

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 594 011**

51 Int. Cl.:

**A61K 8/97** (2006.01)

**A61K 36/02** (2006.01)

**A61Q 19/08** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.09.2007 E 13169648 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.08.2016 EP 2633851**

54 Título: **Extractos de Sarcodiotheca y biofermentaciones para su uso en productos cosméticos**

30 Prioridad:

**26.09.2006 US 847236 P**

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

**15.12.2016**

73 Titular/es:

**BASF BEAUTY CARE SOLUTIONS LLC (100.0%)  
50 Health Sciences Drive  
Stony Brook NY 11790, US**

72 Inventor/es:

**CECCOLI, JOSEPH D.;  
COSTELLO, BRIAN y  
PILLAI, SREEKUMAR**

74 Agente/Representante:

**UNGRÍA LÓPEZ, Javier**

ES 2 594 011 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

Extractos de *Sarcoditheca* y biofermentaciones para su uso en productos cosméticos

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a un extracto de las algas marinas del género *Sarcoditheca* y, más particularmente, de la especie *Sarcoditheca gaudichaudii*, y a sus usos como principio activo para el cuidado de la piel en composiciones cosméticas. La divulgación también se refiere a una biofermentación del alga *Sarcoditheca*, tal como, por ejemplo, *S. gaudichaudii*, útil como principio activo para el cuidado de la piel para aplicaciones cosméticas contra el envejecimiento y particularmente útil cuando se usa en combinación con un extracto de algas rojas, tales como *Chondrus crispus*.

15 **Antecedentes de la técnica**

La matriz extracelular ("MEC") de la piel es extremadamente importante en el proceso de envejecimiento. La MEC no solamente proporciona el soporte tridimensional necesario para la unión de las células cutáneas y la orientación apropiada de la piel, sino que la MEC funciona también como el conducto de suministro para transmitir a las células cutáneas las señales que las estimulan para que realicen funciones críticas tales como la reparación tisular. Cuando la MEC está dañada, debido a la exposición ambiental o al proceso normal de envejecimiento, la piel desarrolla un aspecto envejecido indeseable, tal como arrugas, debido en parte a la integridad estructural comprometida de las proteínas fibrosas presentes en el interior de la matriz, tales como el colágeno o la elastina. Por tanto, es deseable desarrollar ingredientes activos y productos cosméticos que comprendan dichos ingredientes activos para reducir el daño en las proteínas fibrosas existentes en el interior de la piel o, como alternativa, estimular la producción de más de estas proteínas. Por ejemplo, la elastasa leucocitaria humana es una serinproteasa liberada por glóbulos blancos activados y es capaz de producir un daño considerable en muchos de los componentes proteicos de la MEC, particularmente la elastina, en la piel expuesta a luz UV o a otro estímulo irritante. Por tanto, sería ventajoso que un producto cosmético tuviera un efecto inhibitorio sobre esta proteasa para proteger contra el daño en la MEC.

Se han descrito numerosos compuestos en el campo cosmético como beneficiosos para la MEC o dirigidos de otro modo a retrasar, minimizar o eliminar los signos de envejecimiento o daño ambiental en la piel. Sin embargo, como cada vez más consumidores comienzan a demandar productos que tengan un origen considerado "natural", sigue existiendo la necesidad de formular compuestos cosméticos usando principios activos para el cuidado de la piel recién desarrollados basados en plantas y similares.

Las plantas marinas, tales como las algas, han desarrollado mecanismos y procesos químicos para protegerse y defenderse contra las condiciones ambientales extremas del mar, tales como la desecación (alta concentración de sal), radiación solar y alta presión, y se han adaptado para ser capaces de sobrevivir en diversos ambientes marinos. Las algas pueden variar desde organismos microscópicos unicelulares a algas del género *Laminaria* que superan los 100 metros de longitud, y se clasifican según el color -azul, rojo, verde y marrón. Muchas de estas algas se han utilizado históricamente y se continúan utilizando para la salud y la belleza como parte de remedios naturales, dietas diarias o suplementos dietéticos, o productos cosméticos.

Sorprendentemente, se ha descubierto que extractos y biofermentos procedentes del alga del género *Sarcoditheca* proporcionan efectos beneficiosos contra el envejecimiento cuando se usan como principios activos para el cuidado de la piel en un producto cosmético y se aplican en la piel, por ejemplo, al inhibir la elastasa y/o estimular la producción de colágeno.

Por tanto, la presente invención se refiere al uso de extractos de *Sarcoditheca* en composiciones cosméticas para mejorar el estado de la piel y/o para proporcionar efectos contra el envejecimiento.

La presente divulgación también se refiere a biofermentaciones (denominadas en la presente memoria también "biofermentos") de *Sarcoditheca* para su uso en composiciones cosméticas para mejorar el estado de la piel y/o para proporcionar efectos contra el envejecimiento, opcionalmente mezcladas con extractos de otras algas rojas o con factor de crecimiento humano.

La presente invención se refiere además al uso cosmético de los extractos marinos y biofermentos descritos para estimular la producción de colágeno y/o inhibir la *elastasa leucocitaria* humana en la piel.

Adicionalmente, la presente invención se refiere al uso cosmético de los extractos marinos y biofermentos descritos para proporcionar un efecto antioxidante a la piel.

La presente divulgación también se refiere a composiciones cosméticas, tales como geles, lociones o cremas, que comprenden cantidades seguras y eficaces de los extractos marinos y/o biofermentos.

Estas y otras características y ventajas de la presente invención serán evidentes para los expertos en la materia tras

la lectura de la presente divulgación.

### Descripción detallada de la invención

5 Todos los porcentajes y las proporciones usadas en la presente memoria son en peso de la composición total a menos que se indique otra cosa y todas las temperaturas están en grados Celsius a menos que se indique otra cosa.

10 La expresión “cantidad segura y eficaz”, como se usa en la presente memoria, significa una cantidad de un compuesto o una composición suficiente para inducir un efectos beneficioso positivo como se describe en la presente memoria, pero suficientemente baja para evitar efectos secundarios graves a criterio del experto en la materia.

15 La expresión “mezcla en suspensión”, como se usa en la presente memoria, se refiere a una suspensión de materia vegetal en agua.

20 Como se usa en la presente memoria, mejorar el estado de la piel incluye reducir, minimizar y/o prevenir irregularidades de la piel que se pueden detectar visualmente o mediante el tacto, incluyendo tales irregularidades, pero no estando limitadas a, arrugas, desniveles o asperezas, pérdida de la elasticidad de la piel, descolgamiento, descomposición de colágeno, pérdida de recuperación cutánea tras una deformación y color cetrino.

25 Se ha descubierto que, inesperadamente, los extractos de algas del género *Sarcodiotheca* proporcionan efectos beneficiosos contra el envejecimiento cuando se aplican a la piel, particularmente al actuar como un antioxidante, un agente inhibidor de la elastasa y/o un agente estimulador de colágeno. Estas plantas marinas se pueden encontrar, por ejemplo, a lo largo de las costas del este y del oeste de los Estados Unidos y Canadá, pero también a lo largo de las costas de Inglaterra, Chile, Perú y en otros lugares e incluyen las siguientes especies: *S. caribaea*, *S. furcata*, *S. divaricata*, *S. gaudichaudii* y *S. elongata*.

30 Una especie particularmente preferida es *Sarcodiotheca gaudichaudii*. *S. gaudichaudii* es una especie de mediana a grande de alga roja flácida con frondas frágiles cilíndricas. El color puede variar de amarillo pajizo a rosa pálido, rojo intenso o marrón rojizo. Se puede encontrar en pozas intermareales bajas y submareales altas, principalmente sobre pequeñas piedras y conchas en hábitats de lodos arenosos. Denominada comúnmente “alga de fibra roja”, *S. gaudichaudii* en ocasiones se prepara en un postre dulce en Filipinas.

35 La *Sarcodiotheca* usada en la presente invención puede ser de origen natural o estar cultivada. Para aplicaciones cosméticas industriales, se prefiere usar *Sarcodiotheca* cultivada ya que el cultivo reduce el riesgo de que las existencias se vean limitadas según se expande la acuicultura y cambian las condiciones ambientales marinas. Un método de cultivo particularmente preferido es el tipo de cultivo hidropónico. *Sarcodiotheca*, al igual que todas las algas, carece de raíces, por lo que no se puede utilizar un cultivo hidropónico verdadero en el que las raíces vegetales están sumergidas en una solución acuosa de nutrientes. Sin embargo, para cultivar algas es adecuada una adaptación del cultivo hidropónico tradicional en el que el crecimiento de las algas comienza a partir de reservas de semillas que después se mantienen cuidadosamente en grandes depósitos en cuyo interior se bombea agua marina. Esta agua marina se puede filtrar para que se purifique en cierto grado cuando alcanza los depósitos, dependiendo la cantidad de purificación del método y los materiales de filtración. Se puede añadir un fertilizante u  
40 otras formas de nutrientes al agua y se pueden controlar los niveles de nutrientes, dando como resultado un entorno de crecimiento controlado cuidadosamente, tal como el que se utiliza con las plantas terrestres tradicionales cultivadas hidropónicamente. Un efecto beneficioso particular de este entorno de crecimiento controlado es la capacidad de mantener el crecimiento y el suministro de variantes genéticas de origen natural. Adicionalmente, mediante el ajuste de las condiciones de nutrientes (por ejemplo, personalización de los tipos y niveles de nutrientes y a lo largo del tiempo) durante el crecimiento en este entorno de tipo hidropónico, es posible optimizar las algas resultantes para usos finales particulares, incluyendo el aumento de cualquier bioactividad y la selección controlada de las mismas. Además, el entorno de crecimiento controlado permite la producción de algas que tienen una calidad constante, lo que es muy deseable para aplicaciones industriales tales como la cosmética. Las algas cultivadas de este modo están disponibles en el mercado en proveedores tales como Acadian Seaplants Ltd de Dartmouth, Nueva  
55 Escocia, Canadá.

60 Una vez recolectados, los extractos de las plantas *Sarcodiotheca* se pueden producir mediante cualquier método de extracción conocido por los expertos en la materia. Son extractos particularmente preferidos los extractos acuosos de plantas completas deshidratadas. La cantidad de *Sarcodiotheca* utilizada en cualquier proceso de extracción dado variará basándose en la metodología usada y el coste, pero preferentemente varía de aproximadamente 1 % a aproximadamente 20 %.

65 Los extractos de *Sarcodiotheca* se utilizan en composiciones cosméticas aplicadas por vía tópica para producir efectos contra el envejecimiento de la piel, tales como la inhibición de la elastasa y la estimulación del colágeno. Además, los extractos de *Sarcodiotheca* se pueden utilizar para proporcionar un efecto antioxidante. Los extractos de la presente invención se pueden utilizar en cualquier forma de composición cosmética, si se aplican en la

composición cosmética. La cantidad del extracto debe ser una cantidad segura y eficaz para que se consiga el efecto beneficioso y el tipo de composición deseado (por ejemplo, crema, gel o loción), pero preferentemente la cantidad de extracto utilizado varía entre 0,1 % y 3 %.

5 Se descubrió inesperadamente que si se fermentaba *Sarcodiotheca* con un cultivo vivo de levadura para producir un biofermento, se aumentaba sustancialmente la potencia de la *Sarcodiotheca*, particularmente para la inhibición de la elastasa y/o la estimulación de colágeno. Aunque se puede usar el extracto descrito anteriormente, en una realización particularmente preferida se añade agua a *Sarcodiotheca* seca para producir una suspensión de pulpa vegetal y agua, que después se añade a un cultivo vivo de levadura.

10 En una realización particularmente preferida, se usa *Saccharomyces cerevisiae* para el cultivo de levadura. *Saccharomyces cerevisiae* es una especie de levadura de gemación bien conocida y que puede adquirirse con facilidad y el microorganismo que está detrás de los tipos de fermentaciones más comunes. Para los fines de la presente invención, la levadura *S. cerevisiae* se puede cultivar mediante cualquier método convencional conocido por un experto en la materia. Debe tenerse en cuenta que fermentaciones similares de otras algas rojas, tales como *Chondrus crispus*, no demostraron estas propiedades mejoradas de inhibición y/o estimulación demostradas por las fermentaciones de *Sarcodiotheca*.

15 En un aspecto preferido, el biofermento de *Sarcodiotheca* se utiliza en una cantidad entre 0,01 % y aproximadamente 5 % en una formulación cosmética para aumentar la síntesis de colágeno e inhibir la elastasa.

20 En un aspecto particularmente preferido, un extracto de algas rojas se mezcla con el biofermento de *Sarcodiotheca* y se conserva para formar una combinación útil como un ingrediente activo cosmético que proporciona efectos contra el envejecimiento incluso más potentes. Una especie preferida de alga roja es *Chondrus crispus*, denominada comúnmente también musgo de Irlanda o musgo de las rocas, y se utiliza con frecuencia en las industrias cosméticas y alimentarias como una fuente de carragenanos. En una realización preferida, el biofermento y el extracto de algas rojas se combinan con una proporción 20:80. En otra realización más, el extracto de algas rojas y el biofermento no se combinan como un ingrediente activo, sino que se usan en combinación en la formulación de un compuesto cosmético final para proporcionar mayores efectos contra el envejecimiento.

25 El TGF- $\beta$ 1 (factor de crecimiento transformante beta-1) es un factor de crecimiento del que es sabido que estimula la producción de la MEC, y se ha observado inesperadamente que el biofermento de *Sarcodiotheca* de la presente invención puede tener un efecto beneficioso sinérgico sobre la actividad del TGF- $\beta$ 1 endógeno en la piel.

30 Como se ha especificado previamente, los extractos y biofermentos de la presente invención son particularmente útiles como ingredientes activos en composiciones cosméticas. Estas composiciones cosméticas se pueden procesar de un modo convencional por un experto en la materia y son adecuadas para el uso cosmético. En particular, las composiciones son preferentemente adecuadas para la aplicación a la piel arrugada, ajada, áspera, seca, escamosa, envejecida y/o lesionada por la radiación UV para mejorar el aspecto y el tacto de la misma así como para la aplicación a la piel sana para prevenir o retrasar el deterioro de la piel.

35 Las composiciones cosméticas de la presente invención pueden comprender además diversos aditivos utilizados en el campo cosmético. El manual de ingredientes cosméticos CTFA describe una amplia diversidad de ingredientes cosméticos no limitantes usados comúnmente por los expertos en la materia y que son adecuados para su uso en las composiciones cosméticas de la presente invención. Los ejemplos de estas clases de ingredientes incluyen: abrasivos, emulsionantes, absorbentes, agentes gelificantes, agentes antiespumantes, agentes tamponantes, colorantes, formadores de película, ajustadores del pH, humectantes, espesantes y pigmentos. Se reconoce además que en las composiciones cosméticas de la presente invención se pueden utilizar otros ingredientes activos cosméticos adicionales, tales como agentes anti-acné (por ejemplo, ácido salicílico o peróxido de benzoílo), principios activos contra las arrugas (por ejemplo, retinoides o beta hidroxilácidos), antioxidantes (por ejemplo, ácido ascórbico y sus derivados o extractos de té), quelantes (por ejemplo, furidildioxima), agentes antiinflamatorios (por ejemplo, corticosteroides), agentes adelgazantes (por ejemplo, cafeína), agentes iluminadores de la piel (por ejemplo, extracto de mora o ácido kójico) o filtros solares (por ejemplo, los disponibles en el mercado con el nombre PARSOL), basándose en los efectos beneficiosos globales deseados que se pretenden otorgar mediante la composición.

40 Las composiciones de la presente divulgación generalmente se preparan por métodos convencionales conocidos en la técnica para preparar composiciones cosméticas. Tales métodos implican típicamente mezclar los ingredientes en una o más etapas hasta un estado relativamente uniforme, con o sin calentamiento, enfriamiento, aplicación de vacío o similares. Las composiciones pueden estar en cualquier forma convencional, tal como un gel, crema, loción o producto de tipo que se tiene que quitar por lavado.

45 Los límites superiores e inferiores de la cantidad de un extracto o biofermento de acuerdo con la presente invención en cualquier formulación dada para una composición cosmética se basan en el efecto deseado de las composiciones cosméticas, los demás componentes de la formulación, el tipo de composición, el coste y el sentido práctico. Sin embargo, el extracto o biofermento preferentemente está incluido en una cantidad entre

aproximadamente 0,1 % y aproximadamente 5 %, basándose en el peso final, más preferentemente entre aproximadamente 1 % y 3 %.

- 5 Las composiciones cosméticas descritas en la presente memoria son particularmente útiles como parte del método de tratamiento cosmético para tratar la piel que tiene signos de envejecimiento, donde tales composiciones se aplican a la piel que necesita tal tratamiento durante el periodo de tiempo necesario para mejorar el estado de dicha piel. Aunque dicho periodo de tiempo variará basándose en la eficacia de dicha composición cosmética, se prefiere que la composición cosmética se aplique al menos una vez al día a la piel.
- 10 Los siguientes ejemplos describen e ilustran adicionalmente la presente invención y no deben considerarse limitaciones de la presente invención.

EJEMPLO 1

- 15 Se recibieron muestras secas de tres cepas de algas *Sarcodiotheca* (todas *Sarcodiotheca gaudichaudii* o variantes de la misma) de Acadian Seaplants Limited de Nueva Escocia, Canadá, se enjuagaron con agua de grifo y se dejaron secar a temperatura ambiente. Se realizaron extracciones de las muestras de algas al 12,5 % p/p tanto en agua al 100 % como en butilenglicol al 50 % en agua como vehículos. Estos extractos se prepararon triturando la muestra en el vehículo y realizando la extracción a temperatura ambiente durante 2 horas con mezcla. Después, los extractos se filtraron al vacío usando papel Whatman N° 1 (tamaño de poro ~11µm) y los extractos resultantes se almacenaron a 4 °C. Estos extractos se denominan, en otros ejemplos de la presente memoria, extractos A, B y C de *Sarcodiotheca*, basándose en cuál de las tres cepas de algas se utilizó.
- 20

EJEMPLO 2: Biofermento de *Sarcodiotheca*

- 25 Se preparó una suspensión de *Sarcodiotheca gaudichaudii* deshidratada al 5 % p/p en agua. La suspensión se añadió a un cultivo vivo de *Saccharomyces cerevisiae* y se incubó a temperatura ambiente durante dos días para completar la fermentación.

30 EJEMPLO 3: Biofermento de *Chondrus/Sarcodiotheca*

- Se preparó un extracto al 5 % p/p de *Chondrus crispus* a partir de muestras secas de las algas. Se preparó un biofermento de *Sarcodiotheca* de acuerdo con el Ejemplo 2 y se diluyó. El extracto de *Chondrus* y el biofermento de *Sarcodiotheca* se mezclaron en una proporción de 80:20 y se filtraron a través de un filtro de 0,1-0,3 µm.
- 35

EJEMPLO 4: Ensayo de antioxidante

- Los extractos del Ejemplo 1 se ensayaron usando el Ensayo de Capacidad Antioxidante Total ABTS que mide el grado en el que una cantidad dada de una muestra de ensayo captura el exceso del catión radical de ABTS (ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)). Se retiró cualquier material insoluble de las muestras mediante filtración (tamaño de poro 0,2µm) y/o centrifugación antes del ensayo. Después de que se hubiese finalizado el ensayo, se llevó a cabo un cálculo para expresar esta capacidad en términos de la cantidad equivalente del antioxidante convencional Trolox (un análogo soluble en agua de α-tocoferol). Este ensayo es un método convencional para determinar la "capacidad antioxidante total" de una muestra de ensayo.
- 40

- El ensayo se realizó mezclando alícuotas de los extractos a concentraciones variables hasta dar mezclas de reacción que contenían una cantidad fija de ABTS\*. Al final de un periodo de reacción de 20 minutos se determinó el ABTS\*\* no capturado que quedaba midiendo su absorbancia a 734 nm. En cada ensayo se incluye Trolox como una muestra como patrón con el fin de expresar la capacidad antioxidante de la muestra de ensayo en términos de sus "equivalentes de Trolox". Específicamente, la capacidad antioxidante de cada incógnita se expresa en términos de la concentración (%v/v) que es equivalente a Trolox 20 µM. Las equivalencias de Trolox de los extractos se muestran en la Tabla 1 proporcionada a continuación. Las muestras con las menores concentraciones de equivalentes en la Tabla 1 tienen la mayor capacidad de captura. Las concentraciones de equivalentes en la Tabla 1 representan la capacidad de captura total en el punto final (un parámetro termodinámico).
- 45
- 50

55 *TABLA 1: concentraciones en % v/v de muestras de ensayo de extracto de alga que son equivalentes a Trolox 200 µM en términos de Capacidad de Captura de radical de ABTS:*

<u>Muestra</u>	<u>Extracto de agua</u>	<u>Extracto de BG al 50 %</u>
Extracto A de <i>Sarcodiotheca</i>	0,75	1,45
Extracto B de <i>Sarcodiotheca</i>	0,78	1,20
Extracto C de <i>Sarcodiotheca</i>	1,23	1,86

EJEMPLO 5: Ensayo de inhibición de elastasa leucocitaria

Los extractos de *Sarcodiotheca* del Ejemplo 1 se ensayaron en un ensayo de inhibición de *elastasa leucocitaria* humana. Cualquier material insoluble se retiró de los extractos mediante filtración (tamaño de poro, 0,2 µm) y/o centrifugación antes del ensayo. La actividad positiva en el ensayo demuestra actividad contra el envejecimiento para el extracto. El ensayo se realizó siguiendo la velocidad de escisión (aumento de la densidad óptica) de un sustrato peptídico cromógeno por elastasa leucocitaria humana en presencia de concentraciones variables de las muestras de ensayo. Los datos se presentan como el valor de  $CI_{50}$  para cada una de las muestras. La  $CI_{50}$  es la concentración de muestra de ensayo que inhibe en 50 % la elastasa leucocitaria humana. Una mayor potencia se indica por un menor valor de  $CI_{50}$ . Los resultados de estos ensayos se presentan en la Tabla 2 como los valores calculados de  $CI_{50}$ .

TABLA 2: Valores de  $CI_{50}$  para la inhibición de la elastasa leucocitaria

Muestra	Extracto de agua	Extracto de BG al 50 %
<i>Sarcodiotheca A</i>	0,076	>5
<i>Sarcodiotheca B</i>	0,018	0,9
<i>Sarcodiotheca C</i>	0,007	0,9

EJEMPLO 6: Ensayo de estimulación de colágeno

Las muestras de extracto de *Sarcodiotheca* del Ejemplo 1 se ensayaron en un ensayo de estimulación de colágeno de tipo 1. Cualquier material insoluble se retiró de las muestras mediante filtración (tamaño de poro, 0,2 µm) y/o centrifugación antes del ensayo. Se recibieron muestras secas de tres cepas de *Chondrus crispus* de Acadian Seaplants Limited de Nueva Escocia, Canadá y se prepararon extractos acuosos de *Chondrus* con fines comparativos usando la misma metodología de extracción que para los extractos de *Sarcodiotheca* (por ejemplo, 12,5 % p/p en 100 % de agua) del Ejemplo 1. Se cultivaron células de fibroblastos dérmicos humanos hasta confluencia en placas multipocillo y después se estimularon con concentraciones variables de los extractos tanto de *Sarcodiotheca* como de *Chondrus*. Después de la incubación durante 3 días, se midió mediante ELISA la cantidad de colágeno de tipo 1 que se secretó al medio de cultivo. La cantidad de colágeno presente en cada condición de ensayo se expresa como un porcentaje de la detectada en el medio de células no estimuladas. Los resultados de este ensayo para los extractos acuosos se muestran en la Tabla 3 proporcionada a continuación. Las concentraciones tóxicas de las muestras están indicadas por el símbolo “---” en la siguiente Tabla.

TABLA 3: Estimulación de colágeno por extractos acuosos de *Sarcodiotheca* y de *Chondrus*

Muestras de Algas	Producción de colágeno expresada como % de control no estimulado +/-ET Concentración de ensayo (% v/v)					
	0,01	0,03	0,1	0,3	1,0	3,0
Extracto A de <i>Sarcodiotheca</i>	N/A	N/A	215+/-14	283+/-19	256+/-15	--
Extracto B de <i>Sarcodiotheca</i>	189+/-30	226+/-31	250+/-28	209+/-20	--	--
Extracto C de <i>Sarcodiotheca</i>	210+/-22	272+/-16	260+/-24	--	--	--
Extracto A de <i>Chondrus</i>	N/A	131+/-13	162+/-25	215+/-27	265+/-25	259+/-33
Extracto B de <i>Chondrus</i>	N/A	N/A	142+/-14	181+/-14	231+/-20	229+/-12
Extracto C de <i>Chondrus</i>	N/A	155+/-10	227+/-19	276+/-19	312+/-11	274+/-12

Las muestras se ensayaron en pocillos por triplicado y se calculó la media +/-ET (error típico de la media). En todos los casos (excepto el Extracto A de *Chondrus* al 0,03 %v/v) los valores de p para concentraciones no tóxicas fueron inferiores a 0,01, indicando una estimulación significativa de la síntesis de colágeno.

EJEMPLO 7: Extractos de algas, combinaciones de extracto de algas/extracto de levadura y fermentos de algas/levadura

Las siguientes muestras se ensayaron con respecto a las dos actividades contra el envejecimiento, inhibición de la elastasa y estimulación de la producción de colágeno, como los extractos de los Ejemplos 5 y 6 anteriores.

1. Extractos acuosos al 5 % p/p de algas *Sarcodiotheca* y *Chondrus*
2. 20 % de los extractos de algas al 5 % + 80 % de extracto de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*)
3. 20 % de la suspensión de algas al 5 % + 80 % de levadura viva (*Saccharomyces cerevisiae*) incubados durante 2 días.

Los extractos se prepararon usando métodos de extracción convencionales de muestras de algas marinas, *Chondrus* y *Sarcodiotheca*, y la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. También se preparó un cultivo de *Saccharomyces cerevisiae* usando métodos convencionales. Después de la extracción e incubación, se filtraron las muestras usando papel de filtro Whatman de 1 micrómetro y se aclararon adicionalmente usando filtración de 0,8 y 0,2 micrómetros. Los filtrados se ensayaron con respecto a la inhibición de la elastasa y la estimulación de colágeno conforme a las metodologías discutidas en los Ejemplos 5 y 6.

Inhibición de elastasa leucocitaria

Los resultados se resumen en la siguiente Tabla 4.

TABLA 4: Valores de  $CI_{50}$  para inhibición de elastasa leucocitaria:

Muestra de algas	Extracto al 5 % p/p	20 % de extracto al 5 % + 80 % de extracto de levadura	20 % del extracto al 5 % + 80 % de levadura viva
<i>Chondrus</i>	2,8-5	5,4	15-20
<i>Sarcodiotheca</i>	0,8-1,0	8,0	0,45-0,9

En general, los extractos de *Chondrus* mostraron una baja actividad inhibidora de elastasa y no hubo ningún efecto beneficioso debido a la fermentación o cuando se usó en combinación con el extracto de levadura. Sin embargo, en el caso de *Sarcodiotheca*, hubo un aumento sustancial en la actividad inhibidora de elastasa para el extracto después de la fermentación con levadura viva. La fermentación aumentó la actividad del extracto de *Sarcodiotheca* hasta 20 veces. Por el contrario, cuando estaba diluido con 80 % de extracto de levadura la actividad era muy baja, indicando que el caldo de levadura (extracto de levadura muerta) no tenía actividad inhibidora de elastasa.

Ensayo de estimulación de colágeno

Los resultados se resumen en la siguiente Tabla 5.

Muestra de algas	Producción de Colágeno expresada como % de control no estimulado +/-ET Concentraciones de Ensayo (%v/v)					
	0,01	0,03	0,1	0,3	1,0	3,0
Extracto de <i>Sarcodiotheca</i> al 5 % p/p	118+/-18	108+/-13	98+/-8	199+/-16	229+/-9	65+/-4
20 % de extracto <i>Sarcodiotheca</i> al 5 % + 80 % de extracto de levadura	94+/-6	108+/-13	106+/-15	104+/-8	127+/-15	132+/-16
20 % de suspensión al 5 % de <i>Sarcodiotheca</i> + 80 % de cultivo de levadura viva	180+/-40	198+/-45	238+/-57	198+/-61	352+/-75	237+/-51
Extracto de <i>Chondrus</i> al 5 %	108+/-14	119+/-19	141+/-19	195+/-16	176+/-18	155+/-9
20 % de extracto de <i>Chondrus</i> al 5 % + 80 % de levadura	136+/-20	123+/-16	97+/-6	149+/-19	150+/-17	133+/-9
20 % de suspensión de <i>Chondrus</i> al 5 % + 80 % de levadura viva	116+/-15	127+/-18	224+/-12	181+/-22	--	--

Entre las muestras de *Chondrus*, el fermento (suspensión + levadura viva) mostró una actividad de estimulación de colágeno modesta y el extracto al 5 % p/p y el extracto diluido con extracto de levadura mostraron una actividad muy mínima. Entre las muestras de *Sarcodiotheca*, el fermento (suspensión + levadura viva) mostró una actividad de estimulación de colágeno muy buena. Por ejemplo, 1 % de este fermento aumentó la síntesis de colágeno en hasta

350 % del control. El extracto diluido con extracto de levadura no mostró actividad. En resumen, como en el caso de la actividad de inhibición de elastasa, la actividad de *Sarcodiotheca* estaba aumentada por el proceso de fermentación, mientras que el proceso de fermentación no consiguió aumentar la actividad del *extracto de Chondrus*.

5 EJEMPLO 8: Combinación de biofermento de *Sarcodiotheca* con extracto de *Chondrus*

Se preparó un biofermento de *Chondrus/Sarcodiotheca* del siguiente modo:

10 se preparó un extracto al 0,67 % p/p de *Chondrus crispus* a partir de muestras secas de las algas. Se preparó una suspensión de *Sarcodiotheca gaudichaudii* deshidratada al 0,056 % p/p en agua. La suspensión se añadió a un cultivo vivo de *Saccharomyces cerevisiae* y se incubó a temperatura ambiente durante dos días para completar la fermentación. El extracto de *Chondrus* y el biofermento de *Sarcodiotheca* se mezclaron en una proporción de 80:20 y se filtraron a través de un filtro de 0,1-0,3 µm y se diluyeron adicionalmente.

15 *Ensayo de inhibición de elastasa leucocitaria*

El ensayo se realizó como se ha descrito en el Ejemplo 5 para concentraciones variables del biofermento de *Chondrus/Sarcodiotheca*. Los resultados se muestran en la siguiente Tabla 6.

20 **TABLA 6: Inhibición de elastasa leucocitaria**

Biofermento de <i>Chondrus/Sarcodiotheca</i> (% v/v)	Inhibición de elastasa leucocitaria humana (% de inhibición)
0	0
2	24
4	41
6	50
8	54
10	58
15	60

*Ensayo de estimulación de colágeno*

25 Se realizaron ensayos como se ha descrito en el Ejemplo 6. El ensayo usó 2 muestras: una que se había almacenado de forma continua a 4 °C y una alícuota que se había cambiado a 40 °C durante la semana anterior a la estimulación de células durante 3 días. La Tabla 7 (las barras de error son un ET) proporcionada a continuación muestra el contenido de colágeno, como porcentajes de cultivos de control no tratados, para las muestras a 4 °C y 40 °C.

30 **TABLA 7: Estimulación de colágeno**

Biofermento de (%v/v) <i>Chondrus/Sarcodiotheca</i>	Muestras de almacenamiento a 4 °C	Muestras de almacenamiento a 40 °C
0,3	198+/-40	222+/-18
1,0	225+/-36	260+/-35
3,0	148+/-16	245+/-28

35 Se almacenaron muestras adicionales a todas las concentraciones a 40 °C durante las 6 semanas anteriores a la estimulación de células durante 3 días. Los resultados de la estimulación de las células se muestran en la Figura 3. Se observó que la eficacia de IH2837 para la estimulación de colágeno aumentaba adicionalmente cuando el almacenamiento a 40 °C se prolongaba hasta las 6 semanas.

EJEMPLO 9: Biofermento de *Sarcodiotheca* y factor de crecimiento

40 Se ensayaron la producción de colágeno por un biofermento de *Sarcodiotheca* de la presente invención y por TGF β1, en solitario y en combinación. El biofermento de *Sarcodiotheca* se preparó como se describe en la presente memoria. Se cultivaron fibroblastos dérmicos humanos normales durante 3 días en presencia de estos dos efectores. Se midieron los niveles de colágeno de tipo I soluble en el medio sobrenadante mediante ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA). Se recogieron los medios en varios puntos de tiempo después del inicio de la estimulación. Los resultados se muestran en la Tabla 8, donde se puede ver que los niveles de colágeno aumentaron en todas las condiciones, pero los niveles en los cultivos tratados con el biofermento de *Sarcodiotheca* más TGF- β1 eran mayores que la suma de sus efectos individuales. Existe un efecto sinérgico que muestra que el biofermento de *Sarcodiotheca* es capaz de acentuar el efecto beneficioso de un factor de crecimiento endógeno natural.

50



TABLA 8

Muestra	6 h (media)	24 h (media)	48 h (media)	72 h (media)
Biofermento de Sarco al 1 %	54	95	159	294
TGF-b.1 10 ng/ml	61	117	208	491
TGF-b1 5 ng/ml	62	116	259	553
Biofermento de Sarco al 1 % + TGF-.1 10 ng/ml	55	114	397	1023
Biofermento de Sarco al 1 % + TGF-.1 5 ng/ml	55	113	338	1043
no tratados	62	99	115	123

EJEMPLO 10: Composiciones cosméticas

5

Los siguientes ejemplos ilustran composiciones para el cuidado de la piel de acuerdo con la presente invención.

Las composiciones se pueden procesar de una forma convencional y son adecuadas para el uso cosmético.

10 Este ejemplo ilustra una crema contra el envejecimiento de acuerdo con la presente divulgación.

Ingredientes %	% p/p
Biofermento de <i>Sarcodiotheca</i>	2,0
Butilenglicol	3,0
EDTA disódico	0,05
Penulan TR2*	0,1
Carbowax PEG 400**	5,0
Montanov 68****	5,0
Aceite Mineral	5,0
Protachem CER***	5,0
Combinación conservante	1,5
Agua	hasta 100
*de Noveon; ** de Dow Chemicals; *** de Protameen; **** de Seppic	

Este ejemplo ilustra una crema de aceite-en-agua de acuerdo con la presente divulgación.

Ingredientes	% p/p
<i>Chondrus/Sarcodiotheca</i>	2,0
Biofermento	
Aceite mineral	4,0
1,3-dimetil-2-imidazolidinona	1,0
Alfol® 16RD*	4
Trietanolamina	0,75
Butano-1,3-diol	3
Goma de xantano	0,3
Perfume	cs
Hidroxitolueno butilado	0,01
Agua	hasta 100
* Alfol 16RD es alcohol cetílico y es una marca comercial registrada de Condea Vista Co.	

15

Este ejemplo ilustra una composición de loción/gel de enjuagado facial de acuerdo con la divulgación.

Ingredientes	% p/p
Biofermento de <i>Sarcodiotheca</i>	2,0
Antioxidante (vitamina C)	2
Butilenglicol	5,0
Conservante	1,0
Simulgel EPG	2,5
Biowax 754 líquida	5,0
Glicerina	6,0

ES 2 594 011 T3

Ingredientes	% p/p
Perfume	cs
Carbopol 980	0,5
Agua	hasta 100

Este ejemplo ilustra una composición para una crema contra el envejecimiento de acuerdo con la divulgación:

Ingredientes	% p/p
Butilenglicol (1)	5,00
Glicerina (2)	3,00
Biofermento de Sarcoditheca	1,50
Polimetilmetacrilato (Microma 100, Ikeda)	2,00
Alcohol Cetearílico y Polisorbato 60 y Estearato PEG-150 y Steareth-20	4,50
Estearil Heptanoato	4,50
Cetil Ricinoleato	4,50
Poliisobuteno Hidrogenado	3,00
Isononil Isononanoato	1,30
Cera de Abejas Sintética (Synthetic Beeswax N° 122P, Koster Keunen)	1,75
Copolímero de Hidroxietil Acrilato/Acriloildimetil Taurato Sódico y Escualano y Polisorbato 60	1,00
Ciclometicona (DC345, Dow Corning)	1,00
Dimeticona (DC200/100, Dow Corning)	0,2
Tetrahexildecil Ascorbato	0,25
Conservante (Fenoxietanol (y) Clorofenesina (y) Glicerina (y) Metilparabeno (y) Ácido Benzoico)	1,20
Ingredientes	
Agua Desionizada	1,5
Ascorbil Glucósido	0,25
Agua Desionizada	hasta 100

5

Este ejemplo ilustra una loción alcohólica de acuerdo con la invención.

Ingredientes	% p/p
Biofermento de Chondrus/Sarcoditheca	1,5
1,3-dimetil-2-imidazolidinona	0,01
Etanol	40
Antioxidante	0,1
Perfume	cs
Agua	hasta 100

10

Este ejemplo ilustra una composición no acuosa para el cuidado de la piel de acuerdo con la divulgación.

Ingredientes	% p/p
Biofermento de Chondrus/Sarcoditheca	2
1,3-dimetil-2-imidazolidinona	1
Goma de silicona SE-30	10
Fluido de silicona 345	20
Fluido de silicona 344 50	26
Escualeno	10
Ácido linoleico	0,01
Colesterol	0,03
Ácido 2-hidroxi-n-octanoico	0,7
Aceite herbario	0,5
Etanol	2

Este ejemplo ilustra una composición de filtro solar con SPF 15 de acuerdo con la divulgación.

Ingrediente	% p/p
Polímero reticulado de Acrilatos/Alquil C10-30 Acrilato (Pemulen TR-2, Protameen)	0,120
Biofermento de Sarcoditheca	1,0
Butilenglicol	3,000

Ingrediente	% p/p
Polimetilmetacrilato (Microma 100, Kobo)	1,000
Copolímero de Hidroxietilacrilato/Acriloildimetil Taurato Sódico (y) Escualano (y) Polisorbato 60 (Simulgel NS, Seppic)	1,250
Etilhexil Metoxicinamato	7,500
Octil Salicilato	5,000
Triglicérido Caprílico/Cáprico	3,000
Poliisobuteno Hidrogenado	5,000
Pentaeritritil Tetraisononanoato (Pelemol P49, Phoenix)	0,500
Glicol Estearato Acetilado (Cetacene, Vevy)	2,000
Alcohol Cetearílico (y) Cetearth-20 (Phoenoxol T, Phoenix)	3,000
Octocrileno	4,000
Alcohol Cetearílico (y) Glucósido de Coco	3,000
Butil Metoxidibenzoilmetano	3,000
Dimeticona (Silicona HL-88, Bamet)	2,500
Conservantes (Fenoxietanol (y) Clorofenesina (y) Glicerina (y) Metilparabeno (y) Ácido Benzoico)	1,250
Agua desionizada	hasta 100

Se debe entender que las realizaciones específicas de la invención ilustradas y descritas en la presente memoria pretenden ser meramente representativas, ya que la invención se puede modificar y llevar a la práctica de formas diferentes pero equivalentes evidentes para los expertos en la materia teniendo el beneficio de las enseñanzas de la presente memoria. Por lo tanto, es evidente que las realizaciones particulares descritas anteriormente se pueden alterar o modificar y que todas estas variaciones se consideran dentro del alcance de la invención.

La invención también se refiere a los puntos siguientes:

- 10 Punto 1. Una composición cosmética que comprende un extracto de *Sarcodiotheca* y un excipiente cosméticamente aceptable.
- Punto 2. La composición del punto 1, donde el extracto es un extracto de *Sarcodiotheca gaudichaudii*.
- 15 Punto 3. La composición cosmética según el punto 1, donde la composición comprende entre aproximadamente 1 % a aproximadamente 3 % en peso del extracto.
- Punto 4. La composición cosmética según el punto 1, donde la composición es una crema, una loción, un gel, o un producto de tipo que se tiene que quitar por lavado.
- 20 Punto 5. Un ingrediente activo cosmético que comprende una suspensión que comprende pulpa vegetal de *Sarcodiotheca* y agua; y un cultivo de levadura viva; donde la suspensión y el cultivo se combinan y se incuban hasta que la fermentación es completa.
- 25 Punto 6. El ingrediente activo del punto 5, donde el alga *Sarcodiotheca* es *Sarcodiotheca gaudichaudii*.
- Punto 7. El ingrediente activo del punto 5, donde la suspensión contiene de aproximadamente 1 % a 5 % en peso de *S. gaudichaudii*.
- 30 Punto 8. El ingrediente activo del punto 5, donde la levadura es *Saccharomyces cerevisiae*.
- Punto 9. Una composición cosmética que comprende el ingrediente activo de cualquiera de los puntos 5-8 y un excipiente cosméticamente aceptable.
- 35 Punto 10. La composición cosmética del punto 9, que comprende además un extracto de algas rojas.
- Punto 11. La composición cosmética del punto 10, donde el alga roja es *Chondrus crispus*.
- 40 Punto 12. Un ingrediente activo cosmético que comprende una combinación de un biofermento producido a partir de una suspensión, comprendiendo dicha suspensión pulpa vegetal de *Sarcodiotheca* y agua, fermentada con un cultivo de levadura viva; un extracto de *Chondrus crispus*;
- 45 al menos un conservante.

## ES 2 594 011 T3

Punto 13. El ingrediente activo de la mezcla del punto 9 que comprende aproximadamente 20 % v / v del biofermento.

5 Punto 14. Uso de un extracto de *Sarcodiotheca* para mejorar cosméticamente el estado de la piel.

Punto 15. Uso de acuerdo con el punto 10, donde el extracto es extracto de *Sarcodiotheca gaudichaudii*.

10 Punto 16. Un método de tratamiento cosmético para tratar piel que tiene signos de envejecimiento, que comprende aplicar por vía tópica a la piel que lo necesite la composición cosmética los puntos 1 o 9.

Punto 17. El método del punto 17, donde el tratamiento cosmético se selecciona del grupo que consiste en un efecto antioxidante, inhibición de elastasa o estimulación de colágeno

**REIVINDICACIONES**

1. Un método de tratamiento cosmético para tratar piel que tiene signos de envejecimiento, que comprende aplicar por vía tópica a la piel que lo necesite una composición cosmética que comprende un extracto de *Sarcodiotheca* y un excipiente cosméticamente aceptable.
- 5 2. El método de la reivindicación 1, donde el tratamiento cosmético se selecciona del grupo que consiste en un efecto antioxidante, inhibición de elastasa o estimulación de colágeno.
- 10 3. El método de la reivindicación 1 o 2, donde el extracto es un extracto de *Sarcodiotheca gaudichaudii*.
4. El método de las reivindicaciones 1-3, donde la composición comprende de aproximadamente 1 % a aproximadamente 3 % en peso del extracto.
- 15 5. El método de las reivindicaciones 1-4, donde la composición es una crema, una loción, un gel, o un producto de tipo que se tiene que quitar por lavado.

Figura 1

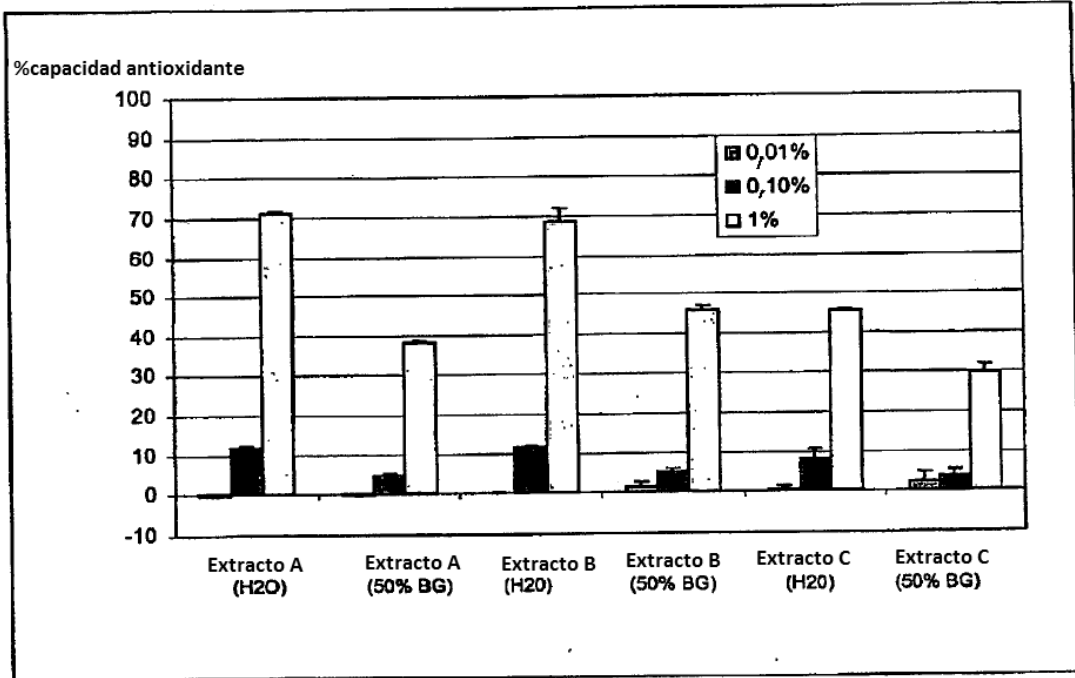


Figura 2

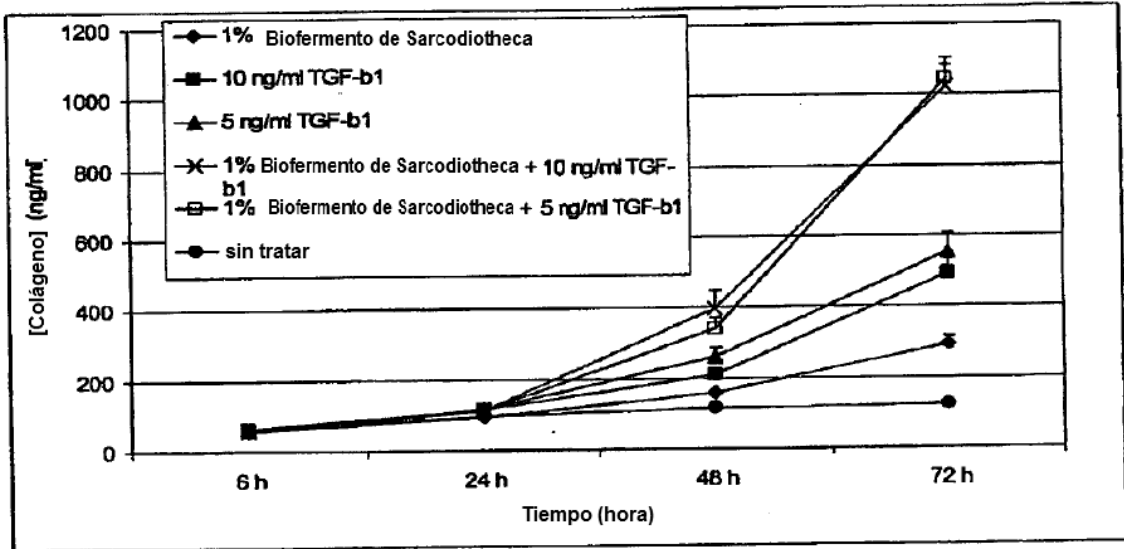


Figura 3

