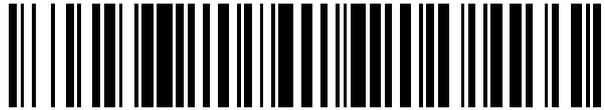


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 581 292**

51 Int. Cl.:

G01N 21/84 (2006.01)
A61K 8/34 (2006.01)
A61K 8/36 (2006.01)
A61K 8/86 (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01)
G01N 33/50 (2006.01)
G01N 21/88 (2006.01)
G06K 9/46 (2006.01)
G06T 7/00 (2006.01)
A61K 8/365 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.03.2013 E 13767680 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.06.2016 EP 2833124**

54 Título: **Método para evaluación de la eficacia de un cosmético en la mejora de las arrugas**

30 Prioridad:

27.03.2012 JP 2012071065

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

05.09.2016

73 Titular/es:

SHISEIDO COMPANY, LTD. (100.0%)
5-5 Ginza 7-chome, Chuo-ku
Tokyo 104-0061, JP

72 Inventor/es:

IWAI, ICHIRO y
HARA, YUSUKE

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 581 292 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

Método para evaluación de la eficacia de un cosmético en la mejora de las arrugas

Campo técnico

- 5 La presente invención se refiere a un método para evaluar un cosmético. Preferiblemente, la presente invención se refiere a un método para evaluar un efecto corrector de arrugas de un cosmético.

Antecedentes de la técnica

- 10 Las arrugas aumentan como un fenómeno de envejecimiento de la piel con la edad, y desde un punto de vista cosmético existe interés considerablemente creciente en la prevención y mejora de las arrugas, especialmente en las mujeres. Las arrugas se clasifican en gran medida en arrugas finas formadas como resultado de la reducción de la función de la epidermis incluida la capa córnea, y arrugas grandes (o "arrugas de expresión") formadas por reducción de la función de la dermis bajo la epidermis. Las arrugas formadas por reducción de la función de la epidermis, incluida la capa córnea se producen debido principalmente a la reducción en la función de retención de humedad de la epidermis como resultado del envejecimiento, los rayos ultravioleta, baja temperatura, baja humedad y similares. Las arrugas formadas por reducción de la función de la dermis, por otra parte, se producen por el aumento de las metaloproteasas de matriz (MMP) como resultado del envejecimiento y los rayos ultravioleta, así como el esfuerzo mecánico, lo que lleva al colapso de la estructura elástica de la piel compuesta de colágeno y elastina (PTL 1 y NPL 1, 2 y 3). Se sabe que las estrías finas de las arrugas formadas en la piel evolucionan hasta arrugas grandes tallando profundamente las estrías (NPL 4), y por lo tanto las arrugas finas y las arrugas grandes están íntimamente relacionados entre sí.
- 20 El hecho de que las arrugas finas tienden a formarse en climas fríos y secos ha llegado a ser generalmente reconocido por la mayoría de la gente, y para la prevención y mejora de las arrugas finas, se considera importante favorecer la retención de humedad mediante cosméticos y especialmente agua cosmética, látex, cremas, esencias y similares, así como aumentar la hidratación utilizando hidratantes. Los cosméticos, y en especial los cosméticos que contienen hidratantes tales como la glicerina y el ácido hialurónico, se utilizan para favorecer la retención de
- 25 humedad.

- En la técnica anterior, se ha conocido métodos de selección de sustancias experimentales que aumentan la transparencia de la capa córnea por medio de modelos de arrugamiento de la piel utilizando epidermis secas (PTL 2), y procedimientos de selección de sustancias experimentales que mejoran o aumentan la función de barrera de la piel, utilizando como medida cambios en la estructura de los lípidos intercelulares de la capa córnea (PTL 3). Dichos métodos se utilizan para la selección de sustancias experimentales que mejoran la transparencia de la capa córnea y la función barrera de la piel, pero no ha habido ninguna descripción de selección de sustancias experimentales que mejoran las arrugas.

Lista de citas

Bibliografía de patentes

- 35 [PTL 1] Publicación de patente japonesa sin examinar nº 2003-201229
 [PTL 2] Publicación de patente japonesa sin examinar nº 2010-172200
 [PTL 3] Publicación de patente japonesa sin examinar nº 2010-175264
 [PTL 4] Publicación de patente japonesa sin examinar nº 2010-119428

Bibliografía no de patentes

- 40 [NPL 1] *Arch. Dermatol. Res.* (2002) 294:405-410
 [NPL 2] *Cell Motil. Cytoskeleton* enero de 2000; 45(1):1-9
 [NPL 3] *Matrix Biol.* Nov. de 2001; 20(7):397-406
 [NPL 4] *Skin Research and Technology* 2011; 17:135-140

Descripción de la invención

- 45 Problemas a resolver por la invención

Hay un deseo de desarrollar cosméticos que pueden reparar las arrugas formadas en la capa córnea, y hay necesidad de un método de evaluación para los cosméticos que puede determinar la capacidad de los cosméticos experimentales para mejorar las arrugas de la capa córnea, de una manera rápida a gran escala.

Medios para resolver los problemas

- 50 Los presentes inventores han dirigido una investigación diligente sobre el mecanismo de formación de arrugas finas que se desarrollan debido a la reducción de la función de la epidermis incluida la capa córnea, y han descubierto que las arrugas finas consolidadas se forman cuando las estrías de las arrugas de la capa córnea no consolidadas (definidas como "arrugas residuales" en toda la presente memoria descriptiva), que se forman por reducción de la

función de la capa córnea y por el movimiento de los músculos bajo la piel continúan durante largos períodos sin ser suficientemente restaurada por el baño o por la retención de humedad usando cosméticos (Fig. 1). Específicamente, se descubrió que las arrugas residuales no consolidadas formadas en la capa córnea tienen tendencia a plegarse en la capa córnea que es especialmente dura en la piel, y que las arrugas epidérmicas finas que son más profundas
5 que las arrugas residuales se forman cuando las estrías de la capa córnea dura se someten a esfuerzos mecánicos y llegan a consolidarse como estrías epidérmicas.

La experiencia ha demostrado que las arrugas finas se forman por reducción de la función de la epidermis incluida la capa córnea, y se producen principalmente por la sequedad invernal. La estimulación adecuada de la retención de la humedad utilizando agua cosmética o látex para las arrugas finas se sabe que es capaz de reparar y mejorar las
10 arrugas finas, pero una vez las arrugas finas se han consolidado en la epidermis más adentro que la capa córnea (en la capa granular, capa espinosa y lámina basal), las arrugas finas pueden desaparecer temporalmente con hidratación pero reaparecer a medida que avanza el tiempo. Cuando se deja que dichas arrugas finas consolidadas en la epidermis continúen, pueden conducir a la formación de arrugas grandes a medida que tienen lugar cambios estructurales del colágeno y la elastina en la dermis por debajo de la epidermis, y es un hecho conocido que la
15 reparación de arrugas grandes es difícil incluso con hidratación.

En el pasado, se ha reconocido vagamente que las arrugas finas que aparecen con los cambios estructurales en la epidermis incluyen formas moderadas que pueden ser reparadas por hidratación y formas más avanzadas, donde las arrugas sólo desaparecen temporalmente por hidratación y la hidratación se ha considerado necesaria para la prevención de ambas formas, pero no ha existido una forma adecuada de evaluar los cosméticos que pueden
20 reparar las arrugas finas. La investigación realizada por los presentes inventores ha demostrado que entre las arrugas asociadas con los cambios estructurales en la epidermis, las formas moderadas que pueden ser reparadas por hidratación son las arrugas donde se han producido cambios estructurales sólo en la capa córnea (arrugas residuales), mientras que las formas más avanzadas que sólo pueden repararse temporalmente por hidratación son las arrugas donde se han producido cambios estructurales no sólo en la capa córnea, sino también en la epidermis,
25 incluidas la capa granular, el estrato espinoso y la lámina basal (definidas como "arrugas finas" o "arrugas finas consolidadas" en toda la presente memoria descriptiva).

Las arrugas residuales tal como se han definido en la presente memoria no son las relacionados con cambios estructurales en la epidermis y la dermis, aparte de la capa córnea, sino más bien un estado donde se han desarrollado pliegues en la capa córnea que tiene reducida la función debido al secado, etc., por el movimiento de
30 los músculos subcutáneos. Cuando se deja que estos pliegues permanezcan, los pliegues producen tensiones mecánicas y se crean cambios estructurales en la epidermis incluida la capa córnea, y evolucionan hasta consolidar arrugas finas. Se sabe que las arrugas finas evolucionan hasta arrugas grandes durante largos períodos (NPL 4), y por lo tanto en el campo del desarrollo de cosméticos, el desarrollo de productos cosméticos que pueden reparar pliegues en la capa córnea como las arrugas residuales, se encontró que era importante para prevenir la formación
35 de arrugas finas consolidadas, y por lo tanto para evitar la formación de arrugas grandes. Dado que este tipo de cosméticos pueden liberar el estrés mecánico causado por las arrugas residuales, la administración continuada de tales cosméticos durante períodos prolongados puede presentar efectos de mejorar las arrugas finas que ya se han consolidado en la epidermis y las arrugas grandes que se han consolidado en la dermis.

Tras investigación adicional por los presentes inventores sobre arrugas residuales, se descubrió sorprendentemente
40 que es posible modelar las arrugas residuales utilizando una lámina de capa córnea. Específicamente, se descubrió que cuando se han creado arrugas tipo pliegue en una lámina de la capa córnea, ésta realmente modela arrugas residuales en las que se han formado pliegues en la capa córnea por el movimiento de los músculos subcutáneos, y por lo tanto los cosméticos que pueden reparar satisfactoriamente dichas arrugas tipo pliegue pueden reparar satisfactoriamente las arrugas y especialmente las arrugas residuales, y por lo tanto pueden contribuir a la mejora de
45 las arrugas finas y las arrugas grandes consolidadas.

Los presentes inventores han descubierto que el grado de mejora de las arrugas puede medirse poniendo en contacto una lámina de capa córnea con las arrugas tipo pliegue con un cosmético experimental y secándola, y han inventado un método para evaluar los efectos correctores de arrugas de los cosméticos experimentales.

Más específicamente, la presente invención se refiere a lo siguiente.

50 (1) Un método para evaluar un efecto corrector de arrugas de un cosmético experimental, que comprende:

formar arrugas tipo pliegue en una lámina de capa córnea;

sumergirlas en un cosmético experimental;

secarlas; y

medir el grado de mejora de las arrugas tipo pliegue de la lámina de la capa córnea.

55 (2) El método según (1), en donde la medición del grado de mejora de las arrugas tipo pliegue se realiza por examen visual.

(3) El método según (1), que comprende una etapa de fotografiar la lámina de la capa córnea antes de la etapa de inmersión en el cosmético experimental y después de la etapa de secado.

(4) El método según (3), en donde la medición del grado de mejora de las arrugas tipo pliegue se realiza por procesamiento de la imagen de la lámina de la capa córnea fotografiada.

(5) El método según una cualquiera de (1) a (4), en donde el efecto de mejora de las arrugas es un efecto de mejora de las arrugas residuales.

5 Efecto de la invención

Convencionalmente, la evaluación de las arrugas ha requerido modelos animales o pruebas reales en la piel humana, que se han asociado a diferencias individuales, cuestiones éticas y límites de frecuencia de las pruebas. Según la invención, se puede utilizar una lámina de capa córnea para la evaluación de cosméticos experimentales, y por lo tanto puede llevarse a cabo selección homogénea a gran escala durante el desarrollo del producto, y por lo tanto se facilita el desarrollo de productos.

10 tanto se facilita el desarrollo de productos.

Breve descripción de los dibujos

La fig. 1 es un par de fotografías que muestran la formación de arrugas residuales en la piel en un rostro humano.

La fig. 2 es una serie de fotografías que muestran un efecto corrector de arrugas en un modelo de arrugas en la lámina de la capa córnea.

15 La fig. 3 es una serie de fotografías que muestra el estado de una arruga antes y después del movimiento de expresión *in vivo*, en contraste con el estado de una arruga después de la aplicación de agua cosmética modelo inmediatamente después del movimiento de expresión.

Mejor modo de llevar a cabo la invención

20 Como un primer aspecto, la invención proporciona un método para evaluar el efecto corrector de arrugas de un cosmético experimental. Más específicamente, el método de la invención comprende una o más etapas seleccionadas del grupo que consiste en las siguientes etapas:

formar arrugas tipo pliegue en una lámina de la capa córnea;

sumergirlas en un cosmético experimental;

secarlas; y

25 medir el grado de mejora de las arrugas tipo pliegue de la lámina de la capa córnea.

Un cosmético experimental según la invención es un cosmético que tiene una posibilidad de presentar un efecto corrector de arrugas. Más específicamente, un "cosmético experimental" se refiere en especial a agua cosmética, látex, cremas y esencias, pero también incluye todos los productos que no son directamente para mejorar la piel, pero se han de aplicar sobre la piel y, por ejemplo, incluye protectores solares, repelentes de insectos, agentes para la alopecia, restauradores del cabello, lociones para el afeitado y lociones para después del afeitado. Desde el punto de vista de presentar un efecto corrector de arrugas por inmersión y secado de una lámina de la capa córnea, es preferiblemente un cosmético acuoso tal como agua cosmética o una esencia.

30 la alopecia, restauradores del cabello, lociones para el afeitado y lociones para después del afeitado. Desde el punto de vista de presentar un efecto corrector de arrugas por inmersión y secado de una lámina de la capa córnea, es preferiblemente un cosmético acuoso tal como agua cosmética o una esencia.

Un efecto corrector de arrugas es la desaparición de las arrugas formadas en la piel. Desde el punto de vista de la presente invención es preferiblemente la desaparición o atenuación de las arrugas residuales como los pliegues producidos en la capa córnea, pero no hay limitación a éste y en su lugar puede ser la desaparición o atenuación de las arrugas finas asociadas a cambios estructurales en la epidermis incluida la capa córnea, y arrugas grandes asociadas a cambios estructurales en la dermis.

35 Un efecto corrector de arrugas es la desaparición de las arrugas formadas en la piel. Desde el punto de vista de la presente invención es preferiblemente la desaparición o atenuación de las arrugas residuales como los pliegues producidos en la capa córnea, pero no hay limitación a éste y en su lugar puede ser la desaparición o atenuación de las arrugas finas asociadas a cambios estructurales en la epidermis incluida la capa córnea, y arrugas grandes asociadas a cambios estructurales en la dermis.

Según la invención, la lámina de la capa córnea es una lámina de la capa córnea preparada a partir de piel viva (lámina de capa córnea preparada) o una lámina de la capa córnea obtenida por cultivo de células (lámina de capa córnea cultivada), pero preferiblemente es una lámina de capa córnea cultivada, desde el punto de vista de la selección uniforme a gran escala.

40 Según la invención, la lámina de la capa córnea es una lámina de la capa córnea preparada a partir de piel viva (lámina de capa córnea preparada) o una lámina de la capa córnea obtenida por cultivo de células (lámina de capa córnea cultivada), pero preferiblemente es una lámina de capa córnea cultivada, desde el punto de vista de la selección uniforme a gran escala.

No hay restricciones especiales sobre el origen de una lámina de la capa córnea preparado, pero se prepara muy preferiblemente a partir de la capa córnea de la piel humana. Más específicamente, puede obtenerse por un método invasivo, tal como por medios quirúrgicos.

45 Una lámina de la capa córnea cultivada es una lámina de capa córnea obtenida por cultivo *in vitro*, y el concepto incluye láminas de capa córnea aisladas de tejido de piel cultivada mantenida recojida de la piel humana, y láminas de la capa córnea obtenidas de la piel cultivada en tres dimensiones obtenida mediante el cultivo de fibroblastos, o fibroblastos diferenciados *in vitro* de células madre (por ejemplo, células madre epiteliales, células madre embrionarias o células madre pluripotentes inducidas), sobre un soporte de cultivo compuesto por un polímero tal como colágeno, fibrina o ácido poliláctico, o un polisacárido tal como la quitina, quitosano, sulfato de condroitina o ácido hialurónico. La lámina de capa córnea se aísla del tejido de la piel mantenida por el cultivo utilizando un método tal como el tratamiento con una proteasa en solución salina fisiológica con concentraciones controladas de iones de calcio y de iones de magnesio. La piel cultivada en tres dimensiones que se utiliza puede ser un producto cultivado en tres dimensiones de modelo de epidermis humano disponible en el mercado en Labcyte EPI-MODEL

50 La lámina de capa córnea se aísla del tejido de la piel mantenida por el cultivo utilizando un método tal como el tratamiento con una proteasa en solución salina fisiológica con concentraciones controladas de iones de calcio y de iones de magnesio. La piel cultivada en tres dimensiones que se utiliza puede ser un producto cultivado en tres dimensiones de modelo de epidermis humano disponible en el mercado en Labcyte EPI-MODEL

55 (Japan Tissue Engineering). Debido a que las láminas de capa córnea cultivadas obtenidas a partir de productos de

modelo epidérmico cultivados en tres dimensiones disponibles en el mercado tienen diferencias mínimas entre lotes, pueden utilizarse lotes diferentes para llevar a cabo el método de evaluación de la invención, pero a fin de evitar diferencias entre los lotes, una sola lámina de capa córnea cultivada se puede cortar en varias tiras de lámina y utilizarse para la invención.

- 5 Según la invención, la lámina de capa córnea se puede impartir en las arrugas tipo pliegue a mano, pero para las arrugas tipo pliegue consistentes, puede utilizarse una placa con una sección de articulación, para permitir que las arrugas tipo pliegue que se forman doblando la placa en un ángulo fijo. Dependiendo de la profundidad deseada para las arrugas tipo pliegue, el ángulo se puede seleccionar como se desee, y por ejemplo, se puede seleccionar de entre 30°, 45°, 60°, 75°, 90°, 120°, 135°, 150° y 180°.
- 10 Según la invención, la lámina de capa córnea se sumerge en un cosmético experimental en un intervalo de temperatura en el que los cosméticos se utilizan generalmente. La temperatura de inmersión se fija preferiblemente según el lugar en donde se va a utilizar el cosmético experimental, y para la mayoría de propósitos está comprendida en el intervalo de 10°C a 40°C, preferiblemente de 15°C a 30°C y más preferiblemente de 20°C a 30°C. El tiempo de inmersión se puede seleccionar como se desee, pero un tiempo de inmersión más corto permitirá
- 15 la selección de cosméticos experimentales con mayor poder corrector de arrugas. El tiempo de inmersión puede seleccionarse de entre 10 segundos, 15 segundos, 30 segundos, 1 minuto, 2 minutos, 3 minutos, 5 minutos, 10 minutos, 20 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 1,5 horas, 2 horas y 3 horas, o un tiempo mayor, tal como 4 horas, 8 horas, 12 horas o 24 horas. Cuando el cosmético experimental ha de aplicarse sobre la piel, el cosmético experimental aplicado sobre la piel se suele evaporar en un tiempo muy corto, y por lo tanto se selecciona un tiempo
- 20 de inmersión relativamente corto de aproximadamente 10 segundos a 2 minutos. Por otra parte, cuando el cosmético experimental debe aplicarse usando un paquete o similar, se selecciona un tiempo más largo, tal como 10 minutos, 20 minutos, 30 minutos o durante la noche. La inmersión se refiere al contacto con el cosmético experimental, y puede ser una etapa de poner en contacto el cosmético experimental gota a gota o recubrimiento.

- Los componentes que pueden estar contenidos en los cosméticos experimentales incluyen agua y alcoholes tales como etanol, glicerina y polietilenglicol, como bases, aminoácidos tales como glicina, betaína y pirrolidonacarboxilato Na y sacáridos tales como fructosa, maltitol, manitol y trehalosa, como hidratantes, oleato de glicerilo, isoestearilglicerilo y extractos vegetales, como tensioactivos, aceite de jojoba, aceite de camelia, aceite de oliva, escualeno y similares, como aceites, ácido hialurónico, colágeno, ceramida, ácido ascórbico, vitamina E y similares, como principios activos, citrato de sodio, ácido cítrico y lactato de sodio como excipientes, y sales de ácido benzoico
- 25 y ácido sórbico como agentes antisépticos, pero no hay limitación para estos, y el cosmético puede contener cualesquiera de los componentes que se utilizan generalmente en cosméticos.

- Según la invención, la lámina de capa córnea que se ha humedecido con un cosmético experimental por inmersión se seca después del tiempo de inmersión prescrito. La etapa de secado se puede llevar a cabo a cualquier temperatura y humedad deseadas, pero preferiblemente se lleva a cabo a una temperatura y humedad en las que normalmente es de esperar que el cosmético experimental se utilice. Por ejemplo, la temperatura y la humedad
- 35 diferirán dependiendo del lugar en el que el cosmético experimental se comercialice, pero se seleccionan independientemente en intervalos de 10°C a 40°C, preferiblemente 15°C a 30°C y más preferiblemente 20°C a 30°C, y una humedad de 30% a 90%, preferiblemente 40% a 80% y más preferiblemente 50% a 60%. Desde el punto de vista de acortamiento del tiempo de selección, la etapa de secado se lleva a cabo preferiblemente a una temperatura
- 40 más alta y/o a una humedad más baja que la temperatura y la humedad en el que se espera que el cosmético experimental se utilice.

- La medición del grado de mejora de las arrugas tipo pliegue en la lámina de capa córnea se logra evaluando visualmente el grado de desaparición de las arrugas tipo pliegue. Por ejemplo, puede utilizarse una solución patrón tal como una solución soluble en agua de glicerina al 10%, y se basa en el grado de desaparición de las arrugas tipo
- 45 pliegue después de haber llevado a cabo la etapa de añadir arrugas tipo pliegue, la etapa de inmersión y la etapa de secado en las mismas condiciones, pueden seleccionarse cosméticos experimentales que tienen un excelente efecto corrector de arrugas si la desaparición de las arrugas tipo pliegue se demuestra que es equivalente o superior que la del patrón. Por el contrario, si la desaparición de las arrugas tipo pliegue no es mayor que la del patrón, el cosmético experimental se considera que no tiene un efecto corrector de arrugas. Cualquier solución deseada puede
- 50 seleccionarse como solución patrón, o también puede utilizarse cualquier solución patrón disponible en el mercado tal como un cosmético o esencia.

- La medición del grado de mejora de las arrugas tipo pliegue también puede evaluarse mediante el procesamiento de imágenes del grado de desaparición de las arrugas tipo pliegue. Para este método, la etapa de medición del grado de mejora de las arrugas tipo pliegue también puede incluir una etapa de fotografiar la lámina de capa córnea y una
- 55 etapa de procesamiento binario. El procesamiento binario permite digitalizar el grado de desaparición de las arrugas tipo pliegue, y por lo tanto se prefiere la evaluación por procesamiento de imágenes desde el punto de vista de permitir que se seleccionen numerosos fármacos experimentales con alto rendimiento.

A continuación se proporcionan ejemplos concretos para una explicación más detallada de la invención. Sin embargo, la invención no está en modo alguno limitada por los ejemplos.

Ejemplos

Ejemplo 1: Formación de arrugas residuales

Después de lavar la cara con jabón, un solo participante se acondicionó durante 10 a 30 minutos en una cámara ambiental (temperatura: 22°C a 24°C, humedad: 10% a 45% HR), y después del acondicionamiento, las arrugas en la comisura del ojo se fotografiaron (fig. 1, izquierda). A continuación, una operación de cerrar firmemente y abrir los ojos se llevó a cabo 10 veces, una vez cada 5 segundos, como movimiento de expresión. Las arrugas en la comisura de los ojos se fotografiaron inmediatamente después del movimiento expresión (fig.1, derecha). Como se indica con flechas en la fig. 1, se demostró que las arrugas residuales que se extienden desde las arrugas grandes ya existentes se formaron inmediatamente después del movimiento expresión.

10 Ejemplo 2: Selección de fármaco experimental para la mejora de arrugas tipo pliegue

Un modelo de epidermis humana reconstituida se adquirió en Japan Tissue Engineering. Éste se sometió a tratamiento con tripsina y la lámina de capa córnea se secó a 32°C, 60% de humedad para obtener una lámina de capa córnea transparente. A continuación, se plegó en un ángulo de 90 grados y se restauró para formar una arruga tipo pliegue de la lámina de la capa córnea. La sección de arruga tipo pliegue tenía menor transparencia de la capa córnea, y la sección dañada se visualizó (fig. 2, a la izquierda). La lámina de capa córnea arrugada por pliegue se utilizó para la evaluación de los métodos de embellecimiento y cosméticos, como un modelo de arrugas residuales formadas en la superficie de la piel cuando la piel se estira por cambios en la expresión. La lámina de capa córnea arrugada por pliegue se sumergió en el agua cosmética modelo (10% de glicerina, 3% de alcohol etílico, 0,3% de HCO60 (éter de aceite de ricino hidrogenado y polietilenglicol (60) (producto de Nikko Chemicals Co., Ltd.)), 0,09% de citrato de sodio, 0,01% de ácido cítrico) o etanol durante 30 minutos a temperatura ambiente (23°C), y después se secó a 32°C, 60% de humedad durante 18 horas, y se tomó una fotografía (fig. 2). Como resultado, el agua cosmética modelo fue más eficaz para la reparación de arrugas tipo pliegue de la capa córnea.

Ejemplo 3: Formación de arrugas por el movimiento de expresión *in vivo* y mejora de las arrugas por aplicación de agua cosmética modelo

25 Después de lavar la cara con jabón, un solo participante se acondicionó durante 10 a 30 minutos en una cámara ambiental (temperatura: 22°C a 24°C, humedad: 10% a 45% HR), e inmediatamente después del acondicionamiento, se recogió una réplica de la piel por el método descrito. A continuación, el movimiento de expresión (una operación de cerrar firmemente los ojos varias veces) se llevó a cabo en el panel y a continuación se recogió una réplica. A continuación, se aplicó un modelo de agua cosmética, y después de 10 minutos se recogió una réplica por el método anterior. La réplica recogida se sometió a análisis de imagen en tres dimensiones usando el programa informático de análisis de imagen preparado según el método descrito en PTL 4, y se calculó la relación de área de arrugas. Los resultados se muestran en la fig. 3. Esta prueba demostró que las arrugas residuales formadas por el movimiento de expresión se pueden mejorar mediante la aplicación de agua cosmética modelo, como se muestra en la prueba *in vivo*, que una lámina de capa córnea arrugada en pliegue modela adecuadamente arrugas residuales, y que los cosméticos seleccionados por un método de selección para cosméticos o métodos de embellecimiento con una lámina de capa córnea arrugada en pliegue según la invención, pueden mejorar las arrugas en pruebas *in vivo* también.

De este modo, aunque ha sido normalmente necesario para llevar a cabo pruebas de seguimiento que utilizan cosméticos experimentales con varias a varias docenas de participantes controlados durante varias semanas con el fin de examinar los efectos correctores de los cosméticos en las arrugas, utilizando una lámina de la capa córnea arrugada en pliegue como modelo de arruga residual permite la selección primaria fácil y conveniente de cosméticos experimentales con efectos correctores sobre las arrugas.

REIVINDICACIONES

1. Un método para evaluar un efecto corrector de arrugas de un cosmético experimental, que comprende:
 - formar arrugas tipo pliegue en una lámina de la capa córnea cultivada;
 - sumergirla en un cosmético experimental; y
- 5 medir el grado de mejora de las arrugas tipo pliegue de la lámina de la capa córnea cultivada.
2. El método según la reivindicación 1, en donde la medición del grado de mejora de las arrugas tipo pliegue se lleva a cabo mediante un examen visual.
3. El método según la reivindicación 1, que comprende una etapa de fotografiar la lámina cultivada antes de la etapa de inmersión en el cosmético experimental y después de la etapa de secado.
- 10 4. El método según la reivindicación 3, en donde la medición del grado de mejora de las arrugas tipo pliegue se realiza mediante el procesamiento de imágenes de la lámina cultivada fotografiada.
5. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el efecto corrector de arrugas es un efecto para mejorar las arrugas residuales.

FIG. 1

ANTES DEL MOVIMIENTO DE EXPRESIÓN

DESPUÉS DEL MOVIMIENTO DE EXPRESIÓN

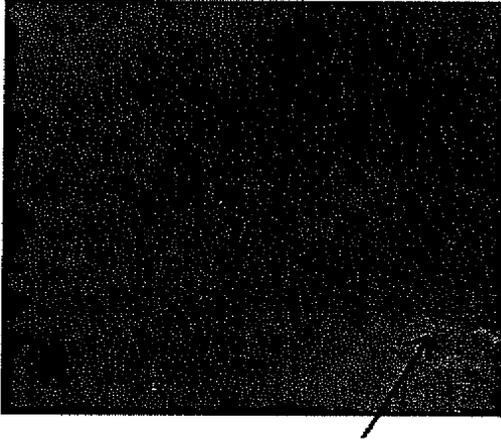
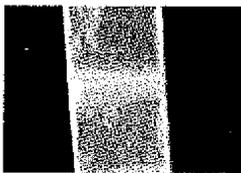


FIG. 2

MODELO DE ARRUGAS EN LÁMINA DE ESTRATO CÓRNEO



SUMERGIDA EN ETANOL



SUMERGIDA EN AGUA DE COSMETICO MODELO

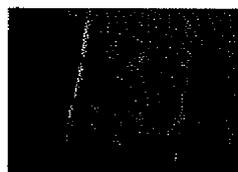


FIG. 3

