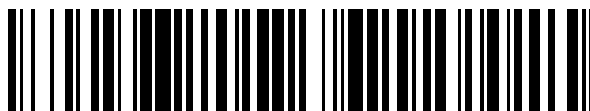


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 548 756**

51 Int. Cl.:

**A61K 8/99** (2006.01)

**A61Q 17/00** (2006.01)

**A61Q 19/00** (2006.01)

**A61Q 19/08** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.05.2007 E 07736622 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.07.2015 EP 2026759**

54 Título: **Uso farmacéutico y cosmético de extractos de algas obtenibles a partir de fuentes de agua caliente salina**

30 Prioridad:

**05.05.2006 IS 8442**

**10.05.2006 IS 8449**

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

**20.10.2015**

73 Titular/es:

**BLAA LONID HF. (100.0%)**

**GRINDAVIKURBRAUT 9**

**240 GRINDAVIK, IS**

72 Inventor/es:

**EINARSSON, SIGURBJORN;**

**BRYNJOLFSDOTTIR, ASA y**

**KRUTMANN, JEAN**

74 Agente/Representante:

**PONTI SALES, Adelaida**

**ES 2 548 756 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

Uso farmacéutico y cosmético de extractos de algas obtenibles a partir de fuentes de agua caliente salina

## 5 CAMPO DE LA INVENCION

**[0001]** La presente invención está en el ámbito de la cosmética y de los ingredientes cosméticamente eficaces, y concierne específicamente al uso de algas verdeazuladas procedentes de fuentes de agua caliente salina para el tratamiento cosmético y/o médico de la piel.

10

## ANTECEDENTES TÉCNICOS Y TÉCNICA ANTERIOR

**[0002]** Existe un interés creciente hacia productos de belleza con ingredientes naturales y hacia productos que prevengan y reduzcan los síntomas del envejecimiento, así como hacia productos que puedan proteger la piel de los diversos agentes estresantes medioambientales. En los productos cosméticos se ha usado una multitud de componentes de diversas fuentes, aunque las pruebas de los efectos beneficiosos de los componentes individuales son en algunos casos muy limitadas.

**[0003]** Las algas, tanto las macroalgas ("algas marinas") como las microalgas, se han usado en productos cosméticos como agentes espesantes, agentes captadores de agua y antioxidantes. Algunas macroalgas, tales como el musgo irlandés y el carragenano, se usan como una fuente natural de proteínas, de vitamina A, de azúcar, de almidón, de vitamina B1 y de minerales que incluyen hierro, sodio, fósforo, magnesio, cobre y calcio. Las algas encontradas normalmente en los cosméticos incluyen *Ulva lactuca*, *Ascophyllum*, *Laminaria longicruris*, *Laminaria saccharine*, *Laminaria digitata*, *Alaria esculenta*, varias especies de *Porphyra*, *Chondrus crispus* y *Mastocarpus stellatus*. Las microalgas también se han usado en composiciones cosméticas, estas incluyen especies de *Chlorella*, *Spirulina*, *Dunaliella* y *Odonrella*.

**[0004]** La Publicación de Patente de EE.UU. publicada como el documento US 2005/0123499 A1 desvela una composición cosmética que comprende al menos dos de los siguientes ingredientes: extracto de algas, hinojo de mar y extracto de *Codium Tamentosum*. Un ejemplo específico contiene una mezcla de un extracto de *Chlorella* vendido con el nombre comercial CHLORELLINE®, un extracto obtenido a partir de *Ulva Lactuca* vendido como AOSAINÉ® y un extracto de flor verde obtenido a partir de *Monostroma*. Otros productos cosméticos que comprenden algas se divulgan en las solicitudes de patente publicadas FR 2834886A, JP2004051568A2, JP 2005047860A2, FR 2838340A, FR 2838341A, FR 2838342A, FR 2806906A, FR 2850277A, FR2796556A, JP11228437A y JP005415A.

**[0005]** Aunque no se comprende totalmente el mecanismo del envejecimiento de la piel, el mercado cosmético ofrece una enorme variedad de productos anti-envejecimiento. La mayoría de los productos disponibles están dirigidos a los mecanismos que estimulan la síntesis de colágeno y de glucosaminoglucano por parte de los fibroblastos de la epidermis, reduciendo los niveles de radicales libres en la piel o aumentando la firmeza y la flexibilidad del estrato córneo.

*Potenciación de la barrera cutánea*

**[0006]** La barrera cutánea, conocida también como barrera de permeabilidad epidérmica, protege frente infecciones y envenenamientos, evita la desecación y es esencial para la vida terrestre. La función de barrera la confiere la capa externa de la epidermis, el estrato córneo, que consiste en células muertas llenas de queratina incluidas en una matriz lipídica. El estrato córneo se forma a partir de los queratinocitos de la capa granular durante la diferenciación terminal de la epidermis de un adulto normal. Una rápida agregación del citoesqueleto de queratina, que provoca el colapso de las células granulares en escamas anucleadas planas, es una etapa clave en la formación de la capa de barrera más externa de la piel. Este citoesqueleto condensado es reticulado por transglutaminasas durante la formación de la cubierta celular cornificada (CE). Las transglutaminasas son expresadas y activadas durante la diferenciación terminal de los queratinocitos. La forma unida a la membrana de la transglutaminasa-1 forma enlaces éster entre residuos específicos de glutaminilo de la involucrina humana durante la formación de la enzima de la cubierta celular cornificada. La CE no sólo evita la pérdida de agua, sino que también impide la entrada de alérgenos y de agentes infecciosos. Durante la última fase de su diferenciación terminal en queratinocitos se produce la formación de una cubierta reticulada. Esta cubierta está formada por proteínas de la membrana y del citosol reticuladas por enlaces isopeptídicos de glutamil lisina. La involucrina, que es una proteína de los queratinocitos que aparece en primer lugar en el citoplasma y posteriormente es reticulada con

las proteínas de la membrana por la transglutaminasa, es el componente más abundante de la cubierta. La loricrina es otro componente principal de la cubierta celular reticulada de la epidermis de la piel, también conocida como cubierta celular cornificada (CE). La filagrina es una proteína que es expresada en los gránulos de la capa granular de la epidermis interfolicular, que está formada predominantemente por la proteína pro-filagrina. Después de la diferenciación terminal de las células granulares, la pro-filagrina es escindida proteolíticamente en péptidos de filagrina. La filagrina agrega el citoesqueleto de queratina y por lo tanto es una proteína clave para facilitar la diferenciación epidérmica y el mantenimiento de la función de barrera. Los agentes que potencian y mejoran la función natural de la barrera cutánea como se ha descrito anteriormente son útiles en productos cosméticos, por ejemplo, para mejorar la retención de humedad en la piel, reducir la formación de piel seca y de forma general para el mantenimiento de la piel en un estado sano y con un buen aspecto.

*Efecto antienviejimiento mediante la inducción de la síntesis de colágeno*

**[0007]** La investigación médica ha demostrado que una causa de la formación de arrugas es la inducción de la expresión de la MMP-1 debido a que el fotoenvejecimiento da lugar a la degradación del colágeno, que no puede ser compensada por una inducción concomitante de la síntesis de colágeno (Scharfetter et al., 1991). Este desequilibrio es aumentado adicionalmente por el hecho de que la radiación UVA da como resultado una disminución en la expresión del colágeno 1A1 y del colágeno 1A2 (Südel et al., 2005). El factor de transcripción AP1 es activado tras la estimulación por UVA y ejerce la inducción de la MMP-1 y la represión del colágeno 1A1 y del colágeno 1A2 (Chung et al., 1996). Por lo tanto, los agentes que estimulen la síntesis de colágeno y que preferiblemente inhiban también la regulación por aumento fotoinducida de las MMP serían muy beneficiosos en los productos cosméticamente activos para el cuidado de la piel, para proporcionar un efecto antienviejimiento.

**[0008]** El término "envejecimiento de la piel" se refiere de forma general al adelgazamiento y/o la degradación general de la dermis. Esto implica una disminución en la expresión del gen del colágeno, una menor actividad de los fibroblastos y una regeneración de los fibroblastos, así como el encogimiento de la barrera laminar, que se refleja en la incapacidad de la piel para retener la humedad. Consecuentemente, el término "antienviejimiento", según se usa en el presente documento, se refiere a un efecto que contrarresta el envejecimiento de la piel, es decir, actúa contra los efectos anteriores para conservar una piel suave y sana.

*Fotoenvejecimiento y fotoprotección de la piel*

**[0009]** La exposición de la piel humana a la luz ultravioleta (UV) induce múltiples efectos perjudiciales sobre la epidermis y la dermis. La radiación UVB (290 - 320 nm) provoca principalmente una fotocarcinogénesis debido a su interacción directa con el ADN celular y la subsiguiente formación de dímeros de ciclobutano, fotoproductos en 6 - 4 y glicoles de timina. La principal consecuencia de la radiación UVA (320 - 400 nm) es la generación de especies de oxígeno reactivas, que sin embargo, también pueden inducir cáncer, por ejemplo, mediante la generación de derivados de bases de ADN oxidados como la 8-hidroxidesoxiguanosina. Mientras que los efectos de los UVB están restringidos principalmente a la epidermis, los rayos UVA afectan directamente al compartimento térmico, y por lo tanto se cree que son el principal factor responsable del fotoenvejecimiento de la piel humana. Se ha demostrado que especialmente la parte de onda larga de los UVA denominada UVA1 (340 - 400 nm) es la responsable de los efectos lesivos en los fibroblastos dérmicos humanos, a través de la inducción de mutaciones en las citocinas, las metaloproteinasas de la matriz y el ADN mitocondrial. De entre éstas, la inducción de la colagenasa (la metaloproteinasa-1 de la matriz, MMP-1) que degrada el colágeno de tipo I, el principal constituyente del tejido conectivo, tiene un significado particular dado que el grado de reducción en el colágeno I se correlaciona con las fotolesiones de la piel humana. Se ha postulado que la regulación por aumento inducida por los UVA1 de la MMP-1 está regulada por bucles autocrinos interrelacionados de interleucina-1 (IL-1) y de interleucina-6 (IL-6); la radiación UVA1 induce rápidamente una vía de actividad de la IL-1 $\alpha$  y de la IL-1 $\beta$  extracelulares, que entonces inducen la expresión de la IL-6. Tanto la IL-1 como la IL-6 potencian la biosíntesis de la MMP-1, con un pico a las 24 h concomitantemente; se simuló la síntesis *de novo* de la IL-1, lo que da lugar a una potenciación adicional de la inducción de la IL-6 y de la MMP-1. Consecuentemente, la inducción de la MMP-1 es un marcador útil del envejecimiento cutáneo. Previamente se ha demostrado que la regulación por aumento de la citocina IL-6 inducida por los UVA es un prerrequisito de la inducción de la MMP-1 inducida por UVA. Por lo tanto, los agentes que reducen la regulación por aumento fotoinducida de las MMP son potencialmente muy útiles para la fotoprotección al reducir y/o ralentizar el fotoenvejecimiento.

**RESUMEN DE LA INVENCION**

**[0010]** Los presentes inventores han averiguado que pueden usarse las microalgas que se encuentran

abundantemente en fuentes geotérmicas específicas ricas en minerales y/o salinas (preferiblemente a una temperatura en el intervalo de aproximadamente 30 - 50 °C) como fuentes de principios farmacéuticamente / cosméticamente activos. Específicamente, según se divulga en el presente documento, los extractos de dichas algas muestran una actividad medible en términos de potenciar la función de barrera de la piel, de tratamiento 5 antienvjecimiento mediante la inducción de la formación de colágeno *de novo* y proporcionando un efecto fotoprotector eficaz (reduciendo los efectos de fotoenvejecimiento de la luz UV).

**[0011]** Como ilustran los Ejemplos del presente documento, dos especies de microalgas taxonómicamente bastante diferentes procedentes de dicho entorno muestran estos efectos biológicos descritos. A partir de esto 10 puede inferirse que los efectos están relacionados con el denominador común de las especies de microalgas, que es la capacidad de prosperar en estas especiales y rigurosas condiciones medioambientales.

**[0012]** En un primer aspecto, la invención proporciona un extracto fragmentado derivado de algas verdeazuladas obtenible a partir de un entorno de agua caliente rica en minerales y/o salina para su uso en un 15 producto farmacéutico y/o cosmético.

**[0013]** En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un extracto derivado de células fragmentadas de algas verdeazuladas obtenible a partir de un entorno de agua caliente rica en minerales y/o salina para la elaboración de un producto farmacéutico y/o cosmético para potenciar la función de barrera de la piel y/o el 20 antienvjecimiento a través de la potenciación de la formación de colágeno y la reducción del fotoenvejecimiento de la piel de un mamífero.

**[0014]** En un aspecto adicional, la invención proporciona una composición cosmética y/o farmacéutica que comprende un extracto de células fragmentadas de algas verdeazuladas obtenible a partir de una fuente de agua 25 caliente rica en minerales y/o salina y uno o más portadores o diluyentes cosméticamente aceptables.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

**[0015]** Las algas verdeazuladas que pueden usarse de acuerdo con la presente invención son fácilmente 30 obtenibles y crecer en abundancia en condiciones de agua caliente rica en minerales y/o salina. Como puede comprenderse a partir de la descripción del presente documento, las microalgas se usan para el fin de la invención, que son microalgas procariotas del grupo denominado generalmente algas verdeazuladas, denominado también cianófitas, y pertenecen a la clase de las cianobacterias. Las algas verdeazuladas tienen una estructura celular procariota y realizan la fotosíntesis directamente en el citoplasma, en lugar de en orgánulos especializados. Algunas 35 algas verdeazuladas filamentosas tienen células especializadas, denominadas heterocistos, en las que se produce la fijación de nitrógeno.

**[0016]** Las microalgas usadas en la invención pueden ser de forma unicelular o pluricelular (por ejemplo, colonial, filamentosas, en malla, y similares). Las propias células individuales pueden tener generalmente forma de 40 coco, de bacilo u otra forma. Las especies específicas de algas usadas en los ejemplos incorporados en el presente documento se recogen a partir de un estanque geotérmico de Islandia ("Blue Lagoon", Svartsengi) con agua procedente de depósitos subterráneos completada con agua marina geotérmica. La salinidad del agua marina geotérmica indica que está formada por un 65 % de agua marina y un y 35 % de agua dulce. El agua del lago tiene una temperatura media de aproximadamente 37 °C, con variaciones locales y estacionales en el intervalo de 45 aproximadamente 30 - 45 °C, a un pH de aproximadamente 7,5 y un contenido salino del 2,5 % en peso. Puede asumirse que las algas tales como las divulgadas en los ejemplos específicos del presente documento pueden cultivarse fácilmente en las correspondientes condiciones, bien en otras ubicaciones geográficas geotérmicas o bien en entornos no naturales simulados.

50 **[0017]** Las células de las algas son fragmentadas para liberar los componentes activos del interior de las células. Esto puede llevarse a cabo mediante varios métodos diferentes bien conocidos por la persona experta, aunque las células de algas útiles en este contexto pueden ser relativamente rígidas y pueden requerir métodos más vigorosos para la ruptura de la célula. Un método preferido comprende la molienda en una mezcla con alúmina (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), partículas de sílice o de cerámica (por ejemplo, en un mortero o en un molino de microsferas) y extraerlas 55 posteriormente a partir del sólido de alúmina / sílice.

**[0018]** Sin embargo también pueden usarse otros métodos, tales como choque osmótico, autólisis, molino mezclador y similares.

*Potenciación de la barrera cutánea*

**[0019]** Sorprendentemente se ha descubierto, como se divulga en los Ejemplos del presente documento, que un extracto de algas como se ha definido anteriormente puede potenciar la función de barrera de la piel, como indican claramente los datos experimentales, en los que se demuestra que los extractos procedentes de los extractos de algas de acuerdo con la invención inducen los marcadores de la formación de la barrera, tales como los mencionados anteriormente, en queratinocitos humanos cultivados.

*Inducción de la síntesis de colágeno*

10

**[0020]** El efecto de los extractos de algas de la invención sobre la inducción de la expresión de Col1A1 y de Col1A2 en fibroblastos dérmicos humanos se ha verificado mediante el uso de una RT-PCR en tiempo real. Los dos extractos de algas ensayados mostraron un aumento en la expresión de los genes del colágeno dependiente de la dosis, con una expresión entre 2 y 3 veces mayor a 2 µg/ml, según se describe con más detalle en los siguientes Ejemplos.

15

*Efecto de fotoenvejecimiento*

**[0021]** Como se ha mencionado anteriormente, la exposición de la piel humana a rayos ultravioleta induce múltiples efectos perjudiciales en la epidermis y la dermis. A menudo se usa la inducción de la MMP-1 como indicador del envejecimiento de la piel, y consecuentemente, los agentes que reduzcan la regulación por aumento fotoinducida de la MMP son potencialmente muy útiles para reducir y/o ralentizar el fotoenvejecimiento.

20

**[0022]** Como demuestran claramente los siguientes Ejemplos, los extractos de acuerdo con la invención, ilustrados por dos algas verdeazuladas taxonómicamente bastante diferentes de agua caliente salina, tienen un efecto significativo sobre la regulación por disminución de la MMP-1 en fibroblastos dérmicos humanos cultivados tras una irradiación UV. Los resultados positivos de estas dos especies bastante diferentes indican que las características beneficiosas que producen los efectos medidos en los extractos celulares no están restringidas a estas especies en particular, sino que más bien están relacionadas con las rigurosas condiciones en las que crecen, comunes a ambas especies, y con el ajuste evolutivo fisiológico que han experimentado estas especies con objeto de prosperar en este entorno especial.

25

30

*Materiales y composiciones preferidas*

**[0023]** La presente invención describe composiciones cosméticas y/o farmacéuticas para aplicaciones tópicas para potenciar la función de barrera de la piel, proporcionando un efecto antienvjecimiento a través de la potenciación de la formación de colágeno y la reducción del fotoenvejecimiento de la piel. Algunas formas de realización preferidas de las preparaciones de la invención se distinguen adicionalmente como productos naturales obtenibles a partir de un entorno geotérmico salino.

35

40

**[0024]** En el presente contexto, el término "aplicación tópica" se refiere a la aplicación o la extensión directamente sobre la piel externa. Se entiende que el término "cosmética" o "composición cosmética" de acuerdo con la invención incluye todos los tipos de productos que son aplicado de cualquier forma directamente sobre la piel con el fin de afectar al aspecto visual general de la piel. La cantidad de composición cosmética, de acuerdo con la presente invención, que se va a aplicar sobre la piel, y la duración o el número de aplicaciones, pueden ser determinados fácilmente sobre una base individual mediante la utilización de la composición cosmética hasta que se obtenga una mejora visible de la superficie externa de la piel.

45

**[0025]** En una forma de realización de la presente invención, el extracto de la presente invención deriva de las algas verdeazuladas obtenibles a partir de un entorno de agua caliente salina para su uso en un producto farmacéutico y/o cosmético. Las algas son adecuadamente recogidas a partir de una fuente natural o cultivadas en unas condiciones adecuadas, se aíslan, y las células de dichas algas se fragmentan preferiblemente para obtener dicho extracto. Las algas que se van a usar de acuerdo con la invención tienen preferiblemente una temperatura de crecimiento óptima en el intervalo de 30 - 70 °C, más preferiblemente en el intervalo de 30 - 50 °C. En algunas formas de realización, las algas de la presente invención comprenden algas de tipo verdeazuladas (cianobacterias), tales como, pero no se limitan a, bacterias con forma de coco y de filamento, que pueden ser unicelulares, coloniales o filamentosas.

50

55

**[0026]** Los extractos de algas obtenibles a partir de un entorno geotérmico salino según se divulga en el

presente documento pueden mezclarse con un portador cosméticamente y/o farmacéuticamente aceptable para formar una composición cosmética o farmacéutica, que puede ser aplicada tópicamente sobre la piel. La composición puede aplicarse sobre la piel en una cantidad cosméticamente, biológicamente o terapéuticamente eficaz durante un periodo de tiempo suficiente como para obtener la reparación o el remodelado de la dermis. Esta  
 5 reparación o remodelado será normalmente apreciable a partir de una mejora visible en el aspecto exterior de la piel. Sin embargo, la aplicación del producto también puede tener como efecto primario deseado la reducción del envejecimiento prematuro y el desgaste de la piel, por ejemplo, del fotoenvejecimiento.

**[0027]** Las composiciones farmacéuticas y cosméticas de acuerdo con la invención pueden incluir, pero no se  
 10 limitan a, además de un componente de extractos de algas según se describe en el presente documento, ingredientes y portadores convencionales usados en los productos cosméticos o farmacéuticos. Dicha composición puede tomar la forma de una crema grasa o no grasa, de una suspensión o una emulsión lechosa del tipo de agua en aceite o de aceite en agua, de una loción, de un gel o de una vaselina, de una solución acuosa u oleosa coloidal o no coloidal, de una pasta, de un jabón, de una espuma, de una base anhidra incluyendo un polvo, de un ungüento,  
 15 de comprimidos semisolubles o dispersables (para ser disueltos / suspendidos en un fluido, tal como agua) o de barras.

**[0028]** En el presente contexto, se entiende que el término "crema" usado en el presente documento engloba  
 20 todos los materiales cosméticos de tipo crema que incluyen, por ejemplo, cremas de manos, cremas limpiadoras, lociones lechosas, cremas frías, cremas evanescentes, cremas capilares, cremas de base, lavados de belleza, envases faciales y similares.

**[0029]** La cantidad de principio activo contenida en las composiciones de la presente invención puede variar  
 en unos límites amplios, dependiendo de la formulación y de la frecuencia de uso de dichas composiciones.  
 25 Generalmente, dichas composiciones pueden contener el 0,01 % - 99 % en peso de los extractos de algas obtenidos a partir del entorno geotérmico salino, pero más normalmente las composiciones contendrán en el intervalo de aproximadamente el 0,01 - 2,5 % en peso del extracto de algas, tal como en el intervalo de aproximadamente el 0,05 - 2,5 % en peso y más preferiblemente en el intervalo del 0,05 - 0,5 % en peso, por ejemplo, en el intervalo de aproximadamente el 0,1 - 0,5 % en peso. La composición puede contener un extracto procedente de una única  
 30 especie de alga o un extracto procedente de dos o más especies, tal que comprende una cualquiera o las dos especies que son divulgadas específicamente en el presente documento.

**[0030]** Las composiciones de acuerdo con la invención también pueden contener vehículos o portadores  
 35 convencionales, tales como disolventes, grasas, aceites y ceras minerales, ácidos grasos y derivados de los mismos, alcoholes y derivados de los mismos, glicoles y derivados de los mismos, glicerol y derivados del mismo, sorbitol y derivados de los mismos, agentes tensioactivos del tipo aniónico, catiónico o no iónico, agentes emulsionantes, agentes conservantes, perfumes, etc.

**[0031]** Como se ha mencionado anteriormente, la invención también se refiere a composiciones farmacéuticas  
 40 que comprenden extractos de células fragmentadas de algas verdeazuladas de acuerdo con la invención y el uso de los extractos de algas de la invención en la elaboración de medicamentos para el tratamiento terapéutico de enfermedades, trastornos y afecciones que responden al efecto terapéutico divulgado en el presente documento. Estas composiciones farmacéuticas pueden usarse en el tratamiento de afecciones cutáneas tales como daños en la piel debidos a corticoides, atrofia cutánea, debilidad estructural del tejido conectivo, curación de heridas y dermatitis  
 45 atópica, eccema, psoriasis, rosácea y otras enfermedades cutáneas.

**[0032]** En una forma de realización de la presente invención se proporciona el uso de un extracto según se  
 describe en el presente documento para la elaboración de un producto farmacéutico y/o cosmético para potenciar la  
 50 función de barrera de la piel, proporcionar un efecto antienvjecimiento a través de la potenciación de la formación de colágeno *de novo* en la piel y/o la reducción del fotoenvejecimiento de la piel de un mamífero, incluyendo de un ser humano.

**[0033]** Como se ilustra con los Ejemplos anexos, el efecto biológico de los extractos de la invención para  
 55 potenciar la función de barrera de la piel, inducir la formación de colágeno y reducir el fotoenvejecimiento, puede ser medido mediante la monitorización de diversos biomarcadores tales como, respectivamente para las actividades mencionadas:

- inducción de la involucrina, la transglutaminasa-1, la filagrina y la loricrina en queratinocitos humanos,

- inducción de la expresión de Col1A1 y de Col1A2 en fibroblastos dérmicos humanos, y
- regulación por aumento de la MMP1 en fibroblastos dérmicos humanos tras una irradiación UV.

5 **[0034]** La monitorización de los biomarcadores puede ser monitorizada mediante el seguimiento de la expresión génica de estos marcadores mediante el uso de métodos tales como, pero no se limitan a, micromatrices y RT-PCR. La monitorización de los biomarcadores puede monitorizarse adicionalmente mediante la medición de los niveles de proteínas mediante el uso de métodos tales como, pero no se limitan a, inmunoensayo incluyendo análisis mediante ELISA, RIA, EIA y FACS etc., o espectrometría de masas, incluyendo micromatrices de proteínas y  
10 métodos inmunohistoquímicos.

**[0035]** En una forma de realización de la presente invención se proporciona una composición cosmética y/o farmacéutica que comprende un extracto de células fragmentadas procedente de algas tales como las descritas anteriormente, y uno o más portadores o diluyentes farmacéuticamente y/o cosméticamente aceptables. La  
15 composición cosmética de acuerdo con la forma de realización puede ser de cualquiera de los tipos mencionados anteriormente en el presente documento.

**[0036]** En ciertas formas de realización, las algas de la presente invención pueden comprender cualquiera o ambas de las *Cyanobacterium* sp., depositadas en la Culture Collection of Algae and Protozoa SAMS Research  
20 Services Ltd. Reino Unido, con los números de registro CCAP 1483/1 y CCAP 1483/1, con la identificación de referencia de la identificación del Solicitante BLICE-0405-01 y BLICE-0405-02, respectivamente.

**[0037]** También, en algunas formas de realización útiles, las algas verdeazuladas usadas en la invención pueden ser caracterizadas por sus secuencias de ARNr 16S, es decir la secuencia de ARN del dominio 16S del  
25 ribosoma. El gen del ARNr 16S se ha usado como marcador molecular, permitiendo la clasificación filogenética de los organismos a partir de los que se ha originado. Se han secuenciado las secuencias del ARNr 16S de las dos especies de algas que se usan en los Ejemplos anexos. La secuencia de ARNr 16S de la especie de alga cocoide identificada como BLICE-0405-01 se muestra como la ID. SEC. N°: 19 y la secuencia del ARNr 16S de la especie de alga filamentosa identificada como BLICE-0405-02 se muestra como la ID. SEC. N°: 20. Consecuentemente, en las  
30 formas de realización útiles de la invención, los extractos de algas usados según se describen en el presente documento y los productos que comprenden dichos extractos comprenden algas de una o más especies de algas verdeazuladas del grupo de especies que tiene una secuencia de ARNr 16S que se muestra como el ID. SEC. N°: 19, una secuencia de ARNr 16S que se muestra como el ID. SEC. N°: 20,

35 Combinaciones de extractos de algas y sílice

**[0038]** La solicitud internacional pendiente de tramitación del Solicitante titulada "Pharmaceutical and cosmetic use of sílice" y la correspondiente solicitud IS 8448 depositada el 5 de mayo de 2006, divulgan que la sílice, en una forma adecuada, tiene un efecto biológico beneficioso en los productos para la piel, según se demuestra con los  
40 correspondientes ensayos, según se describe en la presente solicitud. La sílice es el término para el dióxido de silicio (SiO<sub>2</sub>) que se encuentra en varias formas en la naturaleza, y también puede ser sintetizado mediante la precipitación de ácidos silícicos y mediante procesos basados en la lixiviación ácida de materiales silícicos. El material de sílice preferido de acuerdo con la invención es el lodo de sílice natural precipitado a partir de fuentes salinas geotérmicas, tales como el estanque geotérmico Blue Lagoon de Islandia ("Blue Lagoon", Svartsengi)  
45 mencionado anteriormente. Cuando el agua subterránea caliente alcanza la superficie de tierra, la temperatura y la presión de sus gotas producen la precipitación de la sílice, formando una sustancia lodosa coloidal de color blanco con un elevado contenido salino, que se denomina en el presente documento "lodo de sílice".

**[0039]** Consecuentemente, puede añadirse sílice según se describe en la mencionada solicitud a las  
50 formulaciones de la presente invención para potenciar adicionalmente el efecto beneficioso documentado en el presente documento. La sílice puede ser incorporada en cualquier forma de producto mencionada anteriormente, en una concentración adecuada, tal como en el intervalo de aproximadamente el 0,01 - 99 % y preferiblemente en el intervalo del 0,01 - 10 % y más preferiblemente en el intervalo de aproximadamente el 0,05 - 2,5 % en peso, tal como en el intervalo de aproximadamente el 0,05 - 1,0 % en peso y más preferiblemente en el intervalo de  
55 aproximadamente el 0,05 - 0,50 % en peso, tal como, por ejemplo, de aproximadamente el 0,10 % en peso, de aproximadamente el 0,20 % en peso o de aproximadamente el 0,25 % en peso o de aproximadamente el 0,30 % en peso.

**[0040]** Consecuentemente, la presente invención proporciona formulaciones que comprenden un extracto

procedente de una o más especies de algas tales como las mencionadas en el presente documento junto con sílice biológicamente activa. Las formulaciones son adecuadas como productos cosméticos o farmacéuticos. La invención también incluye el uso de dichas combinaciones para la elaboración de un medicamento, preferiblemente para el tratamiento o la profilaxis de cualquier enfermedad, trastorno y afección que responda al efecto terapéutico  
5 divulgado en el presente documento (por ejemplo, para cualquiera de las indicaciones mencionadas anteriormente).

**[0041]** Consecuentemente, la invención también se refiere a un método para potenciar la función de barrera natural de la piel de un mamífero, incluyendo un ser humano, que comprende la aplicación en dicha piel de una composición cosmética con una cantidad potenciadora de la función de barrera de la piel de una combinación de un  
10 extracto de algas y sílice según se describe en el presente documento. El método se establece particularmente como método cosmético, es decir, un método para afectar al aspecto visual de la piel. La composición cosmética se selecciona adecuadamente de entre cualquiera de los tipos convencionales de formulaciones cosméticas tópicas tales como los descritos anteriormente en el presente documento.

**[0042]** En un aspecto adicional, la invención proporciona un método cosmético para la reducción del fotoenvejecimiento de la piel de un mamífero, tal como un ser humano, que comprende la aplicación en dicha piel de una composición cosmética preferiblemente tal como se ha descrito anteriormente, con una cantidad fotoprotectora de una combinación de un extracto de algas y sílice según se describe en el presente documento, preferiblemente  
15 formulada según se describió anteriormente en el presente documento.

**[0043]** En un aspecto más se proporciona un método para reducir el efecto de envejecimiento de la piel en la piel de un mamífero que comprende la aplicación en dicha piel de una composición cosmética con una cantidad eficaz anti-envejecimiento de la combinación de un extracto de algas y sílice según se describe en el presente documento. Como se entiende a partir de la descripción establecida anteriormente, la cantidad eficaz  
20 anti-envejecimiento de dicha combinación preferiblemente induce la formación de colágeno en la piel, como puede evaluarse con los métodos descritos en los Ejemplos divulgados.

**[0044]** Para el uso de acuerdo con la presente invención, el lodo de sílice como se ha descrito anteriormente puede purificarse adecuadamente adicionalmente, mediante la eliminación de las partículas groseras, un aclarado y un lavado. Las sales de tipo marino (principalmente NaCl, KCl y CaCl<sub>2</sub>) no serán totalmente aclaradas del material, y por lo tanto el material tendrá un contenido salino significativo, que sin embargo no es considerado perjudicial y que de hecho se cree que es favorable. En ciertos productos cosméticos pueden desearse sin embargo partículas groseras, y en dichos casos las partículas más finas pueden ser separadas para proporcionar una mayor proporción de material grueso (aglomerados).  
30

**[0045]** Los anteriores aspectos y formas de realización se refieren también a la sílice en cualquier otra forma cosméticamente adecuada procedente de otras fuentes y preferiblemente más convencionales, por ejemplo, sílice de diatomeas, tierra de diatomeas refinada (kieselguhr), sílice coloidal en forma de un material o una suspensión lodosa, sílice precipitada tal como la producida a partir de soluciones de silicato de sodio y ácido y/o mediante la disolución de minerales de silicato, también pueden usarse para la invención diversas formas de ácidos silícicos, para su uso en forma de soluciones (por ejemplo, soluciones supersaturadas) o para precipitar la sílice.  
40

**[0046]** Se ha ensayado sílice coloidal disponible comercialmente y, como se documenta el presente documento, dicho material muestra una actividad significativa en todos los ensayos de actividad empleados.  
45

**[0047]** También puede simularse el lodo de sílice geotérmico precipitado con otras formas de sílice mediante la mezcla de sales características en unas cantidades apropiadas con sílice en una forma adecuada.

#### *Descripción de la sílice*

**[0048]** La sílice que es adecuada para su uso de acuerdo con la invención tendrá generalmente las propiedades materiales típicas de la sílice precipitada, tales como con respecto a la distribución del tamaño de partícula, el área superficial específica y la porosidad. Debería apreciarse que los parámetros pueden verse afectados por el tratamiento del material silíceo para la obtención de la sílice con las propiedades materiales deseadas dependiendo de la aplicación y la formulación previstas. Consecuentemente, en las formas de realización útiles, la sílice usada en la invención tendrá un área superficial específica BET en el intervalo de aproximadamente 10 - 200 m<sup>2</sup>/g, tal como en el intervalo de aproximadamente 10 - 100 m<sup>2</sup>/g, incluyendo en el intervalo de 20 - 100 m<sup>2</sup>/g o en el intervalo de 10 - 50 m<sup>2</sup>/g, pero no se limita estos intervalos en particular, siempre que el material muestre las propiedades biológicas deseadas según se ejemplifica en el presente documento. El tamaño de  
55



partícula de la sílice para su uso en la invención puede variar, y el tamaño de partícula puede verse afectado por el tratamiento del material silíceo, por ejemplo, con ultrasonidos, con objeto de romper los aglomerados en partículas más pequeñas. Consecuentemente, la sílice usada según se describe en el presente documento puede tener un valor de tamaño de partícula d50 ( $\mu\text{m}$ ) en el intervalo de desde aproximadamente 2  $\mu\text{m}$  hasta aproximadamente 75  $\mu\text{m}$ , tal como en el intervalo de 4 - 50  $\mu\text{m}$ , por ejemplo, en el intervalo de aproximadamente 4 - 25  $\mu\text{m}$  o en el intervalo de aproximadamente 10 - 50  $\mu\text{m}$ . La distribución del tamaño de partícula puede ser estrecha o ancha, tal como tener un valor de d90 en cualquier punto del intervalo de aproximadamente 10 - 350  $\mu\text{m}$ , en el que dependiendo de las características de textura del producto deseado, la sílice puede ser seleccionada y/o tratada para que tenga un tamaño de partícula generalmente grueso o un tamaño de partícula generalmente fino.

10 **[0049]** El lodo de sílice ensayado indujo significativamente la expresión de los marcadores de diferenciación involucrina, filagrina y transglutaminasa-1, especialmente en el punto temporal inicial (24 h después de la adición de la sustancia ensayada). La segunda muestra de sílice (metasilicato de sodio) también mostró una sustancial regulación por aumento.

15 **[0050]** Se ha verificado el efecto de la sílice sobre la inducción de la expresión de Col1A1 y de Col1A2 en fibroblastos dérmicos humanos mediante el uso de una RT-PCR en tiempo real. El lodo de sílice ensayado mostró un aumento en la expresión dependiente de la dosis de los genes del colágeno con una expresión máxima de 2 veces a 10  $\mu\text{g/ml}$ .

20 **[0051]** Como se ensayó en dos muestras diferentes de fuentes naturales diferentes, tiene un efecto significativo sobre la regulación por disminución de la MMP-1 en fibroblastos dérmicos humanos cultivados tras una irradiación UV. El lodo de sílice proporcionado por el Blue Lagoon inhibió la regulación por aumento dependiente de la dosis tanto de la IL-6 como de la MMP-1. Se observaron unos resultados similares para la sustancia de control de  
25 metasilicato de sodio.

**[0052]** Los resultados de los dos tipos diferentes de sílice indican que las características beneficiosas que producen los efectos medidos en el material no son exclusivas de la sílice precipitada a partir de fuentes geotérmicas salinas, y demuestran claramente que la sílice inhibe de una forma dependiente de la dosis la regulación por aumento inducida por UVA de ambos marcadores, la IL-6 y la MMP-1.

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

35 **[0053]** La FIG. 1 muestra los resultados del Ejemplo 3, que ilustra el efecto inductor del extracto de las algas verdeazuladas cocoides identificadas como BLICE-0405-01 (Nº de registro del CCAP 1483/1) a unas concentraciones variables sobre la expresión génica de los queratinocitos epidérmicos humanos.

40 La FIG. 2 muestra los resultados del Ejemplo 3, que ilustra el efecto inductor del extracto de las algas verdeazuladas filamentosas identificadas como BLICE-0405-02 (Nº de registro del CCAP 1483/2) a unas concentraciones variables sobre la expresión génica de los queratinocitos epidérmicos humanos.

45 La FIG. 3 muestra los resultados del Ejemplo 4, que ilustra el efecto de los extractos BLICE-0405-01 sobre la expresión de la MUMP-1 (parte superior izquierda), la expresión de la IL-6 (parte superior derecha), y el efecto de los extractos BLICE-0405-02 sobre la expresión de la MMP-1 (parte inferior izquierda), la expresión de la IL-6 (parte inferior derecha) en Fibroblastos.

50 La FIG. 4 muestra los resultados del Ejemplo 5, que ilustra el efecto de los extractos BLICE-0405-01 y BLICE-0405-02 sobre la expresión génica del colágeno 1A1 y del colágeno 1A2 en Fibroblastos.

#### EJEMPLOS

##### Ejemplo 1: preparación del extracto a partir de algas verdeazuladas cocoides de agua caliente salina

55 **[0054]** Las algas del tipo denominado BLICE-0405-01 se recogieron a partir de tanques de cultivo, se lavaron tres veces en solución salina tamponada con fosfato, se dejaron sedimentar y se decantaron. Las células se añadieron a dos partes de partículas de alúmina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) (Sigma, Alúmina A 2039) en un mortero, moliendo con una mano de mortero mientras la masa hacía un ruido penetrante. Los extractos se centrifugaron (1 hora, 20.000 x g,

4 °C). Este extracto se denomina a continuación Extracto 1 o Muestra 1.

**Ejemplo 2: preparación del extracto a partir de algas verdeazuladas filamentosas de agua caliente salina**

- 5 **[0055]** Las algas del tipo denominado BLICE-0405-02 se recogieron a partir de tanques de cultivo y se prepararon esencialmente como se ha descrito en el Ejemplo 1. Este extracto se denomina a continuación Extracto 2 o Muestra 2.

**Ejemplo 3: inducción de la diferenciación en queratinocitos epidérmicos humanos por parte del extracto de algas**

10

**[0056]** Se ha evaluado el efecto de los extractos obtenidos en los Ejemplos 1 y 2 sobre los marcadores de diferenciación involucrina, transglutaminasa-1, filagrina y loricrina en queratinocitos epidérmicos humanos. Como control se usó una mezcla de ceramida (10 µM) para inducir los marcadores de diferenciación.

15

*Materiales y métodos*

**[0057]** Se cultivan queratinocitos epidérmicos humanos normales cultivados a largo plazo, NHEK, preparados a partir de prepucio neonatal en Keratinocyte SFM (Invitrogen, Heidelberg, Alemania) complementado con extracto de pituitaria bovina (Invitrogen, Heidelberg, Alemania) y factor de crecimiento epidérmico recombinante (Invitrogen, Heidelberg, Alemania). Las células se propagan hasta un pase de 2 o 3 a 37 °C y un 5 % de CO<sub>2</sub>. Para la inducción de la diferenciación se siembran los NHEK en placas de 6 pocillos y se cultivan hasta confluencia y se tratan con varias concentraciones de los extractos de algas.

20

**[0058]** El ARN total se aisló mediante el uso de los Kits RNeasy Total RNA (Qiagen, Hilden, Alemania). La concentración de ARN se determinó a través de una medición fotométrica a 260 / 280 (Biophotometer, Eppendorf AG, Hamburg, Alemania). Se usó una alícuota de 100 ng de ARN para la síntesis del ADNc. Se usó el sistema de síntesis Superscript™ III First-Strand para la RT-PCR (Invitrogen, Karlsruhe, Alemania) para la etapa de transcripción inversa con hexámeros aleatorios. Para cada gen se diseñó un par de cebadores específicos mediante el programa informático Primer Express™ 2.0 (Applied Biosystems, Darmstadt, Alemania) basándose en la secuencia de ADNc publicada como se ha indicado. Se usaron los siguientes pares de cebadores:

30

**Tabla 1:** genes y pares de cebadores usados para la RT-PCR en tiempo real para la determinación de la expresión génica en el Ejemplo 3

35

| Gen                | Pares de cebadores               |                 |
|--------------------|----------------------------------|-----------------|
| ARNr 18S           | 5'-GCCGCTAGAGGTGAAATCTTG-3'      | ID. SEC. Nº: 1  |
|                    | 5'-CATTCTTGGCAAATGCTTTTCG'-3'    | ID. SEC. Nº: 2  |
| Transglutaminasa-1 | 5'-CCCCGCAATGAGATCTACA-3'        | ID. SEC. Nº: 3  |
|                    | 5'-ATCCTCATGGTCCACGTACACA-3'     | ID. SEC. Nº: 4  |
| Involucrina        | 5'-CCCATCAGGAGCAAATGAAAC-3'      | ID. SEC. Nº: 5  |
|                    | 5'-GCTCGACAGGCACCTTCTG-3'        | ID. SEC. Nº: 6  |
| Filagrina          | 5'-AAGGAACCTTCTGGAAAAGGAATTC-3'  | ID. SEC. Nº: 7  |
|                    | 5'-TTGTGGTCTATATCCAAGTGATCCAT-3' | ID. SEC. Nº: 8  |
| Loricrina          | 5'-T CACATTGCCAGCATCTTCTCT-3'    | ID. SEC. Nº: 9  |
|                    | 5'-GGCTGCTTTTCTGATAAGACATCT-3'   | ID. SEC. Nº: 10 |

**[0059]** Las reacciones de PCR se llevaron a cabo con un Opticon 1 (MJ Research, Waltham, MA, EE.UU.) mediante el uso de la mezcla maestra CR SYBR Green® (Applied Biosystems, Darmstadt, Alemania). Cada muestra se analizó por duplicado empleando el protocolo universal durante 36 ciclos. En detalle, activación durante 10

minutos a 94 °C de la polimerasa taq de inicio en caliente, desnaturalización 20 segundos a 95 °C, hibridación 20 segundos a 55 °C, extensión 30 segundos a 72 °C. Para la comparación de la expresión relativa en la PCR en tiempo real entre las células de control y las células tratadas se usó el método 2 (-delta delta C(T)).

## 5 Resultados

**[0060]** Los resultados de los experimentos muestran una inducción de los marcadores de diferenciación en los queratinocitos tratados con el extracto nº 1 procedente de algas cocoides. Como control positivo conocido se usó una mezcla de ceramida (10 µM) para inducir los marcadores de diferenciación. Para una mejor comparación se han tratado los queratinocitos en un segundo análisis con las mismas concentraciones basándose en el contenido en proteínas de los extractos (8,3 y 0,8 µg/ml). En estas condiciones los cuatro marcadores de la inducción de la diferenciación de los queratinocitos estaban regulados por aumento. Se usó una mezcla de ceramida como control positivo, que indujo los marcadores transglutaminasa-1 (TG-1), involucrina (INV), filagrina (FILA) y loricrina (LORI) en un grado similar.

**[0061]** Las FIG. 1 y 2 muestran el patrón de expresión de la transglutaminasa-1, de la involucrina, de la filagrina y de la loricrina, en respuesta a los extractos de algas 1 y 2; todos estos genes son marcadores de la potenciación de la barrera cutánea, como se ha analizado.

**[0062]** La FIG. 1 a - d muestra la inducción en la expresión de los cuatro marcadores en respuesta al extracto de algas 1 (algas cocoides). Las dos mayores concentraciones del extracto de algas (paneles a y b) muestran un pronunciado aumento en la expresión de todos los genes ensayados, aunque la expresión de la loricrina no aumentó hasta un grado tan amplio como los otros genes ensayados. La expresión génica era en cierta medida dependiente de la dosis, y los diferentes genes fueron inducidos en puntos temporales diferentes, pero se esperaría que los genes implicados en un proceso de diferenciación estuvieran regulados por aumento y por disminución en diferentes puntos temporales. Por ejemplo, se observó una inducción temprana del gen de la involucrina a la concentración más alta de ambos extractos, mientras que los genes de la filagrina y de la transglutaminasa-1 tienen una regulación por aumento en cierta medida tardía.

**[0063]** La FIG. 2 a - d muestra el patrón de expresión de la transglutaminasa-1, de la involucrina, de la filagrina y de la loricrina, en respuesta a los extractos de algas filamentosas (extracto 2). Los cuatro marcadores son inducidos en respuesta al extracto, y la inducción es incluso más pronunciada que la que se observó cuando los cultivos fueron estimulados con un extracto de algas cocoides (FIG. 1 a - d).

**[0064]** Como referencia del estado de la técnica se usó una mezcla de ceramida que indujo los marcadores transglutaminasa-1, Involucrina, Filagrina y Loricrina en un grado similar (no mostrado).

**[0065]** Estos resultados demuestran que ambos extractos de las algas cocoides y filamentosas no sólo inducen una diferenciación terminal de los queratinocitos, sino que también inducen la expresión de los genes más importantes para la potenciación de la barrera cutánea.

### **Ejemplo 4: efecto inhibitor del fotoenvejecimiento de los extractos de algas**

**[0066]** La capacidad fotoprotectora de los extractos de algas fue evaluada en fibroblastos dérmicos humanos irradiados con UVA. La inducción de la MMP-1 es un marcador del envejecimiento cutáneo. Previamente se ha demostrado que la regulación por aumento inducida por UVA de la citocina IL-6 es un prerrequisito de la inducción de la MMP-1 inducida por UVA.

### **Materiales y métodos**

**[0067]** Se cultivan fibroblastos dérmicos humanos, HDF, preparados a partir de prepucio neonatal en DMEM complementado con un 10 % de FBS en un 5 % de CO<sub>2</sub> durante 4 días hasta que alcanzan confluencia, según se describe (Vielhaber et al., 2006). Para todos los estudios sólo se usarán los fibroblastos de paso temprano (< 12) para evitar cambios en su fenotipo original durante el subcultivo.

**[0068]** Los fibroblastos se incuban con diferentes cantidades de extractos de algas (1 y 2) y se someten a luz UV. En resumen, para la irradiación UVA el medio se sustituyó por solución salina tamponada con fosfato, se retiraron las tapas y las células se expusieron a una dosis de 30 J/cm<sup>2</sup> de UVA1 mediante el uso de un sistema UVASUN 24,000 (Sellas GmbH, Dr. Sellmeier Gevelsberg, Alemania). La emisión de UVA1 fue determinada con un

UVAMETER de tipo II (Waldmann, Villingen-Schwenningen, Alemania) y se encontró que era de aproximadamente 150 mW/cm<sup>2</sup> de UVA1 en un tubo a una distancia objetivo de 30 cm (Grether-Beck et al, 1996; Grether-Beck et al, 2000). En paralelo se analizan controles sin extracto de algas. Después de una irradiación de 6 h o de 24 h de UV, se recogen las células y se aísla el ARN total como se ha descrito anteriormente en el Ejemplo 3. Se llevó a cabo una PC cuantitativa como se ha descrito anteriormente en el Ejemplo 3 mediante el uso de pares de cebadores específicos, según se indica en la Tabla 2. Las reacciones de PCR se llevaron a cabo como en el Ejemplo 3.

**Tabla 2:** genes y pares de cebadores usados para la RT-PCR en tiempo real para la determinación de la expresión génica en el Ejemplo 4

10

| Gen      | Pares de cebadores           |                 |
|----------|------------------------------|-----------------|
| ARNr 18S | 5'-GCCGCTAGAGGTGAAATTCTTG-3' | ID. SEC. Nº: 1  |
|          | 5'-CATTCTTGCAAATGCTTTTCG'-3' | ID. SEC. Nº: 2  |
| MMP-1    | 5'-GGGAGATCATCGGGACAAC-3'    | ID. SEC. Nº: 11 |
|          | 5'-GGGCCTGGTTGAAAAGCAT-3'    | ID. SEC. Nº: 12 |
| IL-6     | 5'-AGCCGCCACACAGA -3'        | ID. SEC. Nº: 13 |
|          | 5'-CCGTCGAGGATGTACCGAAT -3'  | ID. SEC. Nº: 14 |

Resultados

**[0069]** La FIG. 3 muestra que los extractos de algas (1 y 2) de fuentes geotérmicas tienen un efecto inhibitorio de la expresión de la MMP-1 de una forma dependiente de la dosis. El extracto de algas 1 inhibió de una forma dependiente de la dosis la regulación por aumento de la MMP-1 inducida por UVA (FIG. 3 a y b). En todos los paneles a) hasta d) las columnas de la izquierda muestran los resultados sin irradiación UV y las columnas de la derecha muestran los resultados después de la irradiación UV. 'c' indica muestras de control sin ningún extracto de algas añadido, también se ensayó la Vitamina E como control comparativo.

20

**[0070]** Una mirada más de cerca a las respuestas dependientes de la dosis mostraron que ambos extractos pueden inhibir la regulación por aumento de la MMP-1 inducida por UVA:

El Extracto 1 inhibe la inducción de la MMP-1 inducida por UVA hasta un 82,7 % (2 µg/ml). El Extracto 2 inhibe la regulación por aumento de la MMP-1 inducida por UVA hasta un 70,3 % (2 µg/ml). Estos resultados están en el intervalo de los protectores solares químicos. No se observó ningún efecto significativo de los extractos de algas sobre la expresión de la IL-6. (FIG. 3 c y d)

25

**[0071]** Los datos del análisis de la expresión de la MMP-1 indican fuertemente que ambos extractos de algas (FIG. 3 a y b) previenen el fotoenvejecimiento de la piel mediante la inhibición de la expresión de la MMP-1 inducida por UVA en fibroblastos humanos.

30

**Ejemplo 5: efecto potenciador cutáneo de los extractos de algas - síntesis de novo de colágeno**

**[0072]** El efecto de los extractos de los Ejemplos 1 y 2 sobre los niveles de expresión de los genes Col1A1 y Col1A2 que codifican para los colágenos 1A1 y 1A2.

35

Materiales y métodos

**[0073]** Fibroblastos dérmicos humanos, HDF, preparados a partir de prepucio neonatal y cultivados durante 4 días hasta que alcanzan confluencia, según se describe en el Ejemplo 2. Las reacciones de PCR se llevaron a cabo como en el Ejemplo 1 mediante el uso de pares de cebadores específicos según se indica en la Tabla 3.

40

**Tabla 3:** genes y pares de cebadores usados para la RT-PCR en tiempo real para la determinación de la expresión génica en el Ejemplo 5

45

| Gen          | Par de cebadores                | Referencia      |
|--------------|---------------------------------|-----------------|
| ARNr 18S     | 5'-GCCGCTAGAGGTGAAATTCTTG-3'    | ID. SEC. Nº: 1  |
|              | 5'-CATTCTTGGCAAATGCTTTCG'-3'    | ID. SEC. Nº: 2  |
| Colágeno 1A1 | 5'-CCTGCGTGTACCCCACTCA-3'       | ID. SEC. Nº: 15 |
|              | 5'-ACCAGACATGCCTCTTGTCTT-3'     | ID. SEC. Nº: 16 |
| Colágeno 1A2 | 5'-GATTGAGACCCTTCTTACTCCTGAA-3' | ID. SEC. Nº: 17 |
|              | 5'-GGGTGGCTGAGTCTCAAGTCA-3'     | ID. SEC. Nº: 18 |

Resultados

5 **[0074]** La FIG. 4 muestra la capacidad de ambos extractos de algas cocoides y filamentosas para inducir la expresión de los genes que codifican para las proteínas de la matriz extracelular, el colágeno 1A1 y el colágeno 1A2. Se ha demostrado que la expresión inducida del colágeno previene el envejecimiento de la piel mediante la inducción de la regeneración de la piel a través de una síntesis *de novo* del colágeno.

**Ejemplo 6: preparación de formulaciones con extractos de algas para uso cosmético y/o farmacéutico**

10

**[0075]** Los siguientes son ejemplos de diferentes composiciones para aplicación tópica.

**Ejemplo 6 (a): preparación de un producto en espuma**

15 **[0076]**

**Tabla 4:** ingredientes

|   |   |        |
|---|---|--------|
| A | Agua  | 80 %   |
| A | Laureth sulfato de sodio  | 10,0 % |
| A | Agua marina ( <i>maris aqua</i> )   | 2,0 %  |
| A | Cocamidopropil betaína, cocoglucósido   | 3,0 %  |
| A | Cloruro de sodio  | 1,0 %  |
| A | Glicerina   | 0,80 % |
| A | Extracto de algas cocoides (del Ej. 1)  | 0,05 % |
| A | Extracto de algas filamentosas (del Ej. 2)  | 0,45 % |
| B | Fenoxietanol (y) metilparabeno (y) etilparabeno (y) propilparabeno (y) butilparabeno (e) isobutilparabeno | 1,0 %  |
| B | Conservantes, perfume, excipientes menores  | 1,7 %  |

20 **[0077]** Se mezclan los ingredientes de la fase A, se mezclan los ingredientes de la fase B y posteriormente se añade la fase B a la fase A, y se mezclan.

**Ejemplo 6 (b): preparación de un producto en emulsión; se mezclan los siguientes ingredientes:**

25 **[0078]**

Tabla 5: ingredientes

|   |   |        |
|---|---|--------|
| A | Agua  | 77 %   |
| A | Carbómero   | 0,4 %  |
| B | Glicéridos vegetales hidrogenados   | 2,5 %  |
| B | Alcohol cetearílico   | 2,0 %  |
| B | Triglicéridos de ácidos grasos C6-C10   | 2,0 %  |
| B | Agente(s) ajustadores de la viscosidad  | 2,5 %  |
| B | Agente(s) emulsionante(s) adicional(es)   | 3,5 %  |
| C | Agua marina ( <i>maris aqua</i> )   | 3 %    |
| C | Glicerina   | 1,50 % |
| C | Extracto de algas cocoides (del Ej. 1)  | 0,05 % |
| C | Extracto de algas filamentosas (del Ej. 2)  | 0,45 % |
| C | Hidróxido de sodio y otros ajustadores del pH   | 0,75 % |
| D | Fenoxietanol (y) metilparabeno (y) etilparabeno (y) propilparabeno (y) butilparabeno (e) isobutilparabeno | 1,0 %  |
| D | Otros conservantes, perfume, otros excipientes menores  | 1,3 %  |
| E | Octenil succinato de almidón de aluminio  | 2,0 %  |

**[0079]** Los ingredientes A se mezclan a 70 °C, se mezclan los ingredientes B y se añaden a la fase A. Se añaden los ingredientes C en el orden mostrado a la mezcla a 45 °C, se añaden los ingredientes D a 40 °C y se añaden los ingredientes E a 35 °C.

**Ejemplo 6 (c): preparación de una loción; se mezclan los siguientes ingredientes:**

**[0080]**

**Tabla 6:** ingredientes

|   |   |        |
|---|---|--------|
| A | Agua  | 89 %   |
| B | Agua marina ( <i>maris aqua</i> )   | 2,7 %  |
| B | Glicerina   | 2,5 %  |
| B | PCA de sodio  | 0,60 % |
| B | Extracto de algas cocoides (del Ej. 1)  | 0,03 % |
| B | Extracto de algas filamentosas (del Ej. 2)  | 0,45 % |
| B | Hidróxido de sodio (y otros ajustadores del pH)   | 0,25 % |
| C | Aceite de ricino hidrogenado PEG-40   | 0,70 % |
| C | Polisorbato (y) ácido benzoico  | 0,50 % |
| C | Fenoxietanol (y) metilparabeno (y) etilparabeno (y) propilparabeno (y) butilparabeno (e) isobutilparabeno | 1,0 %  |
| C | Otros conservantes, perfume, otros excipientes menores, agentes colorantes, etc.                          | 1,17 % |

**[0081]** Se mezclan los ingredientes de la fase A, a los mismos se añaden los ingredientes B, se mezclan conjuntamente los ingredientes C y se añaden a la mezcla de A + B.

**[0082]** Los ingredientes A se mezclan a 70 °C, se mezclan los ingredientes B y se añaden a la fase A. Se añaden los ingredientes C en el orden mostrado a la mezcla a 45 °C, se añaden los ingredientes D a 40 °C y se añaden los ingredientes E a 35 °C.

10

**Ejemplo 6 (d): preparación de un producto en polvo; se mezclan los siguientes ingredientes:**

**[0083]**

15

**Tabla 7:** ingredientes

|   |  |        |
|---|--|--------|
| A | Talco  | 81,5 % |
| B | Dimeticona   | 1,0 %  |
| B | Caolín   | 9 %    |
| B | Almidón de <i>Oriza sativa</i>                                   | 2,0 %  |
| C | Talco  | 5,0 %  |
| C | Extracto de algas cocoides (del Ej. 1)                           | 0,03 % |
| C | Extracto de algas filamentosas (del Ej. 2)                       | 0,45 % |
| C | Conservantes, perfume, anticoagulante, otros excipientes menores | 1,02 % |

**[0084]** Los ingredientes B se añaden a A, se mezclan entre sí los ingredientes C, que se añaden a la mezcla de A + B.

20

**Ejemplo 7: preparación de formulaciones con extractos de algas y sílice bioactiva para su uso cosmético y/o farmacéutico**

[0085] Los siguientes son ejemplos de diferentes composiciones para aplicación tópica.

**Ejemplo 7 (a): preparación de un producto en espuma**

5 [0086]

**Tabla 8:** ingredientes

|   |   |        |
|---|---|--------|
| A | Agua  | 80 %   |
| A | Laureth sulfato de sodio  | 10,0 % |
| A | Agua marina ( <i>maris aqua</i> )   | 2,0 %  |
| A | Cocamidopropil betaína, cocoglucósido   | 3,0 %  |
| A | Cloruro   | 1,0 %  |
| A | Glicerina   | 0,80 % |
| A | Extracto de algas cocoides (del Ej. 1)  | 0,05 % |
| A | Extracto de algas filamentosas (del Ej. 2)  | 0,45 % |
| A | Lodo de sílice  | 0,12 % |
| B | Fenoxietanol (y) metilparabeno (y) etilparabeno (y) propilparabeno (y) butilparabeno (e) isobutilparabeno | 1,0 %  |
| B | Conservantes, perfume, excipientes menores  | 1,58 % |

10 [0087] Se mezclan los ingredientes de la fase A, se mezclan los ingredientes de la fase B y posteriormente se añade la fase B y se mezcla con la fase A.

**Ejemplo 7 (b): preparación de un producto en emulsión; se mezclan los siguientes ingredientes:**

15 [0088]

**Tabla 9:** ingredientes

|   |  |        |
|---|--|--------|
| A | Agua                                       | 77 %   |
| A | Carbómero                                  | 0,4 %  |
| B | Glicéridos vegetales hidrogenados          | 2,5 %  |
| B | Alcohol cetearílico                        | 2,0 %  |
| B | Triglicéridos de ácidos grasos C6-C10      | 2,0 %  |
| B | Agente(s) ajustadores de la viscosidad     | 2,5 %  |
| B | Agente(s) emulsionante(s) adicional(es)    | 3,5 %  |
| C | Agua marina ( <i>maris aqua</i> )          | 3 %    |
| C | Glicerina                                  | 1,50 % |
| C | Extracto de algas cocoides (del Ej. 1)     | 0,05 % |
| C | Extracto de algas filamentosas (del Ej. 2) | 0,45 % |



|   |   |        |
|---|---|--------|
| C | Lodo de sílice  | 0,12 % |
| C | Hidróxido de sodio y otros ajustadores del pH   | 0,75 % |
| D | Fenoxietanol (y) metilparabeno (y) etilparabeno (y) propilparabeno (y) butilparabeno (e) isobutilparabeno | 1,0 %  |
| D | Otros conservantes, perfume, otros excipientes menores  | 1,18 % |
| E | Octenil succinato de almidón de aluminio  | 2,0 %  |

**[0089]** Los ingredientes A se mezclan a 70 °C, se mezclan los ingredientes B y se añaden a la fase A. Se añaden los ingredientes C en el orden mostrado a la mezcla a 45 °C, se añaden los ingredientes D a 40 °C y se añaden los ingredientes E a 35 °C.

5

**Ejemplo 7 (c): preparación de una loción; se mezclan los siguientes ingredientes:**

**[0090]**

**Tabla 10:** ingredientes

10

|   |   |        |
|---|---|--------|
| A | Agua  | 89 %   |
| B | Agua marina ( <i>maris aqua</i> )   | 2,7 %  |
| B | Glicerina   | 2,5 %  |
| B | PCA de sodio  | 0,60 % |
| B | Extracto de algas cocoides (del Ej. 1)  | 0,03 % |
| B | Extracto de algas filamentosas (del Ej. 2)  | 0,45 % |
| B | Hidróxido de sodio (y otros ajustadores del pH)   | 0,25 % |
| C | Aceite de ricino hidrogenado PEG-40   | 0,70 % |
| C | Polisorbato (y) ácido benzoico  | 0,50 % |
| C | Fenoxietanol (y) metilparabeno (y) etilparabeno (y) propilparabeno (y) butilparabeno (e) isobutilparabeno | 1,0 %  |
| C | Otros conservantes, perfume, otros excipientes menores, agentes colorantes, etc.                          | 1,17 % |

**[0091]** Se mezclan los ingredientes de la fase A, a la misma se añaden los ingredientes B, se mezclan entre sí los ingredientes C y se añaden a la mezcla de A + B.

15 **[0092]** Se mezclan los ingredientes A a 70 °C, se mezclan los ingredientes B y se añaden a la fase A. Se añaden los ingredientes C en el orden mostrado a la mezcla a 45 °C, se añaden los ingredientes D a 40 °C y se añaden los ingredientes E a 35 °C.

**Ejemplo 7 (d): preparación de un producto en polvo; se mezclan los siguientes ingredientes:**

20

**[0093]**

Tabla 11: ingredientes

|   |  |        |
|---|--|--------|
| A | Talco  | 81,5 % |
| B | Dimeticona   | 1,0 %  |
| B | Caolín   | 9 %    |
| B | Almidón de <i>Oriza sativa</i>                                   | 2,0 %  |
| C | Talco  | 5,0 %  |
| C | Extracto de algas cocoides (del Ej. 1)                           | 0,03 % |
| C | Extracto de algas filamentosas (del Ej. 2)                       | 0,45 % |
| C | Conservantes, perfume, anticoagulante, otros excipientes menores | 1,02 % |

**[0094]** Se añaden los ingredientes B a A, se mezclan entre sí los ingredientes C y se añaden a la mezcla de  
5 A+B.

## REFERENCIAS

**[0095]**

10

1. Chung K-Y., et al. An AP-1 binding sequence is essential for regulation of the human  $\alpha 2(I)$  collagen (COL1A2) promoter activity by transforming growth factor- $\beta$ . J. Biol. Chem. 271: 3272 - 3278, 1996.

15 2. Grether-Beck S., et al. Activation of transcription factor AP-1 mediates UVA radiation- and singlet oxygen-induced expression of the human intercellular adhesion molecule 1 gene. Proc. Nat. Acad. Sci EE.UU. 93: 14586 - 14591,1996.

20 3. Grether-Beck S., et al. Mitochondrial Cytochrome c Release mediates ceramide-induced activator protein 2 activation and gene expression in keratinocytes. J. Biol. Chem. 278: 47498 - 47507, 2003.

4. Scharffetter K., et al. UVA irradiation induces collagenase in human dermal fibroblasts in vitro and in vivo. Arch. Dermatol. Res. 283: 506 - 511, 1991.

25 5. Südel K. M., et al. Novel Aspects of Intrinsic and Extrinsic Aging of Human Skin: Beneficial Effects of Soy Extract. Photochem. Photobiol. 81: 581 - 587, 2005.

6. Vielhaber G., et al. Sunscreens with an absorption maximum of  $\geq 360$  provide optimal protection against UVA1-induced expression of matrix metalloproteinase-1, interleukin-1, and interleukin-6 in human dermal fibroblasts. Photochem. Photobiol. Sci. 5: 275 - 282, 2006.

## 30 LISTA DE SECUENCIAS

**[0096]**

<110> BLUE LAGOON LTD.

<120> Uso cosmético y farmacéutico de extractos de algas obtenibles a partir de fuentes de agua caliente salina

35

<130> P5549PC00

<150> IS 8449

<151> 2006-05-10

40

<150> IS 8442

<151> 2006-05-05

<160> 20

<170> PatentIn versión 3.4

<210> 1

5 <211> 22

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

10 <223> cebador sintético

<400> 1

gccgctagag gtgaaattct tg 22

15

<210> 2

<211> 21

<212> ADN

<213> Artificial

20

<220>

<223> cebador sintético

<400> 2

25

cattcttggc aaatgcttc g 21

<210> 3

<211> 20

30 <212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> cebador sintético

35

<400> 3

cccccgcaat gagatctaca 20

40

<210> 4

<211> 22

<212> ADN

<213> Artificial

45

<220>

<223> cebador sintético

<400> 4

50

atcctcatgg tccacgtaca ca 22

<210> 5

<211> 21

<212> ADN

55 <213> Artificial

<220>

<223> cebador sintético

<400> 5

5     cccatcagga gcaaatgaaa c     21

   <210> 6  
    <211> 19  
    <212> ADN  
    <213> Artificial

10    <220>  
       <223> cebador sintético

   <400> 6

15     gctcgacagg caccttctg     19

   <210> 7  
    <211> 25  
    <212> ADN  
    <213> Artificial

20    <220>  
       <223> cebador sintético

25    <400> 7

   aaggaacttc tggaaaagga atttc     25

30    <210> 8  
       <211> 26  
       <212> ADN  
       <213> Artificial

35    <220>  
       <223> cebador sintético

   <400> 8

40     ttgtgtcta tatccaagtg atccat     26

   <210> 9  
    <211> 22  
    <212> ADN

45    <213> Artificial

   <220>  
       <223> cebador sintético

50    <400>9

   tcacattgcc agcatcttct ct     22

55    <210> 10  
       <211> 25  
       <212> ADN  
       <213> Artificial

<220>  
 <223> cebador sintético  
  
 <400> 10  
 5 ggctgctttt tctgataaga catct 25  
  
 <210> 11  
 <211> 21  
 10 <212> ADN  
 <213> Artificial  
  
 <220>  
 <223> cebador sintético  
 15 <400> 11  
  
 gggagatcat cgggacaact c 21  
  
 20 <210> 12  
 <211> 19  
 <212> ADN  
 <213> Artificial  
  
 25 <220>  
 <223> cebador sintético  
  
 <400> 12  
  
 30 gggcctgggt gaaaagcat 19  
  
 <210> 13  
 <211> 16  
 <212> ADN  
 35 <213> Artificial  
  
 <220>  
 <223> cebador sintético  
  
 40 <400> 13  
  
 agccgccccca cacaga 16  
  
 <210> 14  
 45 <211> 20  
 <212> ADN  
 <213> Artificial  
  
 <220>  
 50 <223> cebador sintético  
  
 <400> 14  
  
 ccgtcgagga tgtaccgaat 20  
 55  
 <210> 15  
 <211> 19  
 <212> ADN

<213> Artificial  
 <220>  
 <223>  
 5 <400> 15  
 cctgcggtga cccactca 19  
 10 <210> 16  
 <211> 22  
 <212> ADN  
 <213> Artificial  
 15 <220>  
 <223> cebador sintético  
 <400> 16  
 20 accagacatg cctctgtcc tt 22  
 <210> 17  
 <211> 25  
 <212> ADN  
 25 <213> Artificial  
 <220>  
 <223> cebador sintético  
 30 <400> 17  
 gattgagacc ctcttactc ctgaa 25  
 <210> 18  
 35 <211> 21  
 <212> ADN  
 <213> Artificial  
 <220>  
 40 <223> cebador sintético  
 <400> 18  
 ggggggctga gtctcaagtc a 21  
 45 <210> 19  
 <211> 1430  
 <212> ADN  
 <213> Desconocido  
 50 <220>  
 <223> no identificado  
 <400> 19  
 55

ES 2 548 756 T3

gagtttgatc ctggctcagg atgaacgctg gcggtatgcc taacacatgc aagtcgaacg 60  
 ggctcttcgg agctagtggc ggacgggtga ggaacgcgtg agaacctgcc tcaaggtcgg 120  
 ggacaacagt tggaaacgac tgctaatacc ggatgagccg aataggtaaa agatztatcg 180  
 cctagagagg ggctcgcgtc tgattagcta gatggtgagg taaaggctta ccatggcgac 240  
 gatcagtagc tggctctgaga ggatgagcag ccacactggg actgagacac ggcccagact 300  
 cctacgggag gcagcagtgg ggaattttcc gcaatgggag aaagcctgac ggagcaatac 360  
 cgctgtaggg aggaaggctc ttgggttgta aacctcaaaa cttagggaag aaaaaaatga 420  
 cggtagcctaa tgtaagcatc ggctaactcc gtgccagcag ccgctgtaac acggaggatg 480  
 caagcgttat ccggaatcat tgggcgtaaa gagtccgtag gtggcacttc aagtctgctt 540  
 tcaaagaccg aagctcaact tcggaaaggg agtggaaact gaagagctag agtatagtag 600  
 gggtagaggg aattcctagt gtagcgggtga aatgcgtaga gattaggaag aacaccagtg 660  
 gcgaaggcgc tctactgggc atatactgac actgagggac gaaagctagg ggagcgaag 720  
 ggattagata cccctgtagt cctagcggta aacgatggat actaggcgta gtgctgttag 780  
 aaggactgtg ccgaagctaa cgcgttaagt atcccgcctg gggagtacgc acgcaagtgt 840  
 gaaactcaaa ggaattgacg gggacccgca caagcggtag agtatgtggt ttaattcgat 900  
 gcaacgcgaa gaaccttacc aaggcttgac atcctgcgaa tcttgagaa atctgagagt 960  
 gcctaagga acgcagagac aggtggtgca tggctgtcgt cagctcgtgt cgtgagatgt 1020  
 tgggttaagt cccgcaacga gcgcaaccct cgtccttagt tgccagcatt aagttgggga 1080  
  
 ctctagggag accgccggg agaactcga ggaaggtgg gatgacgtca agtcagcatg 1140  
 ccccttacgt cttgggctac acacgtacta caatggttg gacaaagggg agcgaaacg 1200  
 cgaggtggag cgaatctcat caaacccagc cacagttagc attgcagtct gaaactcgcc 1260  
 tgcatgaagg aggaatcgct agtaatcgca ggtagcata ttgctggtgaa tccgttccc 1320  
 ggtctgtgac acaccgccc tcacaccatg gaagttggtc acgcccgaag tcgttattct 1380  
 aaccaagtg gaaggagacg ccgaaggtg gactagtgc tggggtgaag 1430

<210> 20  
 <211> 1448  
 5 <212> ADN  
 <213> Desconocido

<220>  
 <223> no identificado

10  
 <400> 20

ES 2 548 756 T3

|  |      |
|--|------|
| gagtttgatc ctggctcagg atgaacgctg gcggtctgct taacacatgc aagtcgaacg  | 60   |
| gagtgccttcg gcacttagtg gcggacgggt gagtaacgcg tgagaatctg cccttaggag | 120  |
| ggggataacg actggaaacg gtcgctaaga ccccatatgc cgagaggtga aacagttttc  | 180  |
| tgcctgagga tgagctcgcg tctgattagc tagttggtgg ggtaagagcc taccaaggcg  | 240  |
| acgatcagta gctggctga gaggatgacc agccacactg ggactgagac acggcccaga   | 300  |
| ctcctacggg aggcagcagt ggggaatttt ccgcaatggg cgaaagcctg acggagcaag  | 360  |
| accgcgtggg ggaagaaggt ctgtggattg taaacctctt ttgaccggga agaagcctga  | 420  |
| cggtaccggt cgaatcagcc tcggctaact ccgtgccagc agccgcggta atacggagga  | 480  |
| ggcaagcgtt atccggaatt attgggcgta aagcgtccgc aggtggttta tcaagtcagc  | 540  |
| tgtaaaggg tggggcttaa ctccataaag gcagttgaaa ctgataggct agagtgcgat   | 600  |
| aggggcaagg ggaattccca gtgtagcggg gaaatgcgta gatattggga agaaccggg   | 660  |
| tggcgaaagc gccttgctgg gtctgcactg aactgaggg acgaaagcta ggggagcgaa   | 720  |
| agggattaga taccctgta gtcctagctg taaacgatgg gtactaggcg ttgtccgtat   | 780  |
| cgaccgggc agtgccgtag ctaacgcggt aagtaccccg cctggggagt acgctcgcaa   | 840  |
| gagtgaaact caaaggaatt gacggggggc gcacaagcg gtggagtatg tggtttaatt   | 900  |
| cgatgcaacg cgaagaacct taccagggtt tgacatgtcc ggaatcttct tgaaagggaa  | 960  |
| gagtgcctac ggaaccgga acacaggtgg tgcatggctg tcgtcagctc gtgtcgtgag   | 1020 |
| atgttgggtt aagtcccgca acgagcgcaa cccacgtcct tagttgccag cattgagttg  | 1080 |
| ggcactctgg ggagactgcc ggtgacaaac cggaggaagg tgtggatgac gtcaagtcag  | 1140 |
| catgcccctt acgctctggg ctacacacgt actacaatgc ttcggacaaa gggttgcaa   | 1200 |
| ctcgcgagag tgcgctaata ccataaaccg aggctcagtt cagattgcag gctgcaactc  | 1260 |
| gcctgcatga aggcggaatc gctagtaatc gcaggtcagc atactgcggg gaatacgttc  | 1320 |
| ccgggccttg tacacaccgc ccgtcacacc atgggagttg gccacggccg aagtcgttac  | 1380 |
| tccaaccgat tctgtcggag gaggatgccg aaggcagggc tgatgactgg ggtgaagtcg  | 1440 |
| taatcaag   | 1448 |



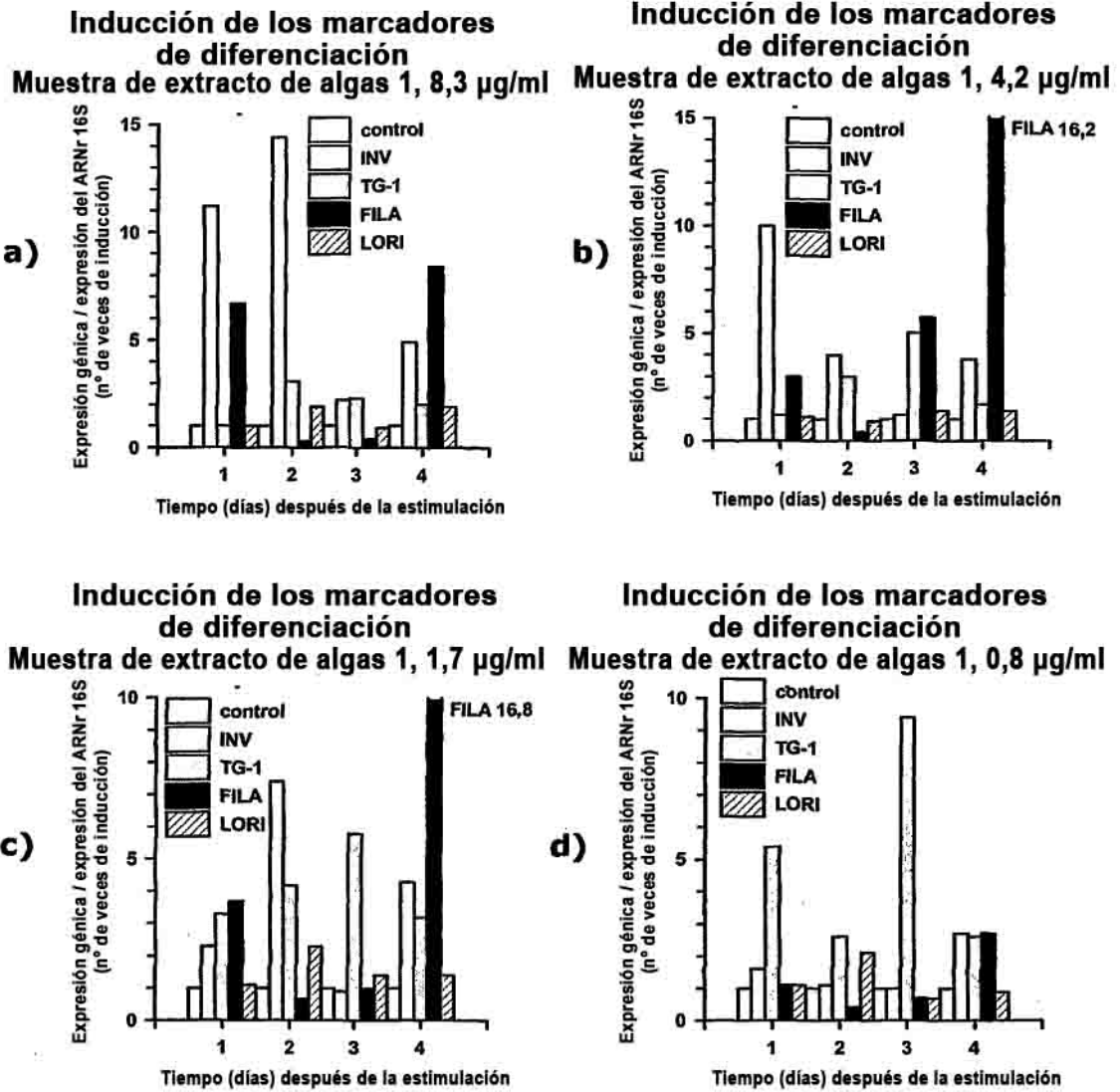
**REIVINDICACIONES**

1. Un extracto derivado de células fragmentadas de algas verdeazuladas obtenible a partir de un entorno de agua caliente rica en minerales y/o salina para su uso en un producto farmacéutico y/o cosmético.
- 5 2. El extracto de la reivindicación 1, en el que dichas algas se recogen a partir de una fuente natural o se cultivan en unas condiciones adecuadas, se aíslan, y las células de dichas algas se fragmentan para obtener dicho extracto, en el que dichas algas son obtenibles preferiblemente a partir de una fuente de agua geotérmica rica en minerales y/o salina, en el que dichas algas tienen una temperatura de crecimiento óptima en el intervalo de 30 - 10 70 °C, tal como en el intervalo de 30 - 50 °C.
3. El extracto de cualquiera de las reivindicaciones 1 - 2, en el que dichas algas son microalgas seleccionadas de entre microalgas procariontas que comprenden una o más especies de cianobacterias, dichas algas se seleccionan preferiblemente de entre especies de microalgas unicelulares o coloniales, teniendo las células de 15 dichas algas preferiblemente una forma cocoide o filamentosa.
4. El extracto de la reivindicación 3, en el que dichas algas se eligen de entre el grupo que consiste en especies que tienen una secuencia de ARNr 16S que se muestra como el ID. SEC. N°: 19, una secuencia de ARNr 16S que se muestra como el ID. SEC. N°: 20, y especies pertenecientes a las mismas familias taxonómicas.
- 20 5. El extracto de la reivindicación 3, en el que dichas algas comprenden algas seleccionadas de entre el grupo que consiste en:
- Cyanobacterium* sp., depositada en la Culture Collection of Algae and Protozoa SAMS Research Services Ltd., Reino Unido, con el número de registro CCAP 1483/1, con la referencia de identificación del Solicitante BLICE- 0405-01; y
- 25 *Cyanobacterium* sp., depositada en la Culture Collection of Algae and Protozoa SAMS Research Services Ltd. Reino Unido, con el número de registro CCAP 1483/2, con la referencia de identificación del Solicitante BLICE-0405-02.
- 30 6. El uso de un extracto derivado de células fragmentadas de algas verdeazuladas obtenible a partir de un entorno de agua caliente rica en minerales y/o salina para la elaboración de un producto farmacéutico y/o cosmético para la reducción del fotoenvejecimiento, la potenciación de la función de barrera de la piel y/o la inducción de la síntesis de colágeno en la piel de un mamífero.
- 35 7. El uso de la reivindicación 6, en el que dicho extracto reduce el fotoenvejecimiento, medido por la regulación por aumento de la MMP1 en fibroblastos dérmicos humanos tras una irradiación UV.
8. El uso de la reivindicación 6, en el que dicho extracto potencia la función de barrera de la piel medida por la inducción de uno o más marcadores de diferenciación de queratinocitos en queratinocitos epidérmicos 40 humanos, seleccionados de entre la involucrina, la transglutaminasa-1, la filagrina y la loricrina.
9. El uso de la reivindicación 6, en el que dicho extracto induce la síntesis de colágeno medida por una inducción del ColA1 y/o del ColA2 en fibroblastos dérmicos humanos.
- 45 10. El uso de la reivindicación 6, en el que dichas algas se recogen a partir de una fuente natural o se cultivan en unas condiciones adecuadas, se aíslan y en el que las células de las algas se fragmentan para obtener dicho extracto, y en el que dichas algas son obtenibles preferiblemente a partir de una fuente geotérmica salina.
11. El uso de la reivindicación 6, en el que dichas algas se eligen de entre el grupo que consiste en 50 especies que tienen una secuencia de ARNr 16S que se muestra como el ID. SEC. N°: 19, una secuencia de ARNr 16S que se muestra como el ID. SEC. N°: 20, y especies pertenecientes a las mismas familias taxonómicas.
12. El uso de la reivindicación 6, en el que dichas algas comprenden algas seleccionadas de entre el grupo que consiste en:
- 55 *Cyanobacterium* sp., depositada en la Culture Collection of Algae and Protozoa SAMS Research Services Ltd. Reino Unido, con el número de registro CCAP 1483/1, con la referencia de identificación del Solicitante BLICE- 0405-01.
- Cyanobacterium* sp., depositada en la Culture Collection of Algae and Protozoa SAMS Research Services Ltd. Reino

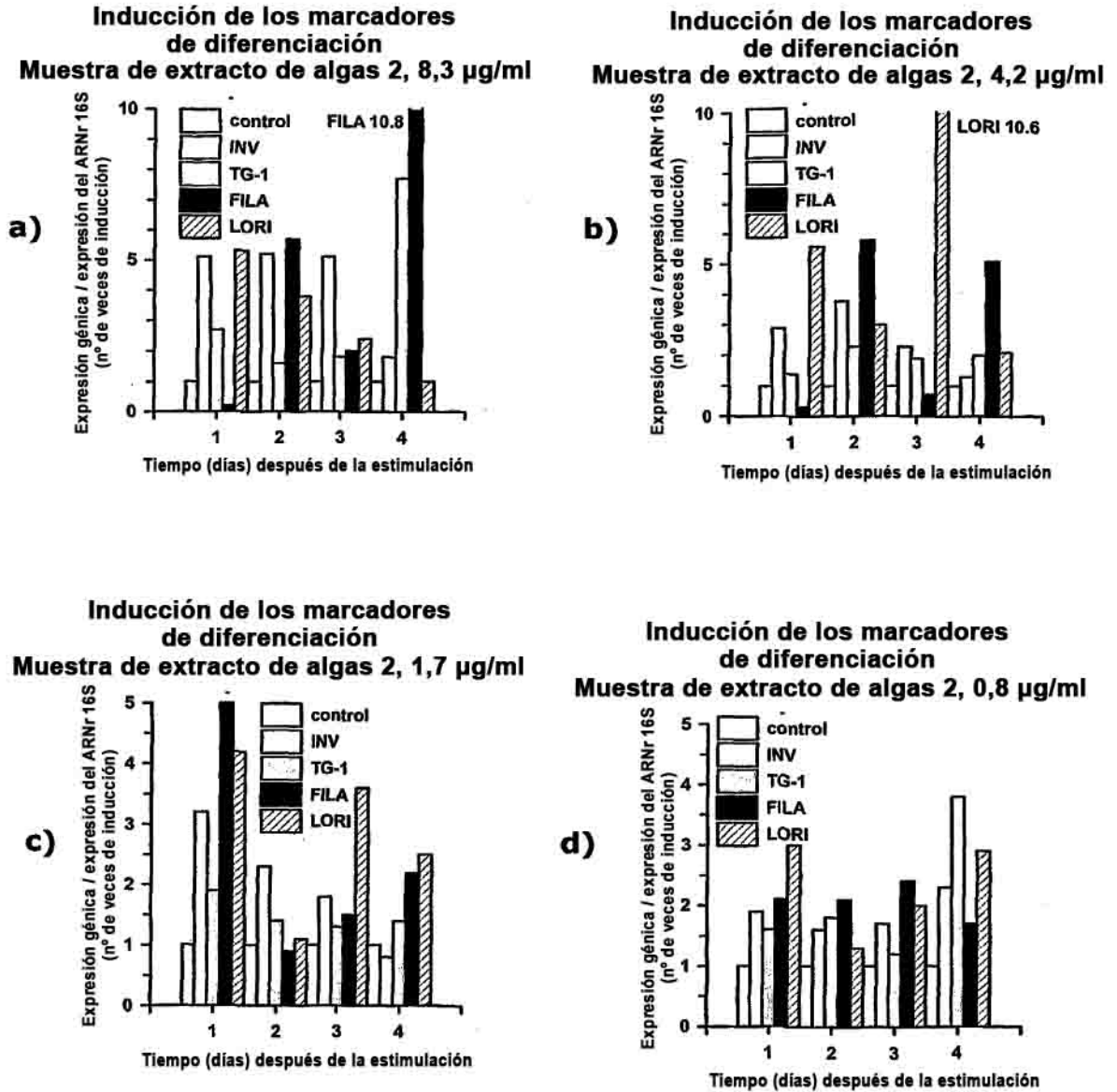
Unido, con el número de registro CCAP 1483/2, referencia de identificación del Solicitante BLICE-0405-02.

13. Una composición farmacéutica y/o cosmética que comprende un extracto de células fragmentadas procedentes de algas verdeazuladas obtenido a partir de una fuente de agua caliente salina y uno o más portadores o diluyentes farmacéuticamente y/o cosméticamente aceptables, en el que dichas algas se eligen de entre el grupo que consiste en especies que tienen una secuencia de ARNr 16S que se muestra como el ID. SEC. Nº: 19, una secuencia de ARNr 16S que se muestra como el ID. SEC. Nº: 20.
14. La composición de la reivindicación 13, en el que dichas algas verdeazuladas comprenden *Cyanobacterium* sp., depositada en la Culture Collection of Algae and Protozoa SAMS Research Services Ltd. Reino Unido, con el número de registro CCAP 1483/1, con la referencia de identificación del Solicitante BLICE-0405-01, y *Cyanobacterium* sp., depositada en la Culture Collection of Algae and Protozoa SAMS Research Services Ltd. Reino Unido, con el número de registro CCAP 1483/2, la referencia de identificación del Solicitante BLICE-0405-02.
- 15 15. La composición de la reivindicación 13, que comprende adicionalmente sílice, sílice que preferiblemente es precipitada a partir de fuentes naturales de agua caliente salina.

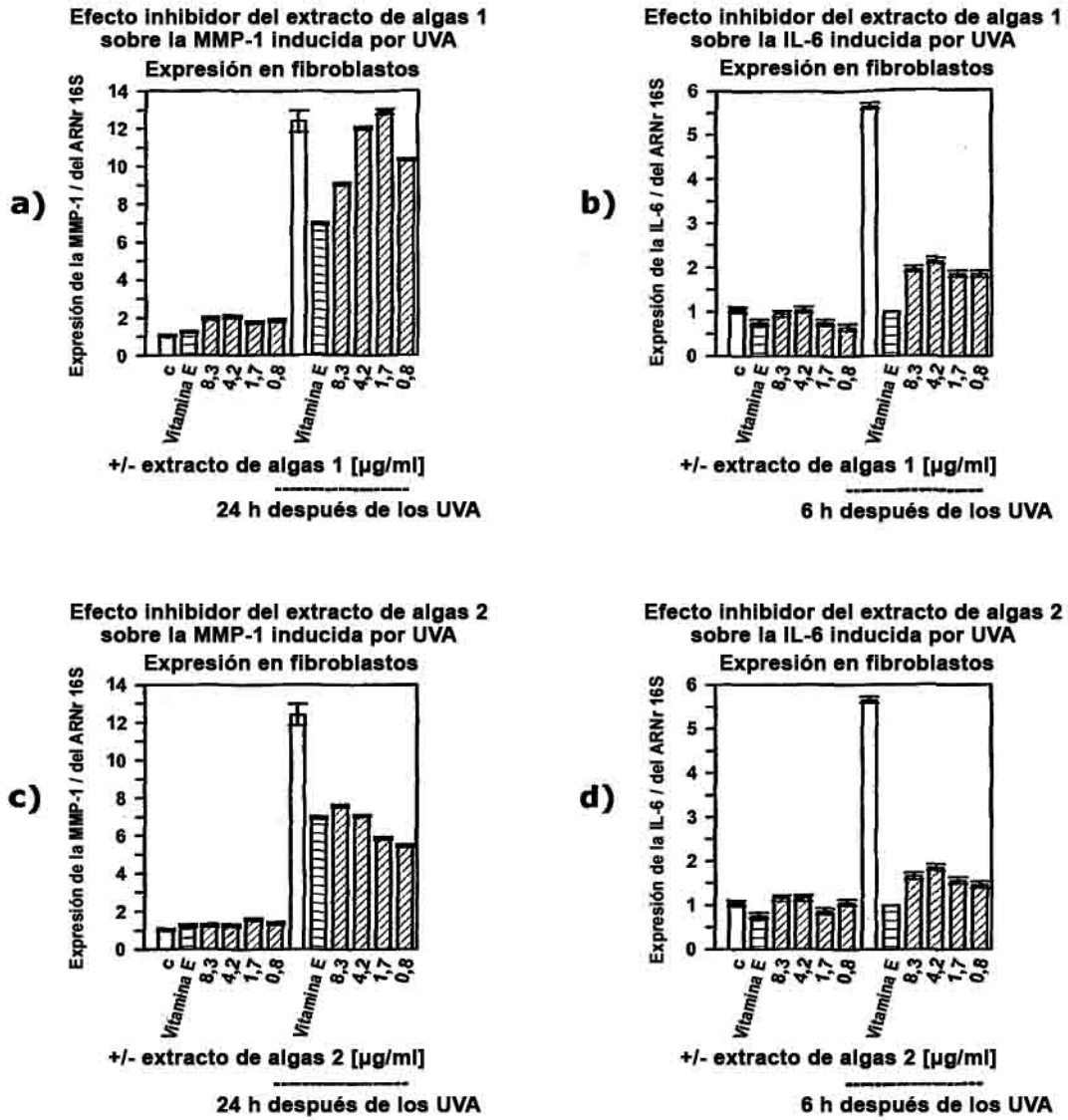
**FIG. 1**



**FIG. 2**

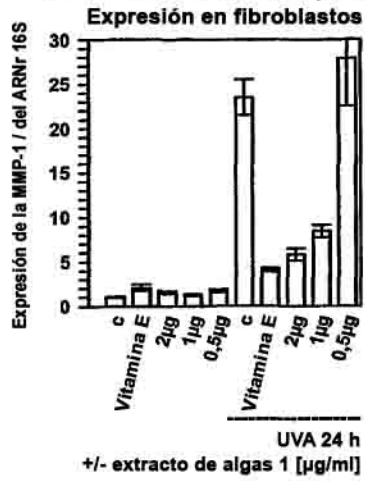


**FIG. 3**



**FIG. 4**

**Efecto inhibitor del extracto de algas 1 sobre la MMP-1 inducida por UVA**



**Efecto inhibitor del extracto de algas 2 sobre la MMP-1 inducida por UVA**

