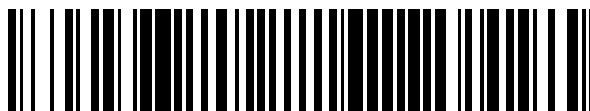


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 600 027**

51 Int. Cl.:

A61K 8/73 (2006.01)
A61Q 5/00 (2006.01)
A61Q 5/02 (2006.01)
A61Q 7/00 (2006.01)
A61P 17/14 (2006.01)
A61P 17/04 (2006.01)
A61Q 5/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.12.2011 PCT/EP2011/072572**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **21.06.2012 WO12080223**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.12.2011 E 11819163 (4)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.07.2016 EP 2651388**

54 Título: **Uso de ésteres de lipoato de glicosaminoglicano en el campo de tricología**

30 Prioridad:

15.12.2010 IT MI20102296

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
06.02.2017

73 Titular/es:

**SIGEA S.R.L. (100.0%)
Area Science Park, Padriciano 99
34149 Trieste, IT**

72 Inventor/es:

**BOSCO, MARCO;
STUCCHI, LUCA;
FABBIAN, MATTEO y
PICOTTI, FABRIZIO**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 600 027 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 de ésteres de lipoato de glicosaminoglicano en el campo de tricología

5 La presente invención desvela el uso de ésteres lipoicos y ésteres lipoicos-fórmicos de ácido hialurónico y sustancias funcionales para uso en cosmética y protección cutánea que tienen una acción protectora y formadora de película sobre la queratina del tallo del cabello, una acción protectora frente al ataque por radicales libres y una acción de refuerzo y revitalizante del folículo que evita la caída del cabello.

La invención también se refiere a preparaciones tópicas con actividad protectora, de refuerzo y que evitan la caída del cabello que contienen dichos ésteres de glicosaminoglicano.

10 La preparación de dichos ésteres, en particular ésteres de ácido hialurónico (HA) se desvela en el documento WO 2009/080220.

Estado de la técnica

15 El ácido hialurónico es un polisacárido endógeno y ubicuo presente en numerosas partes del cuerpo, especialmente en el líquido sinovial, el globo ocular y la matriz extracelular de la dermis. Numerosos estudios de su actividad biológica han demostrado sus propiedades anti-inflamatorias, de regeneración tisular y de viscoscomplemento y su capacidad para mantener un elevado grado de hidratación tisular; desarrolla su acción como modulador de la difusión iónica en la matriz extracelular y regulador de la motilidad celular. También se ha citado una acción de neutralizador de radicales; no obstante, únicamente se observa frente a algunas especies de radicales, y su eficacia en este sentido es limitada.

20 Se ha comprobado que la estructura ampliada del ácido hialurónico, con sus numerosas posibilidades para unir otras moléculas al grupo alcohol por medio de sustituciones parciales o completas, resulta ideal para el sistema de vehículo para moléculas activas pequeñas. Estos nuevos compuestos poliméricos actúan como sistemas de liberación controlada de pequeños constituyentes activos para las superficies corporales, al tiempo que la estructura básica del ácido hialurónico garantiza adherencia y compatibilidad biológica total durante todas las etapas de liberación. La combinación de ácido hialurónico y ácido lipoico es un ejemplo de este tipo de conexión activa.

25 El ácido lipoico es un cofactor esencial en diversos complejos de multi-enzima a nivel mitocondrial, para el metabolismo de hidratos de carbono y proteínas, y está implicado en el mecanismo de producción de ATP. Las acciones que contrarrestan los radicales libres y el estrés oxidativo, la quelación de metales y la regeneración de otras moléculas antioxidantes tales como glutatión y vitaminas C y E, también se ha demostrado por vía experimental.

30 Debido a su especial estructura química, con un puente de disulfuro en un anillo de cinco-miembros, y al bajo potencial redox del sistema lipoato/dihidrolipoato, el ácido alfa-lipoico participa en las reacciones de retirada de especies de oxígeno reactivo (ROS) tales como hidroxilo, superóxido, peróxido, singlete de oxígeno y el óxido nítrico de radical libre. También reacciona muy rápidamente con especies oxidantes que no son de radicales tales como hipoclorito o H₂O₂ que degradan las estructuras proteicas, generando formas de radicales. Además, el ácido lipoico experimenta quelación con metales de transición (como hierro y cobre) que catalizan las reacciones que generan radicales libres, y de este modo neutraliza los agentes de degradación aguas arriba.

35 Aunque se emplea cada vez más como complemento de la dieta, el ácido lipoico se usa menos comúnmente con fines cosméticos debido a su falta de practicabilidad. Es insoluble en agua como tal, mientras que la solubilidad de la sal de sodio es limitada por el pH, que debe ser al menos de 7,4. Las aplicaciones actuales tópicas de ácido lipoico se limitan casi únicamente al campo dermocosmético y se refieren a formulación anti-envejecimiento, agentes de despigmentación de la piel y formulaciones para el tratamiento de inflamaciones, cicatrices hipertróficas y queloides, rosácea, acné y cicatrices resultantes.

40 En cosmética, el uso de HA se reivindica principalmente como agente humectante, y las reivindicaciones se refieren a la molécula nativa no modificada, cuya característica principal se refiere al peso molecular específico usado. Las aplicaciones de HA en el campo de tricología son más recientes que las diseñadas para la cara/cuerpo. El documento US 5.340.579 reivindica el uso de mezclas complejas de glicosaminoglicanos para el tratamiento de estados patológicos de la piel y el cabello. Estas mezclas también incluyen HA con un peso molecular muy elevado (2,5-3,0*10⁶ dalton) y, en particular, proteoglicanos sometidos a extracción a partir del cordón umbilical humano. Los autores no aclaran el mecanismo de acción o la naturaleza de los ingredientes realmente activos de la mezcla; no obstante, reivindican que las cadenas peptídicas de "ácido proteohialurónico" presentes en el extracto de cordón umbilical juegan un papel esencial en la absorción transdérmica creciente de los otros ingredientes con una acción altamente humectante.

45 El documento JP 2007113921 (EP 2166022) desvela el uso tricológico de productos basados en HA esterificado sobre el grupo carboxilo de ácido glucurónico con residuos que tienen un grupo amino cuaternario.

55

El documento DE 4419783 desvela un champú medicado que contiene ésteres de ácido lipoico y de ácido dihidrolipoico como agentes activos en la inhibición de la enzima responsable del catabolismo de elastina. No obstante, la acción anti-inflamatoria se atribuye al enantiómero R de ácido lipoico, y una acción analgésica al enantiómero S.

- 5 El documento JP 62-175417 presenta la actividad del ácido lipoico y sus derivados hidrófobos como activador de la recuperación del crecimiento capilar en casos de alopecia, acción de prevención de caída del cabello y actividad anti-caspa.

10 El documento JP 2008174453, equivalente al documento WO 2006/117995, desvela diversas acciones metabólicas de ácido dihidrolipoico sometido a formación de complejos con metales, incluyendo la inhibición de la enzima 5-alfa-reductasa que convierte testosterona en dihidrotestosterona, con una reducción consiguiente de la proliferación celular. Se reivindica su uso terapéutico frente a alopecia.

El documento RU 2357722 atribuye a ácido lipoico la capacidad de ejercer influencia en la multiplicación celular en el folículo, estimulando la recuperación del crecimiento capilar.

- 15 El documento JP 2009/137927 desvela la síntesis y uso de ésteres de ácido lipoico con alcoholes de diversas naturalezas químicas; no obstante, no se citan ni los sacáridos en general ni los GAGs en particular.

20 El documento EP 1890692, equivalente al documento WO 2006/128618, desvela formulaciones que contienen mezclas físicas de ácido lipoico con ácido hialurónico o sus derivados y reivindica aplicaciones médicas para la regeneración capilar, prevención del fotoenvejecimiento y tratamiento de úlceras crónicas y, si se administra sistemáticamente, para el tratamiento de neuropatías y envenenamiento provocado por agentes químicos y biológicos. No se cita evidencia de su eficacia en tratamientos cosméticos o de cuidado capilar.

El documento WO 2009/080220 describe la síntesis y procedimiento de preparación de derivados de éster y amida de ácido lipoico sobre polisacáridos.

El documento US 2003/180337 describe el uso del enantiómero R de ácido lipoico en composiciones cosméticas para la piel o el cabello.

- 25 El documento WO 2007/105854 describe ésteres que incluyen ácido lipoico y PEG, y reivindica su aplicación tópica para uso cosmético como agente que confiere elasticidad, blanqueador, antirradicales, anti-prurito, anti-caspa y promoción de la recuperación del crecimiento capilar. En otras palabras, el ácido lipoico se somete a "pegilación" para mejorar su estabilidad. De acuerdo con algunos autores, el PEG-lipoato se absorbe a través de la piel de manera más rápida/eficaz que el ácido lipoico solo (1,6 veces más); por el contrario, los lipoatos de polisacárido garantizan una residencia prolongada del ácido lipoico sobre la superficie del tallo del cabello, en la que se estabiliza una barrera frente a los agentes oxidantes externos, y mantiene la hidratación fisiológica debido a las propiedades humectantes de GAGs. En particular, HA une el ácido lipoico a las áreas en las cuales se acumula el polisacárido, concretamente sobre el tallo del cabello y su folículo capilar (Novosyme poster, Society of Cosmetics Chemists, Annual Meeting: Nueva York (Estados Unidos), 8-9 diciembre de 2005). No se hace mención alguna a ninguna mejora de la eficacia del lipoato pegilado a la hora de limitar la caída del cabello, o de la acción de refuerzo/fortificante.
- 30
- 35

40 Los diversos documentos de la técnica anterior claramente enfatizan la necesidad de usar formas de ácido lipoico que son costosas y difíciles de obtener (la mezcla con un exceso enantiomérico del isómero R en el documento US 2003/180337) o inestables (DHL-dihidrolipoico reducido procedente del documento WO 2006/117995), de manera que se requiere la formación de complejos con metales o polietileno glicoles para garantizar su estabilidad. Únicamente estas formas se reconoce que son eficaces, excluyendo implícitamente el racemato en la forma más estable.

45 No obstante, se ha encontrado que la conjugación química del racemato de ácido lipoico en la forma más común y estable con ácido hialurónico (HA) es muy eficaz en el fortalecimiento del cabello y reducción de la caída capilar. Esta eficacia no se espera a la vista de los descubrimientos de dicha técnica anterior. Además, la conjugación química con ácido hialurónico soluciona el problema de la disponibilidad industrial de ácido dihidrolipoico (DHL) y de la mezcla con exceso de enantiómero R.

50 Por tanto, la presente invención se basa en el descubrimiento del rendimiento sorprendente para la protección e inhibición de la caída del cabello observada tras la aplicación de una loción basada en lipoato de HA. La estructura química y el procedimiento de preparación de este éster ya se han descrito en la patente anterior para el producto. El comportamiento de este éster procede de sus propiedades químico-físicas y biológicas, que originan a partir de la conjugación química de dos moléculas con diferentes funcionalidades.

55 El resultado de las caracterizaciones químico-físicas y los ensayos de funcionalidad cosmética *in vitro* en *in vivo* sobre las formulaciones basadas en el lipoato de éster de HA convierte la aplicación tricológica de acuerdo con la invención por un lado en novedosa y por otro, en innovadora.

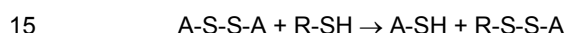
Descripción de la invención

- La presente invención reivindica el uso de ácidos hialurónicos estimulados con un antioxidante activo, ácido lipoico, que es fuertemente lipófilo y potencialmente reactivo frente a grupos tioles presentes sobre queratina. Los polímeros también son altamente biocompatibles porque consisten en constituyentes ya presentes en el cuerpo.
- 5 La conjugación química con el polisacárido modifica la absorción cutánea de ácido lipoico y su distribución preferencial en los tejidos grasos, y prolonga su residencia en las capas superficiales de la piel y el cabello. Se obtiene una concentración local muy elevada de ácido lipoico en las áreas de acumulación del polímero de esta forma.
- Ácido hialurónico es conocido por concentrarse principalmente en el folículo capilar (Novozyme poster, Society of Cosmetic Chemists, Annual Meeting: Nueva York (Estados Unidos), 8-9 de diciembre de 2005); si se usa en una loción tópica, la fracción polimérica que permanece adherida al tallo del cabello también garantiza la residencia duradera de los grupos funcionales de ácido lipoico.
- 10 En los términos de la formulación, usando un polisacárido para transportar las moléculas de ácido lipoico es una de las estrategias empleadas para facilitar su dispersión en agua y solucionar los problemas tecnológicos implicados en la fabricación de los productos industriales relacionados.
- 15 Las formulaciones de acuerdo con la invención contienen una cantidad de derivados de polisacárido que varía entre un 0,05 % y un 5 % en peso/peso, y comprende cremas, espumas, pomadas, geles, líquidos hidrófilos, champús, lociones acuosas o de agua-alcohol, y emulsiones de aceite/agua o agua/aceite.
- Si los ésteres de ácido hialurónico aptos para uso de acuerdo con la invención, la función carboxilo del polisacárido puede estar en forma ácida o salificada con metales alcalinos, en particular sodio, mientras que la función de sulfato, cuando está presente, se salifica con metales alcalinos, en particular sodio.
- 20 Normalmente, los ésteres de ácido hialurónico tienen un peso molecular de entre 10^3 y 10^7 dalton, preferentemente entre 10^4 y 10^6 dalton.
- Las composiciones de acuerdo con la invención también pueden contener una sal de cinc y/o una sal de plata en una relación molar entre 0,1 y 10 de metal con respecto al contenido de ácido lipoico.
- 25 El grado de sustitución (D.S.) de los grupos hidroxilo de cada monómero individual del polisacárido puede variar entre 0,01 y $1 \cdot N$ para los ésteres lipoicos, en los que N es el número de grupos alcohol libre presentes en la unidad de repetición, mientras que el grado de esterificación de ácido fórmico sobre los hidroxilo del polímero está entre 0 y 0,2 (es decir menor o igual que 20 % en moles/moles). La presencia de ácido fórmico es debida al uso de formamida en la etapa de síntesis, pero no resulta esencial para el comportamiento del derivado.
- 30 Variando el grado de esterificación de los constituyentes individuales, las características químico-físicas y reológicas de los derivados varían y, en general, la aptitud de formulación es siempre mejor que el ácido lipoico. El lipoato de éster de polisacárido y el formiato se dispersan fácilmente en agua, formando una solución viscoelástica comparable con la normal de GAG nativo. Por tanto, la formulación en los productos de agua-alcohol o acuosos transparentes es posible sin el uso de los disolventes orgánicos.
- 35 En segundo lugar, precisamente debido a su combinación, el ácido lipoico y el ácido hialurónico pueden beneficiar al cabello en términos de un efecto reparador y humectante simultáneo. La estructura de la superficie del tallo, concretamente la cutícula, queda garantizada por medio de enlaces de hidrógeno entre las cadenas laterales de aminoácido, interacciones hidrófobas, puentes disulfuro entre los residuos de cisteína e interacciones electrostáticas entre los grupos CO y NH en la cadena polipeptídica de queratina. El desequilibrio de agua en el cabello y la ruptura de la proteína de queratina van juntos, y pueden estar provocados por tratamientos agresivos (tinte, ondulación permanente, etc.) y estrés ambiental (contaminación, secado del cabello con aire caliente excesivo, etc.). El ejemplo de un tratamiento extremo tal como blanqueado, que es altamente desestabilizador para el equilibrio de agua y la integridad estructural del cabello, resulta esclarecedor. La liberación de oxígeno a partir de agua oxigenada induce modificaciones en las características químicas y físicas del cabello blanqueado. El oxígeno actúa sobre los enlaces disulfuro de la queratina, destruyéndolos y convirtiéndolos en compuestos oxidados de azufre, provocando una alteración de las propiedades mecánicas de las fibras (resistencia a la extensión, resistencia de tracción última, elasticidad, deformación) y una variación en sus características superficiales (propiedades eléctricas y porosidad. También puede modificar, e incluso destruir, las cadenas de queratina con fragmentos de proteína soluble en agua, que se retiran del cabello con el agua de aclarado. Esta degradación muy probablemente continúa incluso después de la operación de blanqueado: cada lavado posterior puede implicar la eliminación de oligopéptidos. El resultado es el cabello seco, que es difícil de desenredar, débil (menor resistencia a la tracción final), más poroso y más predispuesto a absorber las moléculas no propias y el agua. De este modo, se vuelve más sensible a variaciones de humedad atmosférica, y tarda más en secar. Finalmente, debido al aumento del número de sitios aniónicos procedentes de la oxidación de los puentes disulfuro y la facilidad de difusión interna, el cabello absorbe y conserva las sustancias catiónicas de manera más fácil, pero con frecuencia no uniforme. Una sustancia de tipo ácido alfa-lipoico, que es capaz de unirse a los grupos tiol libres de la queratina, contrarresta la reducción de los puentes disulfuro, manteniendo la estructura de proteína tri-dimensional y el carácter intacto de la fibra capilar. Debido a sus excelentes propiedades hidro-coordinantes, el ácido hialurónico forma una película humectante hidratada que es
- 50
- 55

permeable al aire y la luz, lubricante, no adherente, y viscoelástica, proporciona a la superficie capilar, de forma gradual y continua, una cantidad constante de agua, y libera lentamente ácido alfa-lipoico, con un efecto reparador capilar.

5 Debido a la conjugación química de ácido lipoico sobre el polisacárido, los factores tales como la presencia de iones metálicos (Cu, Fe) y radiación ultravioleta, que normalmente son nocivos para el cabello debido a la acción catalítica en la generación de radicales, se combinan para estabilizar la barrera protectora del producto sobre el cabello, mejorando de este modo su eficacia.

10 Se sabe que la conversión ácido lipoico/dihidrolipoico se puede inducir por la luz; de este modo, las funciones -SH se generan de forma que son capaces de unirse a los grupos tioles de la queratina. Debido a que el ácido lipoico permanece unido covalentemente a HA, este mecanismo además mejora el anclaje y la residencia de todo el polímero al tallo del cabello. La película polimérica que reviste el cabello lo hidrata, compacta su superficie y lo protege frente al ataque posterior por parte de especies oxidantes. Actúa como "adhesivo" en las microfisuras y entre las costras de queratina, reduciendo la descamación del cabello. El esquema de formación de enlaces con queratina se puede describir como se muestra a continuación:



en la que "A" es el componente de proteína y "R" es el residuo del ácido dihidrolipoico esterificado sobre HA.

20 Se ha demostrado experimentalmente que dicho mecanismo tiene lugar para los ésteres de acuerdo con la invención. Una solución acuosa de lipoato de HA (D.S. = 0,27) a la concentración de 1,5 % en peso/peso se colocó en una célula de cuarzo para espectrofotometría UV y se expuso a radiación UV durante una hora ($\lambda = 254 \text{ nm}$; potencia = 30 vatios; distancia 20 cm). La célula, cerrada con un tapón de teflón, se pesó antes y después del tratamiento para descartar los efectos de evaporación. Tras la irradiación se generó un gel transparente reticulado que tenía una viscosidad aproximadamente 10^5 veces mayor que la solución de partida (véase la Figura 1).

25 Con fines de comparación, se realizó el mismo tratamiento en una mezcla física de HA y ácido lipoico presente en las mismas concentraciones que están presentes en el éster de HALip: la radiación UV únicamente produce una ligera reducción de la viscosidad que se puede atribuir a una despolimerización mínima.

El descubrimiento experimental de una interacción químico-física sobre el tallo del cabello, y por consiguiente el anclaje de HALip a queratina, se basa en el efecto medido en el ensayo de retención del rizo descrito con anterioridad.

La interacción con metales también juega un papel importante en la explicación de la actividad observada.

30 Los iones metálicos tales como Fe, Cu y Zn están presentes en la superficie cutánea y el tallo del cabello; como ya se ha comentado, hierro y cobre pueden catalizar la formación de radicales que se originan a partir de oxígeno atmosférico, y localmente dan lugar a procedimientos de degradación.

35 El éster de lipoato de HA es capaz de secuestrar estos iones, formando quelatos de los mismos entre dos unidades de ácido lipoico. La Figura 2 muestra las curvas reológicas de una solución acuosa de un 1,5 % de HA lipoico y los geles formados a partir del mismo por medio de adición de 1 equivalente de Fe, 1 equivalente de Cu y 10 equivalentes de Zn, en comparación con el ácido lipoico esterificado.

40 La evidencia de reticulación entre las cadenas poliméricas inducida por la presencia del metal demuestra la implicación de dos unidades de ácido lipoico en la formación de complejos del catión. Dado que durante la formación de quelatos el éster permanece estable, se genera una malla tri-dimensional compacta de cadenas poliméricas que hace que la acción humectante y protectora sea incluso más eficaz.

Con fines de comparación, en la mezcla física de HA y ácido lipoico, la interacción únicamente tiene lugar entre el último y el metal, no implicando al polisacárido; el complejo de ácido lipoico-metal se vuelve insoluble, y produce un agregado amorfo. El ácido lipoico también forma quelatos con el metal por medio del carboxilo, formando un compuesto diferente a partir del generado por el éster sobre HA.

45 Los ésteres parciales de ésteres de ácido hialurónico con ácido lipoico o con ácido lipoico y fórmico también tienen una actividad protectora frente a los agentes oxidantes agresivos tales como hipoclorito y sistema Fenton.

El ácido hialurónico por sí mismo posee un radical y especies oxidantes que neutralizan la acción, pero esta propiedad está considerablemente mejorada en el conjugado con ácido lipoico.

50 La velocidad de eliminación de hipoclorito por parte de HALipoi, CSLipoi, HA nativo o CS nativo se ha medido en una solución 2 mM. Los gráficos que se refieren a los aspectos cinéticos se muestran en la Figura 3, que indica la absorbancia del ion hipoclorito con el tiempo: la concentración de polisacáridos equivale a 1 mM en unidades de repetición; el grado de sustitución en ácido lipoico (DS) en HALipoi equivale a 0,28; y el DS en CSLipoi equivale a 0,34.

De nuevo, en relación con el sistema Fenton ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}$), que produce radicales de oxígeno, se ha comprobado que los ésteres de lipoato de HA y CS son mucho más eficaces que el polisacárido correspondiente en la eliminación de radicales. Se trataron las soluciones que contenían un colorante (azul de Tripan) con H_2O_2 (0,1 mM) y Fe^{2+} (0,05 mM); los radicales oxígeno oxidan el cromóforo, cuya absorbancia a 588 nm disminuye rápidamente con el tiempo. Numerosas soluciones similares también contienen HA, CS, HALipoi o CSLipoi, en concentraciones crecientes (cp), cuando se preparan. El polisacárido es capaz de eliminar los radicales y conservar el colorante intacto. La Figura 4 muestra la eficiencia de acción del agente de neutralización a diversas concentraciones de polímero.

El cp requerido para dividir el daño provocado por los radicales en el colorante equivale a 1,5 mM para HA nativo, y disminuye hasta 0,26 mM para HALipoi que contiene DS en ácido lipoico que equivale a 0,28 moles/moles. CS produce este resultado a la concentración de 0,22 mM y CSLipoi a cp = 0,11 mM.

La protección frente a la degradación enzimática también se evaluó: el polisacárido, distribuido sobre el cuero cabelludo, puede penetrar fácilmente en la cavidad del folículo capilar, donde entra en contacto con las células viables; para realizar su acción de la manera más eficaz posible es importante que no se degrade demasiado rápido por parte de las enzimas hidrolíticas, especialmente hialuronidasa. Una de las ventajas de la invención en comparación con el ácido hialurónico nativo es que la presencia de sustituyentes de éster de ácido lipoico o ácido fórmico y lipoico mixtos lo protege frente a la degradación enzimática. Dicha propiedad innovadora se ilustra por medio de los siguientes parámetros de digestión enzimática a través de mediciones de reología.

El estudio se realizó en una solución de HA y una solución de ácido lipoico HA con D.S. = 0,3, descrito en el ejemplo 1 siguiente, a la concentración de 1,0 % en peso/peso, en tampón de acetato. Cada ensayo de parámetros cinéticos de hidrólisis se realizó por medio de adición de aproximadamente 70 μl de una solución concentrada de hialuronidasa testicular bovina "endo" (1060 U/mg) a 1,5 ml de solución polimérica para proporcionar una relación de enzima/polímero de 1:200. La mezcla se homogeneiza durante 30 segundos y se transfiere a la placa del reómetro para la medición continua de la viscosidad. Antes de la mezcla, las soluciones y las placas del reómetro se someten a tratamiento termostático a 37 °C. La Figura 5 muestra la variación gradual de la viscosidad a medida que la enzima hidroliza el polisacárido. El derivado de éster resiste la acción enzimática más que HA nativo.

Sobre la base de los factores explicados anteriormente, resulta evidente que las composiciones de acuerdo con la invención son útiles para la regeneración capilar, reforzando el cabello y realizando el tratamiento anti-caída del cabello, y para tratar estados de alopecia andrógena y efluvio de telógeno.

La invención además se ilustra por medio de los siguientes ejemplos de preparación de ésteres fórmico/lipoico mixtos de ácido hialurónico, que corresponden a las formulaciones cosméticas y los ensayos de actividad *in vitro* en *in vivo*.

Ejemplo 1: Síntesis de éster lipoico y fórmico de sal de sodio de ácido hialurónico

Se introdujeron 2 g de HA en 40 ml de FA (5 % en peso/peso) en un matraz de tres bocas de 100 ml y la solución se dejó bajo agitación mecánica a 90 °C, bajo flujo de N_2 , hasta la solubilización completa del polímero. Después se ajusta la temperatura hasta temperatura ambiente con un baño de agua.

El ácido lipoico (772,1 mg, igual a 0,75 equivalentes de HA), se solubiliza después por separado en 2 ml de DMSO; después se añade carbonilimidazol sólido (CDI, 667,5 mg, igual a 1,1 equivalentes de ácido lipoico) y se deja reaccionar a temperatura ambiente hasta la liberación completa de CO_2 .

En este momento, se introducen 200 mg de Na_2CO_3 en la solución del polímero en FA; el ácido lipoico activado se añade después, y se deja la solución en agitación a temperatura ambiente. La solución se vuelve amarilla, transparente y altamente viscosa (pH ~ 10).

Tras el tiempo de reacción de entre 30 minutos y 4 horas, se bloquea la reacción por medio de la adición de 20 ml de H_2O y 14 ml de HCl 0,5 M; el pH final mide 7,05. La solución final, que es ligeramente viscosa, transparente y amarillo pálido, se purifica por medio de diálisis, y el polímero se recupera por medio de secado por congelación.

El análisis de RMN del liofilizado permite la cuantificación de un grado de sustitución en ésteres de lipoato (DSLip) que equivale a 0,35 y ésteres de formiato (DSform) que equivale a 0,07.

Ejemplo 2: Síntesis de éster fórmico y lipoico de sulfato de condroitina

Se introducen 4 g de sulfato de condroitina (CS) en 20 ml de FA (20 % en peso/peso) en un matraz de tres bocas de 100 ml y se deja la solución bajo agitación mecánica a 90 °C, bajo flujo de N_2 , hasta la solubilización completa del polímero. Después, se ajusta la temperatura hasta temperatura ambiente con un baño de agua.

El ácido lipoico (984,2 mg, igual a 0,6 equivalentes de HA) se solubiliza por separado en 2 ml de DMSO; después se añade carbonilimidazol sólido (CDI, 851,3 mg, igual a 1,1 equivalentes de ácido lipoico) y se deja reaccionar a temperatura ambiente hasta completar la liberación de gas.

En este momento, se introducen 320 mg de Na₂CO₃ en la solución del polímero en FA; el ácido lipoico activado se añade después, y se deja la solución en agitación a temperatura ambiente. La solución se vuelve amarilla y transparente y permanece fluida.

- 5 Tras el tiempo de reacción de entre 30 minutos y 4 horas, se bloquea la reacción por medio de la adición de 40 ml de H₂O y 14 ml de HCl 0,5 M; el pH final mide 7,05; la solución final, que es ligeramente viscosa, transparente y amarillo pálido, se purifica por medio de diálisis, y el polímero se recupera por medio de secado por congelación.

El análisis de RMN del liofilizado permite la cuantificación de un grado de sustitución en ésteres de lipoato (DSlip) que equivale a 0,28 y ésteres de formiato (DSform) que equivale a 0,05.

Ejemplo 3: Preparación de una loción de agua-alcohol de refuerzo/fortificante a la concentración de un 0,2 %

Éster de formiato/lipoato de HA (ejemplo 1)	0,20
Agua	75,04
Alcohol desnaturalizado	20,0
Etoxidiglicol	1,2
Extracto de <i>picea abies</i> , pentilen glicol	1,0
Extracto de <i>swertia japónica</i> , butilen glicol, agua	0,60
Inositol	0,50
Betaína	0,50
PPG-26-butet-26, aceite de ricino hidrogenado de PEG-40, agua	0,30
Diacetato de glutamato de tetrasodio, agua	0,30
Perfume	0,15
Cafeína	0,10
Ácido láctico, agua	0,10
Ácido norhidroguaiarético	0,01

10

Ejemplo 4: Preparación de una loción de agua-alcohol de refuerzo/fortificante a la concentración de un 0,5 %

Éster de formiato/lipoato de HA (ejemplo 1)	0,50
Agua	74,74
Alcohol desnaturalizado	20,0
Etoxidiglicol	1,2
Extracto de <i>picea abies</i> , pentilen glicol	1,0
Extracto de <i>swertia japónica</i> , butilen glicol, agua	0,60
Inositol	0,50
Betaína	0,50
PPG-26-butet-26, aceite de ricino hidrogenado de PEG-40, agua	0,30
Diacetato de glutamato de tetrasodio, agua	0,30
Perfume	0,15
Cafeína	0,10
Ácido láctico, agua	0,10
Ácido norhidroguaiarético	0,01

Ejemplo 5: Preparación de una loción de agua-alcohol de refuerzo/fortificante y suavizante basada en un 0,2 % de lipoato de HA y cinc

Éster de formiato/lipoato de HA (ejemplo 1)	0,20
Agua	75,02
Alcohol desnaturalizado	20,0
Etoxidiglicol	1,2
Extracto de <i>picea abies</i> , pentilen glicol	1,0
Extracto de <i>swertia japónica</i> , butilen glicol, agua	0,60
Inositol	0,50
Betaina	0,50
PPG-26-butet-26, aceite de ricino hidrogenado de PEG-40, agua	0,30
Diacetato de glutamato de tetrasodio, agua	0,30
Perfume	0,15
Cafeína	0,10
Ácido láctico, agua	0,10
Ácido norhidroguaiarético	0,01
Cloruro de cinc	0,02

5 **Ejemplo 6: Preparación de una loción de agua-alcohol de refuerzo/fortificante y antiséptica basada en un 0,2 % de lipoato de sulfato de condroitina y plata**

Éster de formiato/lipoato de CS (ejemplo 2)	0,20
Agua	75,02
Alcohol desnaturalizado	20,0
Etoxidiglicol	1,2
Extracto de <i>picea abies</i> , pentilen glicol	1,0
Extracto de <i>swertia japónica</i> , butilen glicol, agua	0,60
Inositol	0,50
Betaina	0,50
PPG-26-butet-26, aceite de ricino hidrogenado de PEG-40, agua	0,30
Diacetato de glutamato de tetrasodio, agua	0,30
Perfume	0,15
Cafeína	0,10
Ácido láctico, agua	0,10
Ácido norhidroguaiarético	0,01
Nitrato de plata	0,02

Ejemplo 7: Preparación de una crema O/W

A continuación, se describe la preparación de una formulación en forma de crema que contiene uno de los ésteres de ácido lipoico de acuerdo con la invención.

10 La formulación en crema O/W contiene, como agente funcional, el compuesto descrito en el ejemplo 1 en la concentración de un 0,1 %, se mezcla de forma apropiada con excipientes apropiados usados en cosmética cutánea, tal como emulsionantes, espesantes, aceites, humectantes, agentes de formación de gel, conservantes, etc.

15 Brevemente, el procedimiento es como se muestra a continuación: se introducen aproximadamente 600 ml de agua desmineralizada (que corresponde a aproximadamente un 60 % en peso de la formulación total) en un turboemulsionante, y se añade la fase grasa pre-fundida bajo agitación a aproximadamente 70 °C. La mezcla se emulsiona, y se enfría lentamente hasta la temperatura de 35-40 °C. Se añaden los constituyentes termolábiles y volátiles a esta temperatura, seguido de éster lipoico de sal de sodio HA descrito en el ejemplo 1, disuelto en una

cantidad de agua apropiada. La mezcla se deja bajo agitación lenta hasta alcanzar la temperatura de 25-30 °C, y después se descarga el producto terminado en un recipiente apropiado.

El resultado es una crema con la siguiente composición (% en peso/peso):

Éster lipoico de sodio HA (Ejemplo 1)	0,1
Aceites (triglicéridos-glicéridos palmítico/caprílico)	12,0
Emulsionantes no iónicos	6,0
Alcohol cetílico	2,0
Dimeticona	4,0
Silicato de MgAl	2,0
Glicerina	3,0
Xilitol	2,0
Parabeno	0,7
Agua en cantidad suficiente hasta	100

5 **Ejemplo 8: Preparación de un mousse**

La formulación contiene, como agente funcional, el compuesto descrito en el ejemplo 1 en la concentración de un 0,1 %, mezclado de manera apropiada con excipientes comunes usados en cosmética cutánea, tales como emulsionantes, espesantes, aceites, agentes humectantes, agentes de formación de gel, conservantes, etc.

El resultado es una crema con la siguiente composición (% en peso/peso):

Éster lipoico de sodio HA (Ejemplo 1)	0,1
Pantenol	0,3
Niacinamida	0,15
Cloruro de cetrimonio	5,0
Polisorbato 80	1,6
Acetato de tocoferilo	0,02
Perfume	0,2
PG-propil metilsilanodiol de seda hidrolizado	3,0
Fenoxietanol, glicol caprílico	1,5
Alcohol 2,4-diclorobencílico	0,15
Agua en cantidad suficiente hasta	100,0

10

Ejemplo 9: Preparación de una mascarilla

La formulación de crema de O/W contiene, como agente funcional, el compuesto descrito en el ejemplo 1 en la concentración de un 0,05 %, mezclado de manera apropiada con excipientes comunes usados en cosmética cutánea, tales como emulsionantes, espesantes, aceites, agentes humectantes, agentes de formación de gel, conservantes, etc.

15

El resultado es una crema con la siguiente composición (% en peso/peso):

Éster lipoico de sodio HA (Ejemplo 1)	0,05
Pantenol	0,5
Cloruro de hidroxipropiltrimonio guar	0,05
Agua, cloruro de cetrimonio	6,0
Alcohol cetearílico, cetearil glucósido	4,0
Palmitato de glicol	2,0

(continuación)

Isononanoato de isononilo	3,5
Dimeticona	1,5
Bisabolol	0,1
Acetato de tocoferilo	0,2
Fenoxietanol, caprilil glicol	1,5
Perfume	0,5
Ciclopentasiloxano	1,5
Agua, PG-propil metilsilanodiol de seda hidrolizado	1,0
Alcohol 2,4-diclorobencílico	0,15
Agua en cantidad suficiente hasta	100,0

Ejemplo 10: Preparación de un champú

5 Una formulación en forma de champú que contiene, como agente funcional, el compuesto descrito en el ejemplo 1 en la concentración de un 0,2 %, tiene la siguiente composición (% en peso/peso):

Éster lipoico de sodio HA (Ejemplo 1)	0,2
Pantenol	0,05
EDTA de disodio	0,15
Extracto de flores de <i>Lonicera caprifolium</i>	0,5
Extracto de flores de <i>Lonicera japónica</i> , agua	3,0
Glicerina	0,4
Sorbitol, agua	0,5
Betaína	1,0
Xilitilglucósido, anhidroxilitol, xilitol	10,0
Cocoil glutamato de disodio, agua	5,0
Decil glucósido, agua	3,0
Amino ácidos de manzana de cocoil sodio, agua	10,0
Cocoamidopropil betaína, agua	1,0
Cloruro y fosfato de cocoamidopropil PG-dimonio	4,0
Trioleato de PEG-120 metil glucosa, propilen glicol, agua	0,7
Trioleato de PEG/PPG-120/10 trimetilolpropano, lauret-2	1,0
Polisorbato 20	0,5
Perfume	5,0
Agua en cantidad suficiente hasta	100,0

Ejemplo 11: Ensayos tricológicos in vitro

10 Se puede demostrar la interacción polímero-cabello midiendo ciertos parámetros químico-físicos sobre tallos de cabello tratados con lociones basadas en HA lipoico como se describe en los ejemplos 3 y 4. Los ensayos más significativos en este sentido son la evaluación de brillo, retención del rizo y persistencia en la hidratación sobre el cabello cortado.

15 Se usaron trenzas de "Pelo Virgen Italiano" que consistieron en cabello marrón oscuro liso de 16 cm de largo (LoCurcio – Manifattura Italiana Capelli, Palermo, Italia) en el ensayo cuantitativo. Las trenzas se dividieron en mechones de ensayo que pesaban aproximadamente 2-3 g, pesados de forma precisa hasta dos cifras decimales, y mantenidos con algodón elástico. Los mechones de pelo después experimentan un lavado convencional con un champú básico [Sustancia Activa de Lavado (SAL) = 15 %] y se secaron con un secador de pelo convencional (2000 vatios, a una velocidad máxima y un nivel de calor de corriente de aire), para alisar la superficie.

En cada ensayo, se trataron tres mechones de pelo con la loción que contenía un 0,2 % de ingrediente activo (P02), tres con la loción de 0,5 % (P05) y tres con la solución de excipientes solos, sin el polímero funcional (00);

finalmente, se trataron tres mechones más con agua sola (STD).

Retención de rizo:

5 El procedimiento para la preparación de los mechones de pelo implica el lavado convencional, aclarado, tratamiento con la loción de ensayo, rizado y secado con un secador de pelo. Los mechones se colocan después bajo tensión y se mide el estiramiento de los rizos tras un tiempo pre-establecido, indicando la combinación de deformación plástica y retorno elástico de los mechones de pelo.

10 La Figura 6 muestra el estiramiento mínimo en mm y la variación media en porcentaje en la eliminación de rizo de los mechones tratados (P05, P02, P00) en 24 horas, en comparación con el peso no tratado (STD). Las diferencias en los efectos de las muestras tratadas con las lociones y las tratadas con el placebo fueron estadísticamente significativas.

El tratamiento capilar con la loción P05 mejora la elasticidad del cabello y contribuye a mantener la onda de rizado o cabello ondulado, proporcionando de este modo un aumento de la persistencia de la forma del cabello.

15 Por el contrario, un contenido de polímero más bajo, de aproximadamente un 0,2 %, se especifica para lociones con un efecto suavizante, ya que conducen a una reducción estadísticamente significativa de la resistencia del rizo en comparación con los mechones de pelo que experimentan el mismo procedimiento de tratamiento, pero sin ingredientes activos.

Brillo:

Se midió el brillo por medio de procedimiento colorimétrico, basándose en la determinación del poder reflejante de la luz sobre un mechón de pelo.

20 El sistema de medición usado para la lectura fue el sistema L* a* b* (espacio de color CIELAB), en el que:

L* corresponde al brillo del color. Los valores de L* se expresan en una escala de 0 a 100, en la que 0 corresponde al color negro y 100 al blanco.

a* y b* indican los dos ejes de color, en los que a* representa el eje rojo y b* el eje amarillo-azul.

25 Este estudio consideró el parámetro L* como el índice de brillo de la muestra, concretamente su poder reflejante de la luz.

La Figura 7 muestra los valores de L* medidos sobre mechones de pelo antes y después del tratamiento.

30 El tratamiento capilar con una loción que contiene entre un 0,2 % y un 0,5 % de lipoato de HA aumenta el valor de brillo L* tras una aplicación individual, en aproximadamente un +2,2-2,4 % en comparación con los valores iniciales, y aproximadamente un + 4,7-4,5 % en comparación con la loción de placebo. Las diferencias en cuanto a efectos sobre las muestras tratadas con las lociones en comparación con el placebo fueron estadísticamente significativas.

Humectación

El procedimiento de medición fue gravimétrico, basado en la capacidad de los mechones de pelo para retener un nivel concreto de hidratación bajo condiciones pre-establecidas de temperatura y humedad.

35 La Figura 8 muestra los valores medios de pérdida de agua por gramo de cabello en 24 horas (D1 – D24) para los grupos de mechones tratados de forma diversa: P05, P02, P00, STD.

El tratamiento con lociones que contienen lipoato de HA induce la liberación de agua a una velocidad constante en las primeras cuatro horas, independientemente de la concentración del ingrediente activo, con un patrón regular comparado con la loción de placebo y la convencional. Las diferencias en cuanto a efectos entre las muestras tratadas con las lociones y el placebo fueron estadísticamente significativas.

40 En cualquier caso, la adición del polímero contribuye a mantener la dinámica del equilibrio de agua del cabello, hasta el grado máximo del caso de P05.

Ejemplo 12: Ensayos tricológicos in vivo

Evaluación del efecto sensorial

45 Para evaluar la eficacia y la tolerancia de la loción de cabello que contiene lipoato de HA de 0,2 %, como se ha descrito en el ejemplo 3, 40 voluntarios usaron el producto una vez al día durante dos semanas, aplicándolo en cualquier cantidad al cabello seco. Al final del período de uso, expresaron sus opiniones subjetivas en un cuestionario. El investigador pesó las botellas al comienzo y al final del ensayo para determinar la cantidad media de producto usada por los voluntarios.

A partir de las respuestas obtenidas a través del cuestionario, se realizaron las siguientes observaciones:

- Un 85 % de los voluntarios consideró el tratamiento bastante o muy eficaz en cuanto a dejar el cabello menos seco;
- Un 82,5 % de los sujetos consideró el tratamiento bastante o muy eficaz en cuanto a dejar el cabello suave;
- 5 Un 75 % de los voluntarios consideró el tratamiento bastante o muy eficaz en cuanto a dejar el cabello brillante;
- Un 67,5 % de los voluntarios consideró el tratamiento bastante o muy eficaz en cuanto a dejar el cabello menos frágil;
- Un 52,5 % de los voluntarios consideró el tratamiento bastante o muy eficaz en cuanto a evitar y tratar las puntas abiertas;
- 10 Los voluntarios usaron 28,32 g del producto de media, con una desviación típica de 13,6 g.

En general, las opiniones expresadas se atribuyeron a una acción nutritiva a la loción, concretamente la sensación de pelo sano, robusto y fuerte.

Evaluación de la acción de refuerzo/fortificante

- 15 Se escogieron 20 sujetos (10 mujeres y 10 hombres) que padecían efluvio de telógeno moderado y alopecia andrógena (Ludwig etapa I, Hamilton etapa II) para la evaluación de la eficacia. Los voluntarios aplicaron 2,5 ml de loción que contenía lipoato de HA en 0,2 %, como se describe en el ejemplo 3, al cuero cabelludo, una vez al día durante 2 meses.

Se realizaron las evaluaciones de resistencia frente a la tracción (ensayo de tracción) y un recuento de los cabellos perdidos durante el lavado (ensayo de lavado) al comienzo y al final del período de tratamiento.

20 Resistencia frente a la tracción (ensayo de tracción)

Se evaluó la resistencia frente a la tracción del cabello sobre la base del número total de cabellos erradicados en tres puntos (áreas temporal, frontal y occipital) de la siguiente escala de cuatro puntos semi-cuantitativa:

- 0 = > 6 cabellos erradicados en total en los tres puntos
- 1 = de 4 a 6 cabellos erradicados en total en los tres puntos
- 25 2 = de 1 a 3 cabellos erradicados en total en los tres puntos
- 3 = 0 cabellos erradicados en los tres puntos.

Al final del tratamiento hubo un aumento estadísticamente significativo de la resistencia frente a la tracción del cabello. Los valores medios de las puntuaciones se explican en la siguiente tabla:

T ₀	T _{2meses}	Variación T _{2 meses} -T ₀	Ensayo de Wilcoxon
Media 1,2 Desv. Típica 0,7	Media 1,7 Desv. Típica 0,7	0,5 (41,7 %)	P = 0,01

30 Inhibición de la caída de cabello (ensayo de lavado)

Al final del tratamiento, la variación media del recuento de cabello fue de un -50,0 % en comparación con el tiempo cero, y se demostró altamente significativa en el análisis estadístico (p < 0,001).

- 35 Los voluntarios presentaron valores de línea base distribuidos en un intervalo amplio (de 34 a 190 cabellos perdidos durante el lavado), y por consiguiente representan un estudio de caso heterogéneo. La Figura 9 muestra el recuento de caída del cabello antes y después del tratamiento para cada sujeto. Todos los sujetos apreciaron una reducción de la caída del cabello, y la eficacia del producto fue la más marcada en los casos en los que la situación de partida fue la más grave.

REIVINDICACIONES

1. Uso de ésteres de ácido hialurónico en el que los grupos alcohol están parcialmente esterificados con ácido lipoico o con ácido lipoico y ácido fórmico, en tratamientos para el cuidado capilar.
- 5 2. Uso de ésteres de ácido hialurónico de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la función carboxilo del polisacárido está presente en forma ácida o salificada con metales alcalinos, en particular sodio, y la función sulfato, cuando está presente, está salificada con metales alcalinos, en particular sodio.
3. Uso de ésteres de ácido hialurónico de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el peso molecular de los ésteres varía de 10^3 a 10^7 dalton.
- 10 4. Uso de ésteres de ácido hialurónico de acuerdo con la reivindicación 3, en el que el peso molecular varía de 10^4 a 10^6 dalton.
5. Uso de ésteres de ácido hialurónico de acuerdo con las reivindicaciones 1-4, en el que el grado de esterificación de ácido lipoico en los hidroxilos poliméricos varía de 0,01 a $1 \cdot N$, en el que N es el número de grupos alcohol libre presentes en la unidad de repetición, mientras que el grado de esterificación de ácido fórmico en los hidroxilos poliméricos varía de 0 a 0,20.
- 15 6. Uso de ésteres de ácido hialurónico de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el grado de esterificación de ácido lipoico en los hidroxilos poliméricos varía de 0,01 a $0,2 \cdot N$, en el que N es el número de grupos alcohol libre presentes en la unidad de repetición, mientras que el grado de esterificación de ácido fórmico en los hidroxilos poliméricos varía de 0 a 0,20.
- 20 7. Composiciones tópicas para el cuidado capilar que comprenden ésteres de ácido hialurónico en el que los grupos alcohol están parcialmente esterificados con ácido lipoico o con ácido lipoico y ácido fórmico, que también contienen una sal de cinc y/o una sal de plata en una relación molar de entre 0,1 y 10 de metal del contenido de ácido lipoico.
8. Un procedimiento cosmético para regenerar el cabello, reforzar el cabello o para evitar la caída del cabello que comprende la aplicación tópica de ésteres de ácido hialurónico cuyos grupos alcohol están parcialmente esterificados con ácido lipoico o con ácido lipoico y ácido fórmico.

25

FIGURA 1

Fotoexposición UV de una solución de 1,5 % en peso/peso de lipoato de HA y una mezcla de HA + NA + lipoato en las mismas concentraciones

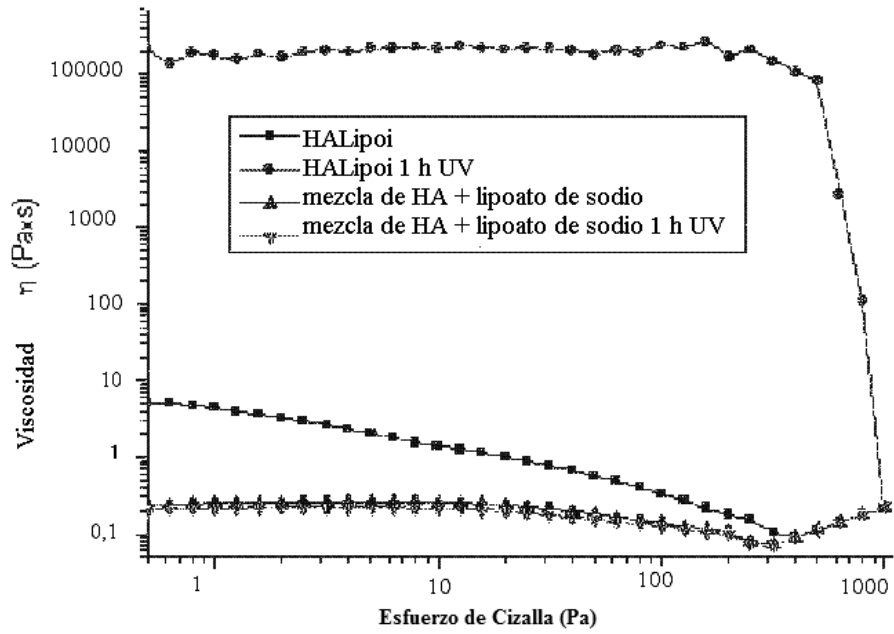


FIGURA 2

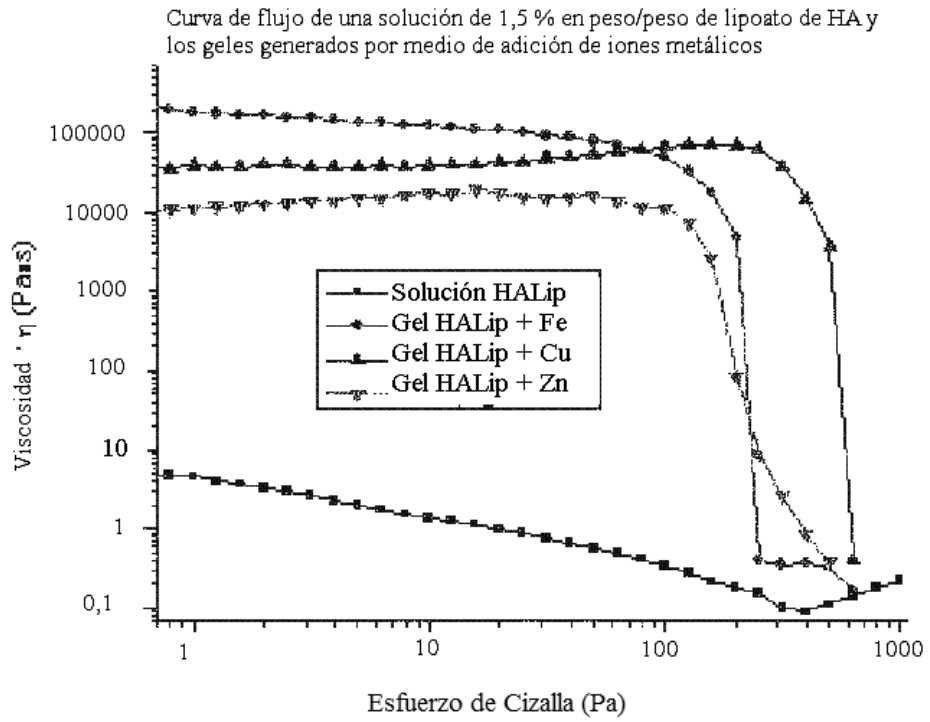


FIGURA 3

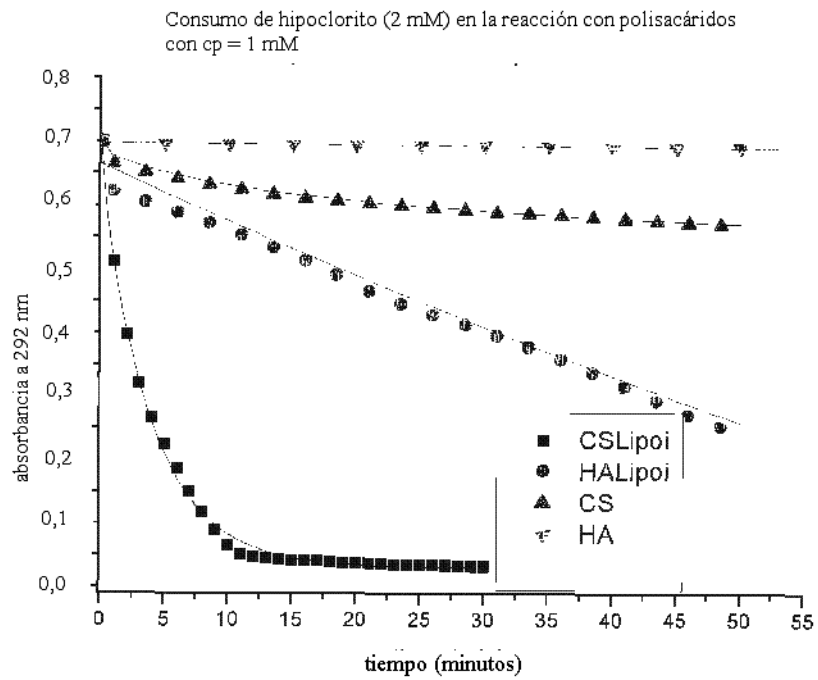
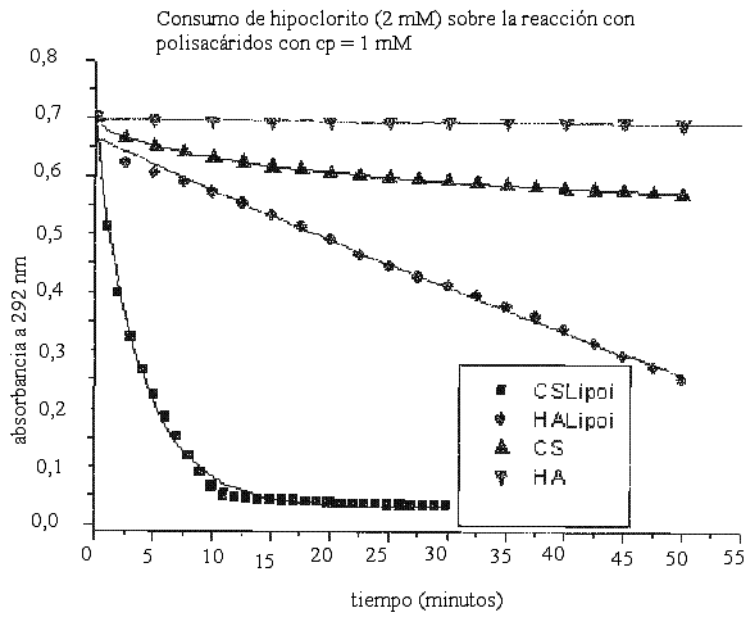


FIGURA 4

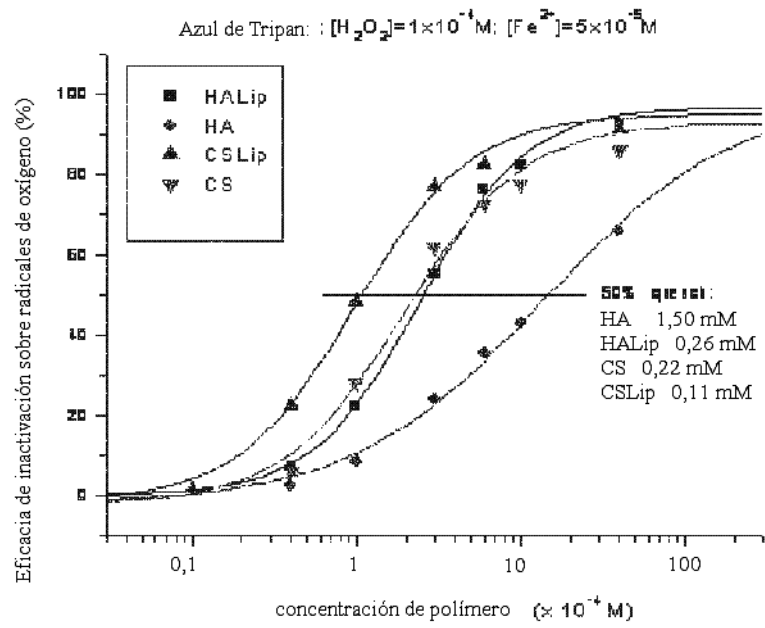


FIGURA 5

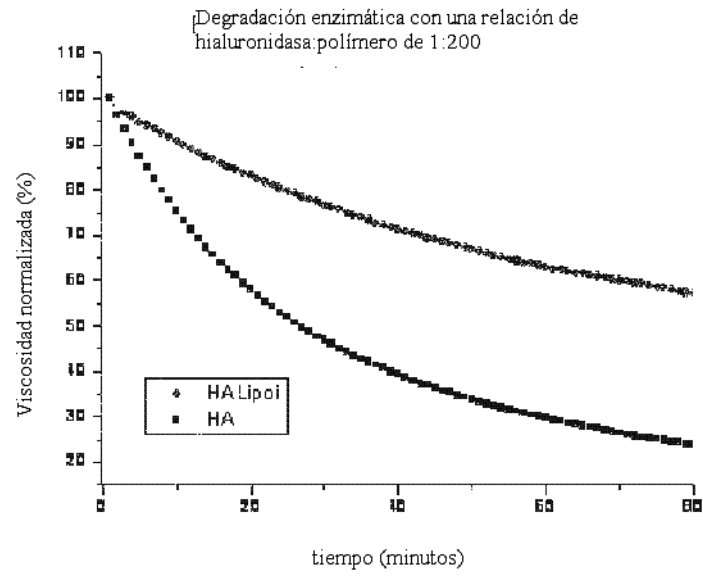


FIGURA 6

Ensayo de retención de rizo

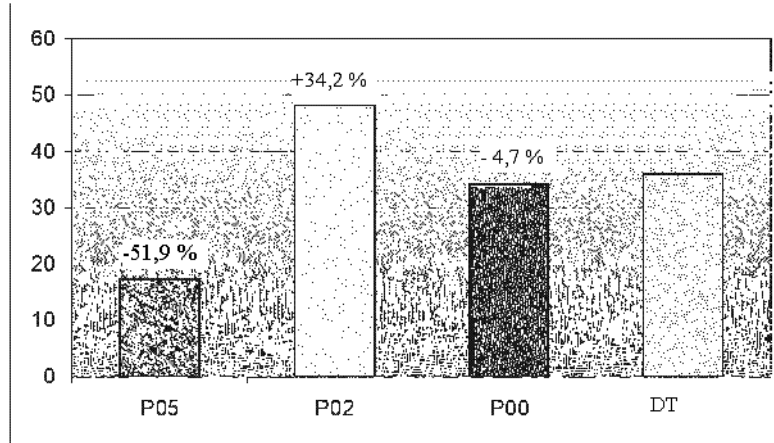


FIGURA 7

Ensayo de brillo

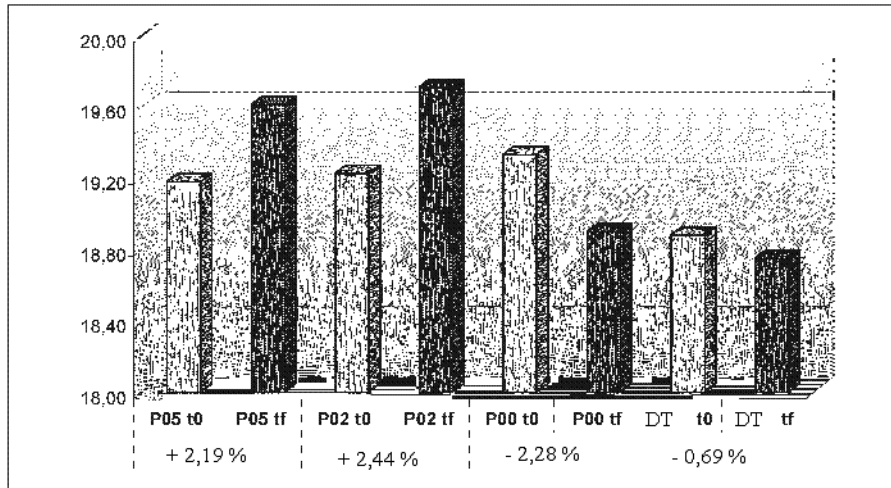


FIGURA 8

Ensayo de humectación

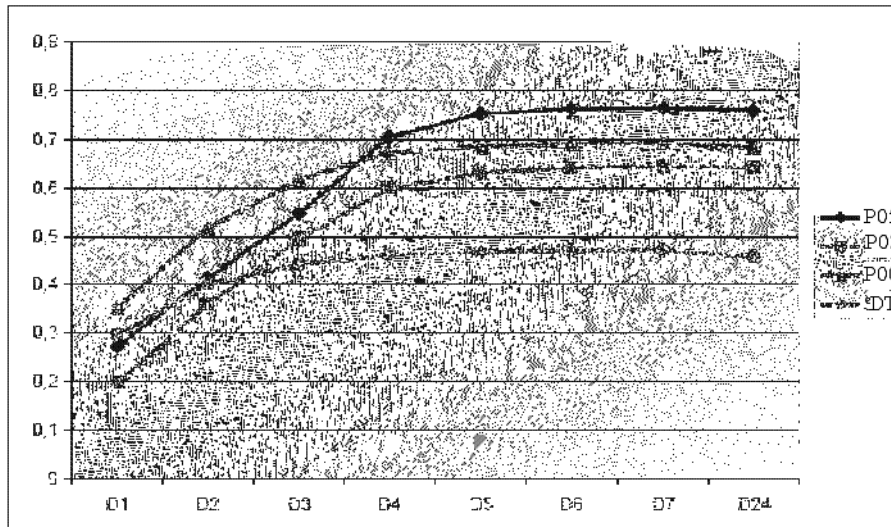


FIGURA 9

Ensayo de lavado con tratamiento de 2 meses con loción HALipoi de 0,2 % básica

