de extracto de ginkgo biloba como antioxidante. Luego, la mezcla alimenticia se trata como en el ejemplo 4. El alimento seco para perros mejora especialmente la calidad de la piel de los perros, en particular el brillo de la piel.

**Ejemplo 6:** Fórmula nutricional

- 5 Se prepara una composición nutricional que contiene 100 g de polvo: 15% de hidrolizado proteínico, 25% de grasas, 55% de carbohidratos (que incluyen un 37% de maltodextrina, 6% de almidón, 12% de sacarosa), trazas de vitaminas y oligoelementos para cumplir los requisitos diarios, 2% de minerales y 3% de humedad y 2% de piruvato y 1% de carnosina o del precursor de carnosina como antioxidante.
- 10 13 g de este polvo se mezclan en 100 ml de agua. La fórmula obtenida es especialmente apropiada para mejorar el crecimiento y la calidad del pelo, en particular su brillo.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Una composición no terapéutica, administrable por vía oral para mejorar la calidad del pelo o de la piel en humanos o animales, que comprende una molécula que estimula el metabolismo energético de la célula y los antioxidantes, en la que dicha molécula es la L-carnitina y en la que los antioxidantes son la cisteína, la vitamina C, vitamina E y el extracto de semillas de uva.