

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 607 780**

51 Int. Cl.:

A61K 8/44 (2006.01)

A61K 8/88 (2006.01)

A61K 8/04 (2006.01)

A61Q 19/00 (2006.01)

A61Q 19/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.01.2005** **E 05250114 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.11.2016** **EP 1690525**

54 Título: **Hidrogeles de gamma-poliglutamato para su uso como superhumectantes en productos de cosmética y cuidado personal**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
04.04.2017

73 Titular/es:

**TUNG HAI BIOTECHNOLOGY CORPORATION
(100.0%)
NO. 18-3, DATUNG STREET, SHALU CHEN
TAICHUNG HSIEN, TW**

72 Inventor/es:

**HO, GUAN-HUEI;
YANG, JENG y
YANG, TOU-HSIUNG**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 607 780 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

Hidrogeles de gamma-poliglutamato para su uso como superhumectantes en productos de cosmética y cuidado personal

5

Campo técnico de la invención

La presente invención se refiere al uso de hidrogeles de γ -poliglutamato reticulado (preparado a partir de γ -poliglutamato en forma de Na^+ , γ -poliglutamato en forma de K^+ , γ -poliglutamato en forma de NH_4^+ , γ -poliglutamato en forma de Mg^{++} y/o γ -poliglutamato en forma de Ca^{++}) en productos de cosmética y cuidado personal para proporcionar funcionalidades deseadas incluyendo una alta humectación y retención de agua, una mejora de la humectabilidad y una baja PATE (pérdida de agua transepidérmica), un tacto suave y tierno, alisado y sequedad, una eficacia de larga duración, una potenciación de la elasticidad de la piel, una buena biocompatibilidad y una potenciación del estado de salud de la piel.

15

Antecedentes técnicos y técnica anterior

La humectación y la nutrición adecuadas son vitales para la salud y la belleza de la piel y el cabello humanos. La excesiva sequedad provocada por una baja humedad es con frecuencia perjudicial para las enfermedades de la piel y del cabello. En invierno, la baja temperatura y el aire seco provocan especialmente la sequedad de la piel y el cabello, el deterioro del estado de salud de la piel e incluso el endurecimiento o el daño de la epidermis y la electrización del cabello. Para evitar la sequedad de la piel, el cabello y las uñas, los productos cosméticos tales como la esencia para la piel, las lociones para las manos y el cuerpo, los jabones de baño, las cremas para la piel y el cuerpo, los geles para el cabello, los champús y las espumas para el cabello y muchos otros productos para el cuidado personal con frecuencia contienen ciertos humectantes para proporcionar las condiciones de humectación necesarias para la piel y el cabello y también para proteger y embellecer la piel y el cabello.

25

Existen muchos tipos de humectantes orgánicos que se utilizan en una diversidad de productos cosméticos y de tocador en el mercado. Pero la capacidad de absorción de agua, los requerimientos de seguridad de los humectantes y los problemas de estabilidad a largo plazo limitan en gran medida los tipos de humectantes utilizados en aplicaciones prácticas. Un buen humectante debe poseer una alta capacidad de retención de agua y también debe ser capaz de disminuir la pérdida de agua de la piel y el cabello por evaporación. Los humectantes tradicionales que se utilizan en la industria cosmética incluyen la glicerina, el di-glicerol, el sorbitol, el lactato de sodio, el propilenglicol y los aminoácidos. Entre ellos, el lactato de sodio tiene una mejor capacidad de retención de agua, pero es difícil de emulsionar en la formulación de los productos finales, por tanto, solo se encuentra en aplicaciones limitadas y su nivel de uso es bajo. Los polioles tienen un mejor efecto humectante pero tienen poca eficacia en los productos cosméticos. El ácido hialurónico, el colágeno y el escualano poseen una buena capacidad de retención de agua, pero son menos eficaces en la reducción de la evaporación del agua de la superficie de la piel y se vuelven pegajosas en la superficie de la piel. Aparte de los humectantes mencionados anteriormente, también se está utilizando la elastina, la glucosamina, el ácido aspártico (véase el documento JP 61-033107), la placenta, la condroitina, el extracto de aloe vera y los ésteres de aminoácidos (véase el documento JP 10-251402) como ingredientes humectantes en las formulaciones de cosmética y cuidado personal. La búsqueda de humectantes mejores y mejorados continúa en todo el mundo.

40

Los polioles tales como el 1,3-butilglicol, el etilenglicol, el propilenglicol y el polietilenglicol poseen cierta capacidad de humectación reconocida, inhiben el crecimiento de algunos microbios, mejoran la miscibilidad y la viscosidad y proporcionan cierta estabilidad a los otros ingredientes utilizados en los productos cosméticos y de cuidado personal, incluyendo la esencia tónica, la crema para la piel, la loción para la piel y corporal, el gel, el champú para el cabello, los acondicionadores, los tratamientos antisequedad, el tónico para el cabello, las cremas para el baño y humectantes, etc. A pesar de los beneficios de los polioles, los productos cosméticos para el cuidado de la piel y el cuidado del cabello que contienen los polioles mencionados anteriormente siempre dejan un tacto no tan bueno en la piel, o un tacto ligeramente seco en el cabello, y hacen que el consumidor sienta que los resultados no son mejores que los de los productos cosméticos que no contienen ningún poliol. Con más frecuencia, esos cosméticos de aclarado y limpieza tales como las lociones para la piel, las cremas para la cara y la fijación del cabello, siempre dejan polioles residuales en el cabello o en la piel y hacen que el usuario a veces se sienta mal, disminuyendo su deseo de seguir utilizándolos.

55

El ácido hialurónico (AH) tiene una absorción de agua y una capacidad de retención relativamente buenas. El AH es un biopolímero natural, atóxico y completamente biocompatible con el cuerpo humano y se usa en la mayoría de los productos cosméticos de alta calidad por su eficacia en la prevención de la sequedad de la piel y el cabello. La desventaja del uso del ácido hialurónico es su alto precio y su disponibilidad limitada. A pesar de su excelente funcionalidad de humectación en la protección de la piel desde una condición de excesiva sequedad, el precio extremadamente alto del AH dará como resultado un mayor coste en la formulación cosmética de los productos finales. El reciente susto debido a la proteína priónica del virus de la EEB y la propagación de la gripe aviar asiática han desencadenado gran preocupación acerca de la seguridad del AH. Aunque el escualano tiene la ventaja de humectar la superficie cutánea al evitar que el agua se evapore de la superficie de la piel, su naturaleza aceitosa

65

hace que el usuario se sienta la piel grasa. Los colágenos comerciales se extraen de fuentes animales, lo que implica un alto riesgo de contaminación por la proteína priónica de la EEB y la posibilidad de infección con el virus de la gripe aviar de amplia propagación o impurezas.

- 5 El documento WO 2004007593 se refiere a un poli- γ -glutamato (APG) que tiene un peso molecular ultra alto mayor de 5000 kDa que tiene propiedades de absorción de la humedad, de retención de la humedad, de liberación sostenida, de solubilidad mineral y de absorción de agua. El documento WO 2004080433 proporciona una composición para el tratamiento del cabello que contiene ácido γ -poliglutámico o su sal, un cosmético capilar para el
- 10 cabello dañado que contiene los mismos y el uso de los mismos. El documento WO-A-2004039339 desvela un cosmético que contiene un compuesto de ácido poli- γ -glutámico reticulado y/o una sal de ácido poli- γ -glutámico reticulado que tiene un tamaño de partícula de 0-1 a 100 μ m y un tamaño de partícula promedio de 1 a 50 μ m. El documento JP2003-146830 proporciona un cosmético que comprende un cuerpo reticulado por radiación de un poliaminoácido o una sal de poliaminoácido. El documento JP2004-210699 proporciona una composición cosmética que contiene un ácido γ -poliglutámico que tiene un alto efecto espesante y un efecto humectante y que tiene
- 15 adicionalmente un peso molecular promedio mayor de 2.000.000 o una sal del mismo, especialmente el ácido γ -poliglutámico que tiene más de 3.000.000 de peso molecular promedio o una sal del mismo. En una nota diferente, el documento JP 11 343339 A describe resinas biodegradables fabricadas a partir de ácido poli- γ -glutámico y etilenglicol-diglicidil-éter.

20 **Contenido de la invención**

- En la presente invención, el uso de ciertos hidrogeles de γ -poliglutamato reticulados preparados a partir de γ -poliglutamato en forma de Na^+ , γ -poliglutamato en forma de K^+ , γ -poliglutamato en forma de NH_4^+ , γ -poliglutamato en forma de Mg^{++} , γ -poliglutamato en forma de Ca^{++} , o una mezcla de dos o más de los mismos, como humectante,
- 25 que tiene un excelente efecto humectante sobre la piel y el cabello a un coste razonable, añade valores saludables a los productos cosméticos y de cuidado personal.

Descripción de los dibujos

- 30 La Figura 1 muestra la estructura química del ácido γ -poliglutámico (γ -APG, forma H) (A), γ -poliglutamato en forma de K^+ , γ -poliglutamato en forma de Na^+ y γ -poliglutamato en forma de NH_4^+ (B) y γ -poliglutamato en forma de Ca^{++} y γ -poliglutamato en forma de Mg^{++} (C). $\text{M(I)} = \text{K}^+, \text{Na}^+ \text{ o } \text{NH}_4^+$ $\text{M(II)} = \text{Ca}^{++} \text{ o } \text{Mg}^{++}$.
- 35 La Figura 2 muestra espectros de RMN- ^1H a 400 MHz de γ -poliglutamato en forma de Na^+ (A), γ -poliglutamato en forma de K^+ (B) y γ -poliglutamato en forma de NH_4^+ (C) en D_2O a pH neutro y temperatura de 30 °C. El desplazamiento químico se midió en unidades de ppm a partir del patrón interno. X indica un pico de impureza.
- La Figura 3 muestra espectros de RMN- ^{13}C de γ -poliglutamato en forma de K^+ (A), γ -poliglutamato en forma de Na^+ (B), γ -poliglutamato en forma de Ca^{++} (C) y γ -poliglutamato en forma de Mg^{++} (D) en D_2O a pH neutro y
- 40 temperatura de 30 °C. El desplazamiento químico se midió en unidades de ppm a partir del patrón interno.
- La Figura 4 muestra espectros de absorción de infrarrojos (TF-IR) de γ -poliglutamato en forma de Ca^{++} (C) y γ -poliglutamato en forma de Mg^{++} (D) en aglomerado de KBr.

45 **Descripción detallada de la invención**

- Los inventores, después de una investigación exhaustiva, han conseguido un humectante excelente mediante el uso de biopolímeros preparados a partir de sales de ácido γ -poliglutámico (γ -APG, forma H), es decir, γ -poliglutamato en forma de Na^+ , γ -poliglutamato en forma de K^+ , γ -poliglutamato en forma de NH_4^+ , γ -poliglutamato en forma de Ca^{++} y
- 50 γ -poliglutamato en forma de Mg^{++} , que son todos naturales, biodegradables, atóxicos y completamente biocompatibles. Las estructuras químicas típicas del ácido γ -poliglutámico (γ -APG, forma H) y sus sales se muestran en la Figura 1 y los RMN- ^1H , RMN- ^{13}C y TF-IR típicos se muestran en las figuras 2, 3 y 4, respectivamente. La Tabla 1 muestra los datos resumidos de los desplazamientos químicos de picos de absorción de RMN- ^1H , RMN- ^{13}C y TF-IR y el análisis térmico. Los productos que contienen los biopolímeros anteriores poseen una excelente capacidad
- 55 de absorción de agua y una buena retención de agua de larga duración, forman una película fina, lisa, tierna y suave, con una estructura matricial para la función de liberación controlada para el agua y otros nutrientes del agua, mejoran la elasticidad de la piel, reducen la arrugas mediante la actividad antirradicalaria en el proceso de envejecimiento, embellecen y mejoran el estado de salud de la piel mediante el aumento de los factores humectantes naturales (FHN) (véase el documento JP 2002-145723) en el estrato córneo y reducen la pérdida de
- 60 agua transepidérmica (PATE) desde la epidermis.

Tabla 1

ARTÍCULO	H	Na ⁺	K ⁺	NH ₄ ⁺	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺
a. RMN- ¹ H (400 MHz, D ₂ O, 30 °C) Desplazamiento químico en ppm: α CH β CH ₂ γ CH ₂		3,98 1,98, 1,80 2,19	4,00 1,99, 1,80 2,19	3,68 1,68, 1,48 1,93	4,18 2,16, 1,93 2,38	4,08 2,05, 1,88 2,31
b. RMN- ¹³ C (67,9 MHz, D ₂ O, 30 °C) Desplazamiento químico en ppm: α CH β CH ₂ γ CH ₂ CO COO-		56,43 31,61 34,01 182,21 182,69	62,21 35,16 39,74 182,11 185,46		62,21 36,17 39,68 182,16 185,82	62,10 35,11 39,60 182,12 185,16
a. Absorción por TF-IR (KBr), cm ⁻¹ C=O, tensión Amida I, flexión N-H Amida II, tensión C=O, tensión simétrica C-N, tensión N-H, tensión de bucle O-H, tensión	1739 1454 1162 698 3449	1643 1585 1402 1131 707 3436		1643 1395 1139 685 3443	1622 1412 1116 669 3415	1654 1411 1089 616 3402
b. Termoanálisis: Agua hidratada Temperatura de deshidratación, °C T _m , °C T _d , °C	0 206 209,8	10 % 109 160 340	42 % 139 193,238 341	 110 219 223	20 % 110 335,7	40 % 122 160 331,8

El ácido γ-glutámico y sus sales poseen excelentes propiedades de unión de agua y de capacidad de retención de humedad y sus funcionalidades bioquímicas y biológicas están explorándose para aplicaciones en productos cosméticos y de higiene personal. Se ha descubierto recientemente que el ácido γ-poliglutamato y sus sales estimulan el crecimiento de células de fibroblastos y muestran una retención de la humedad de larga duración y buenos resultados de blanqueamiento en aplicaciones de cuidado de la piel. Los objetivos de la presente invención son proporcionar sistemas de formulación humectantes económicos y muy eficaces para su uso en productos cosméticos y de higiene personal que poseen una excelente capacidad humectante, proporcionar un tacto suave liso y tierno y mejorar la salud de la piel.

La presente invención se refiere el uso de un hidrogel de γ-poliglutamato como humectante en un producto cosmético o de cuidado personal, en el que dicho hidrogel de γ-poliglutamato se prepara a partir de γ-poliglutamato en forma de Na⁺, γ-poliglutamato en forma de K⁺, γ-poliglutamato en forma de NH₄⁺, γ-poliglutamato en forma de Mg⁺⁺, γ-poliglutamato en forma de Ca⁺⁺, o una mezcla de dos o más de los mismos reticulados con diglicerol poliglicidil éter, poliglicerol poliglicidil éter, sorbitol poliglicidil éter, sorbitol polioxietilenado poliglicidil éter, polisorbitol poliglicidil éter o una mezcla de dos o más de los mismos, en el que la cantidad de dicho humectante es del 0,005 % en peso al 5 % en peso del producto cosmético o para el cuidado personal.

La presente invención se refiere adicionalmente a un uso como se ha definido en el párrafo anterior, que es el uso de un hidrogel de γ-poliglutamato y ácido γ-poliglutamato (γ-APG, forma H), γ-poliglutamato en forma de Na⁺, γ-poliglutamato en forma de K⁺, γ-poliglutamato en forma de NH₄⁺, γ-poliglutamato en forma de Mg⁺⁺, γ-poliglutamato en forma de Ca⁺⁺ o una mezcla de dos o más de los mismos como humectante en un producto cosmético o de cuidado personal, en el que dicho hidrogel de γ-poliglutamato se prepara a partir de γ-poliglutamato en forma de Na⁺, γ-poliglutamato en forma de K⁺, γ-poliglutamato en forma de NH₄⁺, γ-poliglutamato en forma de Mg⁺⁺, γ-poliglutamato en forma de Ca⁺⁺ o una mezcla de dos o más de los mismos, reticulados con diglicerol poliglicidil éter, poliglicerol poliglicidil éter, sorbitol poliglicidil éter, sorbitol polioxietilenado poliglicidil éter, polisorbitol poliglicidil éter o una mezcla de dos o más de los mismos.

De acuerdo con la presente invención, el ácido γ-poliglutamato (γ-APG, forma H), γ-poliglutamato en forma de Na⁺,

γ -poliglutamato en forma de K^+ , γ -poliglutamato en forma de NH_4^+ , γ -poliglutamato en forma de Ca^{++} , γ -poliglutamato en forma de Mg^{++} pueden tener independientemente un peso molecular bajo que varía de 100.000 a 500.000 o un peso molecular alto que varía de 10^6 a 3×10^6 . El hidrogel de γ -poliglutamato reticulado tiene preferentemente un peso molecular que varía de 15×10^6 a 200×10^6 . El ácido γ -poliglutámico (γ -APG, forma H), γ -poliglutamato en forma de Na^+ , γ -poliglutamato en forma de K^+ , γ -poliglutamato en forma de NH_4^+ , γ -poliglutamato en forma de Ca^{++} y γ -poliglutamato en forma de Mg^{++} utilizados en la presente invención pueden producirse a partir de un proceso de fermentación sumergida usando ácido L-glutámico y glucosa como nutrientes principales, o los extractos de natto los granos de soja fermentados en estado sólido. Además, el hidrogel de γ -poliglutamato reticulado puede producirse a partir de γ -poliglutamato en forma de Na^+ , γ -poliglutamato en forma de K^+ , γ -poliglutamato en forma de NH_4^+ , γ -poliglutamato en forma de Ca^{++} y γ -poliglutamato en forma de Mg^{++} , o una mezcla de dos o más de los mismos reticulados con agentes de reticulación químicos polifuncionales - diglicerol poliglicidil éter, poliglicerol poliglicidil éter, sorbitol poliglicidil éter, sorbitol polioxietilenado poliglicidil éter, polisorbitol poliglicidil éter o una mezcla de dos o más de los mismos.

La cantidad de un humectante es del 0,005 % en peso al 5 % en peso del producto cosmético y para el cuidado personal, preferentemente del 0,08 % en peso al 1 % en peso. Además, el producto de cosmética y cuidado personal comprende, pero no se limita a, un producto de cuidado de las manos, de cuidado de la cara, de cuidado del cuerpo, de cuidado de los pies, de cuidado de la cabeza y de cuidado del cabello, de cuidado de las uñas o de cuidado de la boca.

Métodos experimentales de la invención

Puede producirse gran cantidad de ácido γ -poliglutámico (γ -APG, forma H) y sus sales (es decir, γ -poliglutamato en forma de Na^+ , γ -poliglutamato en forma de K^+ , γ -poliglutamato en forma de NH_4^+ , γ -poliglutamato en forma de Mg^{++} y γ -poliglutamato en forma de Ca^{++}) en un proceso de fermentación sumergida con *Bacillus subtilis*, *Bacillus subtilis* var. natto (véase el documento JP 01-174397) o *Bacillus licheniformis* (véase el documento JP 11-343339) mediante el uso de ácido L-glutámico y glucosa como reserva de alimentación principal. Los medios de cultivo microbiano contienen fuente de carbono, fuente de nitrógeno, minerales inorgánicos y otros nutrientes en una cantidad adecuada. Por lo general, se usa ácido L-glutámico en una concentración que varía del 3 al 12 %, glucosa a una concentración del 5 al 12 %, ácido cítrico en una concentración del 0,2 al 2 % se usan como fuente parcial de carbono; se usan peptona y sulfato de amonio o urea como fuentes de nitrógeno; se usa extracto de levadura como fuente de nutrientes; se usan Mn^{++} , Mg^{++} y NaCl como fuentes de minerales. Con aireación y agitación adecuadas, la temperatura del cultivo se mantiene a 30-40 °C y el pH se mantiene a 6-7,5 mediante el uso de solución de urea o solución de hidróxido de sodio; el tiempo de cultivo normalmente es un periodo de 48 a 84 horas. Se acumulan ácido γ -poliglutámico (γ -APG) y sus sales, (es decir, γ -poliglutamato en forma de Na^+ , γ -poliglutamato en forma de K^+ , γ -poliglutamato en forma de NH_4^+ , γ -poliglutamato en forma de Mg^{++} y γ -poliglutamato en forma de Ca^{++}) extracelularmente.

Normalmente se extraen ácido γ -poliglutámico (γ -APG, forma H) y sus sales del caldo de fermentación mediante una serie de procedimientos incluyendo la ultracentrifugación, o la filtración a presión para separar las células, después añadiendo 3-4 veces de etanol para precipitar el ácido γ -poliglutámico (γ -APG, forma H) y sus sales. Los precipitados se vuelven a disolver en agua y se usa otra porción de etanol para precipitar el ácido γ -poliglutámico (γ -APG, forma H) y sus sales. Las etapas de disolución-precipitación se repiten varias veces con el fin de recuperar el ácido γ -poliglutámico puro (γ -APG, forma H) y sus sales.

Un planteamiento para la preparación de un hidrogel que no es un hidrogel para su uso de acuerdo con la invención, que se incluye en el presente documento solo con fines de referencia, es como se indica a continuación. Normalmente se disuelven ácido γ -poliglutámico (γ -APG, forma H) y sus sales en un disolvente adecuado tal como agua, etanol o metanol y el pH se ajusta a 5,0 a 7,5. Después la solución se transfiere a un recipiente apropiado de vidrio o de plástico permeable a la radiación y se evacúa, y se irradia con rayos gamma o haces de electrones a una dosis de radiación total que varía de 0,5 a 5,0 Mrad (véase los documentos JP 11-343339, JP 2001-354542 y JP 06-322358), dependiendo de la calidad requerida de los hidrogeles. La fuente de irradiación de rayos gamma habitualmente utilizada es el cobalto 60 a una tasa de irradiación de 0,1 a 0,15 Mrad/Hr o un haz de electrones con una capacidad similar. Los hidrogeles formados después se liofilizan para producir ácido γ -poliglutámico seco reticulado (γ -APG, forma H) y sus sales, que poseen una gran capacidad de absorción de agua, son insolubles y forman hidrogeles incoloros, transparentes y biodegradables cuando se hinchan completamente en agua.

Un planteamiento para la preparación de un hidrogel que es para su uso de acuerdo con la invención es como se indica a continuación. Normalmente se disuelven ácido γ -poliglutámico (γ -APG, forma H) y sus sales en un disolvente adecuado tal como agua, etanol o metanol y el pH se ajusta a 5,0 a 7,5. Los múltiples agentes de reticulación químicos funcionales seleccionados adecuadamente, a saber, diglicerol poliglicidil éter, poliglicerol poliglicidil éter, sorbitol poliglicidil éter, sorbitol polioxietilenado poliglicidil éter, polisorbitol poliglicidil éter, o una mezcla de dos o más de los mismos, se añaden a la solución con agitación constante, a una tasa de dosis que varía del 0,1 al 20 % del peso del ácido γ -poliglutámico (γ -APG, forma H) y sus sales, dependiendo del tipo de agentes de reticulación y la calidad requerida de los hidrogeles. La reacción de gelificación se completa normalmente en 1 a 4 horas a una temperatura de reacción de 50 a 120 °C dependiendo del equipo y las condiciones utilizadas. Los

hidrogeles formados después se liofilizan para producir ácido γ -poliglutámico seco reticulado (γ -APG, forma H) y sus sales, hidrogeles de γ -poliglutamato, que poseen una gran capacidad de absorción de agua, son insolubles y forman hidrogeles incoloros, transparentes y biodegradables cuando se hinchan completamente en agua.

- 5 Los hidrogeles reticulados para su uso de acuerdo con la invención producida de este modo con agentes de reticulación químicos polifuncionales poseen una gran absorción de agua y una gran capacidad de retención de agua, forman una película, suave, delicada, lisa y tierna sobre la piel o el cabello y son especialmente adecuados para su uso en productos cosméticos y de cuidado personal para el cuidado de la piel y el cuidado del cabello, incluyendo el cuidado de las manos, el cuidado facial, el cuidado corporal, el cuidado de los pies, el cuidado de la cabeza y el cuidado del cabello, el cuidado de las uñas, el cuidado de la boca. Las cantidades de los hidrogeles reticulados en productos cosméticos y de cuidado personal varían del 0,005 al 5 % en peso en los productos finales, dependiendo de la calidad requerida de los productos.

- 15 Puede producirse ácido γ -poliglutámico (γ -APG) de peso molecular bajo y medio y sus sales, con un peso molecular que varía de 5000 a 900000 mediante hidrólisis ácida controlada, en condiciones de reacción seleccionadas específicas de pH, temperatura, tiempo de reacción y concentración de ácido γ -poliglutámico (γ -APG, forma H). El pH puede ser de pH 1,5 a 5,5 con un acidulante apropiado tal como HCl, H_2SO_4 u otros ácidos orgánicos, la temperatura de hidrólisis puede controlarse en el intervalo de 50 a 110 °C, el tiempo de reacción de 0,5 a 5 horas y la concentración de ácido γ -poliglutámico (γ -APG, forma H) con un peso molecular de 1×10^6 o superior puede ser cualquier concentración (según sea necesario) (véase el documento JP 06-322358, *Characteristic Properties of N-Carboxybutyl Chitosan*. *Carbohydr. Polym.* 11:307-320, 1989, Muzzarelli, R. A. A. et al. y *Appraisal of the Safety of Chemicals in Food, Drugs and Cosmetics*. *Pharmacolo.* 93:377-392, 1948, Draize, F. et al.). Después de que la reacción se completara, son necesarios la purificación adicional con diálisis o filtración de membrana y el secado para producir ácido γ -poliglutámico (γ -APG, forma H) de bajo y medio peso molecular de alta pureza y sus sales, de elección. La tasa de hidrólisis ácida es más rápida a menor pH, mayor temperatura y mayor concentración de ácido γ -poliglutámico (γ -APG). Las sales de γ -poliglutamato pueden producirse por reacción del ácido γ -poliglutámico (γ -APG) seleccionado con solución básica de hidróxido u óxido de los iones metálicos de Na^+ , K^+ , NH_4^+ , Ca^{++} o Mg^{++} de elección y el pH ajustado a la condición deseada de 5,0 a 7,2 según sea necesario.

30 Ejemplo experimental

- Con el fin de explicar adicionalmente la presente invención en detalle, los ejemplos experimentales se presentan como se indica a continuación para mostrar cómo la presente invención puede utilizarse para conseguir el mejor efecto humectante y añadir valores saludables a los productos cosméticos y de cuidado personal. Sin embargo, el alcance de la presente invención no está limitado por estos ejemplos experimentales.

Ejemplo experimental 1

- En este ejemplo experimental, las cremas humectantes de piel vital convencionales con la siguiente formulación se prepararon para demostrar la eficacia de la retención de agua del γ -poliglutamato en forma de Mg^{++} (Ejemplos de Referencia) y del hidrogel de γ -poliglutamato para su uso de acuerdo con la invención (preparado a partir de γ -poliglutamato en forma de Na^+). Se utilizó propilenglicol como control para la comparación, se utilizó ácido hialurónico (AH) como referencia relativa, se utilizaron γ -poliglutamato en forma de Mg^{++} de bajo peso molecular con 200.000 a 400.000 dalton (designado como BM), γ -poliglutamato en forma de Mg^{++} de alto peso molecular con $1,15 \times 10^6$ a $1,35 \times 10^6$ dalton (designado como AM) e hidrogel de γ -poliglutamato para su uso de acuerdo con la invención (preparado a partir de γ -poliglutamato en forma de Na^+) con un peso molecular de 15×10^6 a 100×10^6 o superior (reticulado con poliglicerol poliglicidil éter) como superhumectantes. Las especies y proporciones del ingrediente contenido en las formulaciones de crema ejemplificadas se enumeran en la Tabla 2.

50 Tabla 2: Formulación de cremas humectantes de piel vital

INGREDIENTES	PORCENTAJE, %				
	CONTROL	A	B	C	D
Ácido esteárico	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Alcohol estearílico	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
Wichenol 158	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
KOH	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Propilenglicol	5,0	---	---	---	---
γ -Poliglutamato en forma de Mg^{++} AM	---	0,1	---	---	---
γ -Poliglutamato en forma de Mg^{++} BM	---	---	0,1	---	---
Hidrogel de γ -poliglutamato (preparado a partir de γ -poliglutamato en forma de Na^+) al 4 % ICL	---	---	---	0,1	---
Ácido hialurónico (AH)	---	---	---	---	0,1
GMS 1330	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Metilparabeno	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Agua desionizada	77,2	82,1	82,1	82,1	82,1

INGREDIENTES	PORCENTAJE, %				
	CONTROL	A	B	C	D
Vitamina E	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

Nota: El hidrogel al 4 % 1CL es el código de ejemplo del hidrogel utilizado en el experimento.

El hidrogel se fabricó con γ -poliglutamato en forma de Na^+ al 4 % y poliglicerol poliglicidil éter al 1 %.

Ejemplo experimental 2

Los productos cosméticos del ejemplo experimental 1 se evaluaron para determinar la eficacia de la retención de agua en la piel. Una muestra de 0,2 g de cada uno de los 5 productos se extendió uniformemente sobre un área de aproximadamente 25 cm² en la superficie de la piel del interior del brazo de un panelista del ensayo. Un grupo de 10 panelistas participó en este ensayo. La retención de agua en la superficie de la piel se midió a 23 °C en un ambiente de humedad relativa del 60 %, con una sonda de Skin Analysis SHP88 fabricada por Courage⁺ Khazaka Electronic GmbH, Alemania. La eficacia de la retención de agua se expresa en términos de relación de aumento de capacitancia (%), como se muestra en la Tabla 3. Los resultados muestran una calidad de retención de agua de larga duración mucho mejor para los productos que contienen γ -poliglutamato en forma de Mg^{++} e hidrogel de γ -poliglutamato para su uso de acuerdo con la invención (preparado a partir de γ -poliglutamato en forma de Na^+).

Tabla 3. El cambio de la retención de humedad con el tiempo después de la aplicación de cremas humectantes vitales, se expresó en términos de relación de aumento de capacitancia, %, medida a 22 °C y HR del 65 %.

Humectante utilizado	Relación de aumento de la capacitancia, %						
	Tiempo, min.						
	0	5	10	20	40	80	120
Propilenglicol al 5 % como control	0	105	57	51	40	38	36
Ácido hialurónico (AH)* al 0,1 %	0	121	75	53	42	41	40
γ -Poliglutamato en forma de Mg^{++} AM al 0,1 %*	0	180	118	79	54	48	45
γ -Poliglutamato en forma de Mg^{++} BM al 0,1 %*	0	138	98	70	46	45	43
Hidrogel de γ -poliglutamato al 0,1 % (preparado a partir de γ -poliglutamato en forma de Na^+) al 4 % 1CL	0	128	78	56	44	43	42

* Ejemplos de referencia

Ejemplo experimental 3

Los productos cosméticos del ejemplo experimental 1 también se evaluaron para determinar la eficacia de la mejora de la elasticidad de la piel. Una muestra de 0,25 g de cada uno de los 5 productos se extendió uniformemente sobre un área de 25 cm² en la superficie de la piel del exterior del brazo de un panelista del ensayo, una vez al día y de forma continua durante un periodo de 1 mes. Participaron 10 panelistas en el ensayo. La elasticidad aparente de la piel se midió a 23 °C y con una humedad relativa (HR) del 60 %, con una sonda de Cutometer SEM 575 (Courage⁺ Khaazaka Electronic GmbH, Alemania), una vez por semana y se expresó en términos del valor del índice de elasticidad aparente R2. Cuanto mayor sea el valor del índice de elasticidad aparente R2, mejor será la elasticidad de la piel. Los resultados se muestran en la Tabla 4. Los resultados muestran que las formulaciones cosméticas del Ejemplo de Referencia que contienen γ -poliglutamato en forma de Mg^{++} (AM) y γ -poliglutamato en forma de Mg^{++} (BA) y la formulación cosmética para su uso de acuerdo con la invención que contiene hidrogel de γ -poliglutamato (preparado a partir de γ -poliglutamato en forma de Na^+) 4 %1CL son mucho mejores que los que contienen ácido hialurónico (AH) o propilenglicol para mejorar la elasticidad de la piel. El hidrogel de γ -poliglutamato para su uso de acuerdo con la invención (preparado a partir de γ -poliglutamato en forma de Na^+) muestra los mejores resultados en la mejora de la elasticidad de la piel.

Tabla 4. Cambios en la elasticidad de la piel con el tiempo después de aplicar la crema humectante vital. El índice de elasticidad aparente se expresó en valor de R2 y la elasticidad aparente relativa se expresó en $\text{R2}/(\text{R2})_0$, %.

Humectante utilizado	Elasticidad aparente relativa, $\text{R2}/(\text{R2})_0$, %					
	Tiempo, semana					
	($\text{R2})_0$	0	1	2	3	4
Propilenglicol al 5 % (control)	0,760	100	103,3	104,5	104,7	104,6
Ácido hialurónico (AH)* al 0,1 %	0,800	100	103,5	105,6	105,5	105,5
γ -Poliglutamato en forma de Mg^{++} AM al 0,1 %*	0,825	100	105,7	106,1	106,7	106,7
γ -Poliglutamato en forma de Mg^{++} BM al 0,1 %*	0,850	100	103,3	105,4	105,5	105,6
Hidrogel de γ -poliglutamato al 0,1 % (preparado a partir de γ -poliglutamato en forma de Na^+) al 4 % 1CL	0,780	100	103,5	107,7	110,5	110,3

* Ejemplos de referencia

Ejemplo experimental 4 (ejemplo de referencia)

En este ejemplo experimental, una formulación de mascarilla facial humectante convencional con las siguientes formulaciones se preparó para demostrar la eficacia en la retención de agua del γ -poliglutamato en forma de Ca^{++} y el hidrogel de γ -poliglutamato (preparado a partir de γ -poliglutamato en forma de Na^+). El γ -poliglutamato en forma de Ca^+ de bajo peso molecular con 200.000 a 400.000 dalton (designado como BM), el γ -poliglutamato en forma de Ca^{++} de alto peso molecular con $1,15 \times 10^6$ a $1,35 \times 10^6$ dalton (designado como AM) y el hidrogel de γ -poliglutamato (preparado a partir de γ -poliglutamato en forma de Na^+) con un peso molecular de 15×10^6 a 100×10^6 o superior (reticulado con irradiación de rayos gamma) se utilizaron como superhumectantes. Las especies y proporciones de los ingredientes contenidos en la formulación de mascarilla humectante facial ejemplificada se enumeran en la Tabla 5.

Tabla 5. Formulación de mascarilla humectante facial

INGREDIENTES	PORCENTAJE, %				
	CONTROL	A	B	C	D
Polietilenglicol	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0
Metilcelulosa	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
1,3-Butilglicol	5,0	---	---	---	---
Etanol	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0
Metilparabeno	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Citrato de sodio	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.
γ -Poliglutamato en forma de Ca^{++} AM	---	0,15			
γ -Poliglutamato en forma de Ca^{++} BM	---		0,15		
Hidrogel de γ -poliglutamato (preparado a partir de γ -poliglutamato en forma de Na^+) al 2 % 2 M	---			0,15	
Hidrogel de γ -poliglutamato (preparado a partir de γ -poliglutamato en forma de Na^+) al 6 % 1 M	---				0,15
POE oleil alcohol éter	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Agua desionizada	65,1	69,9	69,9	69,9	69,9

Nota: El hidrogel al 2 % 2 M y el hidrogel al 6 % 1 M son los códigos de muestra del hidrogel utilizado en el experimento. El hidrogel al 2 % 2 M representa que el hidrogel se fabricó a partir de γ -poliglutamato en forma de Na^+ al 2 % y se irradió con rayos γ a una dosis de 2 Mrad y el hidrogel al 6 % 1 M se fabricó a partir de γ -poliglutamato en forma de Na^+ al 6 % y se irradió con rayos γ a una dosis de 1 Mrad.

Ejemplo experimental 5 (ejemplo de referencia)

Las muestras de 0,2 gramos del ejemplo experimental 4 se tomaron y se extendieron uniformemente sobre un área de 25 cm^2 en la superficie de la piel del exterior del brazo de un panelista del ensayo y el tiempo de formación de la película se observó y se registró estrechamente (véase *Characteristic Properties of N-Carboxybutyl Chitosan. Carbohydr. Polym.* 11:307-320, 1989 Muzzareli, R. A. A. et al.) a 23°C en un ambiente de humedad relativa (HR) del 65 %. Un grupo de 10 panelistas participó en este ensayo. En un experimento separado, la película de mascarilla formada después de 15 minutos se desprendió, después se midió el valor de pH de la piel a 23°C en un ambiente de humedad relativa del 65 % con una sonda del Skin Analysis SHP88 de Courage +Khazaka Electronic GmbH, Alemania. La retención de la humedad de la piel se midió inmediatamente a 23°C en un ambiente de humedad relativa del 65 % con una sonda Skin Analysis SHP88 y se expresó en unidades de relación de aumento de capacitancia, %.

Las muestras de mascarilla humectante de 25 cm^2 se tomaron del ejemplo experimental 4 y se distribuyeron de manera uniforme sobre la superficie exterior de la piel del brazo superior de un panelista del ensayo. Un grupo de 10 panelistas participó en este ensayo. Después de 24 horas, las muestras de mascarillas se retiraron y se observó la piel cuidadosamente para determinar cualquier grado de irritación y los resultados se registran de acuerdo con el método de Draize (véase *Appraisal of the Safety of Chemicals in Food, Drugs and Cosmetics. Pharmacolo.* 93:377-392, 1948, Draize, F. et al.). Los resultados se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Tiempo de formación de película, relación de aumento de la capacitancia (%), valor de pH de la piel y puntuación de Draize después de aplicar las mascarillas faciales humectantes

	Control de 1,3-BG	γ -Poliglutamato en forma de Ca^{++} AM	γ -Poliglutamato en forma de Ca^{++} BM	Hidrogel al 2 % 2 M	Hidrogel al 6 % 1 M
Tiempo de Formación de Película, min.	13,2	14,2	13,5	12,0	14,6
Relación de aumento de la capacitancia, %	73,2	89,6	83,0	94,7	83,9
Valor de pH, antes de usar la mascarilla	5,8	6,1	6,0	6,0	6,0
Valor de pH, después de usar la mascarilla	6,0	6,3	6,5	6,4	6,5
Puntuación de Draize	0	0	0	0	0
Nota: Hidrogel al 2 % 2 M e Hidrogel al 6 % 1 M son los códigos de muestra de los hidrogeles utilizados en este experimento.					

- La Tabla 6 muestra que la retención de agua de la piel como se expresa por la relación de aumento de la capacitancia es mucho mejor con la mascarilla facial humectante que contiene γ -poliglutamato en forma de Ca^{++} (AM), 89,6 %, γ -poliglutamato en forma de Ca^{++} (BM), 83,0 %, e hidrogel de γ -poliglutamato (preparado a partir de γ -poliglutamato en forma de Na^+) (al 2 % 2 M), 94,7 %, e hidrogel de γ -poliglutamato (preparado a partir de γ -poliglutamato en forma de Na^+) (al 6 % 1 M), 83,9 %, que con el control, 73,2 %. Mientras que el valor pH de la piel se mantiene dentro del intervalo de ácido débil, por debajo de pH 6,5, en comparación con el pH 6,0 para el control, la puntuación de Draize de "cero" indica que el γ -poliglutamato en forma de Ca^{++} y los hidrogeles de γ -poliglutamato (preparados a partir de γ -poliglutamato en forma de Na^+) no provocan ninguna erupción o irritación de la piel.

Ejemplo experimental 6 (ejemplo de referencia)

- En este ejemplo experimental, las cremas humectantes de piel vital convencionales con las siguientes formulaciones se prepararon para demostrar la eficacia de la retención de agua del γ -poliglutamato en forma de K^+ y el hidrogel de γ -poliglutamato (preparado a partir de γ -poliglutamato en forma de K^+). Se utilizó glicerol como control para la comparación, se usaron el γ -poliglutamato en forma de K^+ de alto peso molecular con $1,15 \times 10^6$ a $1,45 \times 10^6$ dalton (designado como AM) y los hidrogeles de γ -poliglutamato (preparados a partir de γ -poliglutamato en forma de K^+) con un peso molecular de 15×10^6 a 100×10^6 o superior (reticulados con irradiación con rayos gamma) como superhumectantes. Las especies y proporciones de los ingredientes contenidos en la formulación de crema ejemplificada se enumeran en la **Tabla 7**.

Tabla 7: Formulación de cremas humectantes de la piel

INGREDIENTES	PORCENTAJE, %			
	CONTROL	A	B	C
estearato de glicerina	4,0	4,0	4,0	4,0
Alcohol estearílico	2,0	2,0	2,0	2,0
Estearato de etilhexilo	8,5	8,5	8,5	8,5
triglicérido cáprico/caprílico	8,5	8,5	8,5	8,5
Ceteareth-25	2,0	2,5	2,5	2,5
Glicerol	5,0	---	---	---
γ -Poliglutamato en forma de K^+ AM	---	0,2	---	---
Hidrogel de γ -poliglutamato (preparado a partir de γ -poliglutamato en forma de K^+) al 6 % 1M	---	---	0,2	---
Betaína natural	---	---	---	2,0
Benzoato de Na, metilparabeno	0,4	0,4	0,4	0,4
Agua desionizada	69,5	74,3	74,3	72,5
Vitamina E	0,1	0,1	0,1	0,1
Nota: El Hidrogel, al 6 % 1 M es el código de muestra del hidrogel utilizado en este experimento.				

Ejemplo experimental 7 (ejemplo de referencia)

- Los productos cosméticos del ejemplo experimental 6 se evaluaron para determinar la eficacia de la humectación de la piel. Un grupo de 5 panelistas de ensayo participó en este experimento. Los panelistas en primer lugar se pusieron en una habitación con una temperatura a 22 °C y una humedad relativa (HR) del 60 % durante 15 minutos. Se usó una sonda del corneómetro HM99 de Courage⁺Khazaka Electronic GmbH, Alemania para medir la humedad de la piel de la superficie de la piel exterior del brazo del panelista para determinar la línea basal como (CU1). Una muestra de 0,2 g de la formulación del ejemplo experimental 6 se extendió uniformemente sobre un área de 25 cm² de la superficie de la piel durante 2 minutos antes de retirar el exceso de muestra de formulación. Después de 2

horas la humedad de la piel se midió de nuevo y se registró como (CU2). Antes de la medición los panelistas se colocaron en una habitación con una temperatura a 22 °C y una HR del 60 % durante 15 minutos. La alteración de la humedad de la piel se calcula entonces como $\Delta CU = CU2 - CU1$. Los resultados del aumento de la humedad de la piel se muestran en la Tabla 8.

5

Tabla 8. Aumento relativo de la humedad de la piel

Humectante utilizado	Aumento de la humedad de la piel ΔCU	ΔCU relativa %	Nueva propiedad de la película
Glicerol al 5 %	7,5	100	Sin cambios
γ -Poliglutamato en forma de K^+ AM al 0,2 %	11,0	147	Tacto liso
Hidrogel de γ -poliglutamato al 0,2 % (preparado a partir de γ -poliglutamato en forma de K^+) al 6 % 1 M	13,5	180	Tacto resbaladizo, suave, tierno
Betaína natural al 2 %	12,3	164	Sin cambios
Nota: El hidrogel al 6 % 1 M es el código de ejemplo del hidrogel, que se fabricó a partir del γ -poliglutamato en forma de K^+ al 6 % y se irradió con rayos γ a una dosis de 1 Mrad.			

La Tabla 8 muestra que el γ -poliglutamato en forma de K^+ y el hidrogel de γ -poliglutamato (preparado a partir de γ -poliglutamato en forma de K^+) proporcionan un mejor aumento de la humedad de la piel que los humectantes convencionales, incluso a un nivel de uso de más de 10 veces menos, con el Aumento Relativo de la Humedad de la Piel, ΔCU : 147 % para γ -poliglutamato en forma de K^+ al 0,2 %, 180 % para el hidrogel de γ -poliglutamato al 2 % (preparado a partir de γ -poliglutamato en forma de K^+), en comparación con el 100 % para el glicerol al 5 % y el 164 % para la betaína natural al 2 %. El γ -poliglutamato en forma de K^+ y el hidrogel de γ -poliglutamato (preparado a partir de γ -poliglutamato en forma de K^+) también forman una nueva película matricial en el exterior de la superficie de la piel para proporcionar una calidad cómoda, suave, tierna y lisa, que es deseable para la mayoría de los usuarios.

10

15

Ejemplo experimental 8

En el presente experimento, las cremas humectantes de piel vital convencionales con las siguientes formulaciones se prepararon para demostrar la eficacia de la retención de agua del γ -poliglutamato en forma de Mg^{++} (Ejemplo de referencia) y de los hidrogeles de γ -poliglutamato para su uso de acuerdo con la invención (preparado a partir de γ -poliglutamato en forma de Mg^{++}). Se utilizó glicerol como control para la comparación, se utilizaron γ -poliglutamato en forma de Mg^{++} de alto peso molecular con $1,15 \times 10^6$ a $1,45 \times 10^6$ dalton (designado como AM) e hidrogel de γ -poliglutamato para su uso de acuerdo con la invención (preparado a partir de γ -poliglutamato en forma de Mg^{++}) con un peso molecular de 15×10^6 a 100×10^6 o superior (reticulado con el agente de reticulación a base de glicerol) como superhumectantes. Las especies y proporciones de los ingredientes contenidos en la formulación de crema ejemplar se enumeran en la Tabla 9.

30

Tabla 9. Formulación de crema humectante de la piel.

Ingrediente	Control, %	A, %	B, %
Estearato de glicerilo	4,0	4,0	4,0
Alcohol estearílico	2,0	2,0	2,0
Estearato de etilhexilo	8,5	8,5	8,5
Triglicérido cáprico/caprílico	8,5	8,5	8,5
Ceteareth-25	2,0	2,0	2,0
Glicerol	6,5	---	---
γ -Poliglutamato en forma de Mg^{++} AM	---	0,5	---
Hidrogel de γ -poliglutamato (preparado a partir de γ -poliglutamato en forma de Mg^{++}) al 6 % 1M	---	---	0,5
Benzoato de Na, metilparabeno	0,4	0,4	0,4
Agua desionizada	68,0	74,0	74,0
Vitamina E	0,1	0,1	0,1
Nota: El hidrogel al 6 % 1 M es el código de ejemplo del hidrogel, que se fabricó a partir del γ -poliglutamato en forma de Mg^{++} al 6 % y se irradió con rayos γ a una dosis de 1 Mrad.			

Ejemplo experimental 9

Los productos cosméticos del ejemplo experimental 8 se evaluaron para determinar la eficacia de la reducción de la pérdida de agua por evaporación y la retención de humedad en la piel. Se usó piel de cerdo para este experimento. La humedad de la piel se midió a 23 °C en un ambiente de humedad relativa (HR) del 60 % con una sonda del corneómetro HM99 de Courage⁺Khazaka Electronic GmbH, Alemania. Le siguió un procedimiento similar al del ejemplo experimental 7. Los resultados de la Pérdida de Agua Transepidérmica (PATE) y de la retención de humedad de la piel se muestran en las Tablas 10a y 10b.

40

Tabla 10a. Resultados del ensayo con piel de cerdo *ex vivo*: retención de humedad de la piel por corneometría.

Humectante utilizado	Corneometría diferencial, % Tiempo, horas				
	-1	0	1	2	4
Glicerol al 6,5 %	100	48	32	20	17
γ -Poliglutamato en forma de Mg^{++} AM al 0,5 %*	100	67	36	22	19
Hidrogel de γ -poliglutamato al 0,5 % (preparado a partir de γ -poliglutamato en forma de Mg^{++}) al 6 % 1M	100	84	55	34	26
* Ejemplo de Referencia					

La retención de humedad de la piel en las mismas condiciones climáticas (23 °C y HR del 60 %) mostró una estabilización aproximadamente 4 horas después de la aplicación de la formulación. La formulación cosmética para su uso de acuerdo con la invención que contiene hidrogel de γ -poliglutamato al 5 % (preparado a partir de γ -poliglutamato en forma de Mg^{++}) muestra una mejor retención de humedad de la piel del 84 % en la hora 1 y del 34 % en la hora 2, en comparación con el 36 % en la hora 1 y el 22 % en la hora 2 para el que contiene γ -poliglutamato en forma de Mg^{++} al 0,5 %, y solo el 32 % en la hora 1 y el 20 % en la hora 2 para el que contiene glicerol al 6,5 %.

Tabla 10b. Resultados del ensayo con piel de cerdo *ex-vivo*: Pérdida de Agua Transepidérmica (PATE)

Humectante utilizado	Pérdida de Agua Transepidérmica (PATE) Tiempo, horas				
	-1	0	1	2	4
Glicerol al 6,5 %	24,7	21,0	19,5	19,0	17,5
γ -Poliglutamato en forma de Mg^{++} AM al 0,5 %*	24,0	19,5	18,5	17,5	17,0
Hidrogel de γ -poliglutamato al 0,5 % (preparado a partir de γ -poliglutamato en forma de Mg^{++}) al 6 % 1M	19,0	15,0	13,0	12,5	12,5
* Ejemplo de Referencia					

Obviamente, a menor PATE menor pérdida de agua por evaporación de agua a través de la piel. La PATE también muestra una estabilización 4 horas después de la aplicación de la formulación humectante. La formulación que contiene hidrogel de γ -poliglutamato al 0,5 % para su uso de acuerdo con la invención (preparado a partir de γ -poliglutamato en forma de Mg^{++}) tiene el valor más bajo de PATE de 13,0 en la hora 1 y de 12,5 en la hora 2, en comparación con 19,5 en la hora 1 y 17,5 en la hora 2 para el que contiene γ -poliglutamato en forma de Mg^{++} al 0,5 % y 19,5 en la hora 1 y 10,0 en la hora 2 para el que contiene glicerol al 6,5 %. Aparentemente, el γ -poliglutamato en forma de Mg^{++} y el hidrogel de γ -poliglutamato (preparado a partir de γ -poliglutamato en forma de Mg^{++}) potencian la hidratación de la piel y reducen la PATE, lo que significa un humectante mejor y una mejor barrera para el agua para los productos cosméticos y de cuidado personal.

Ejemplo experimental 10 (ejemplo de referencia)

En este conjunto de experimentos de cultivos celulares *in vitro*, se cultivó una monocapa de la estirpe celular de fibroblastos L-929 hasta casi una confluencia de aproximadamente 2×10^5 células en DMEM (Medio de Eagle modificado por Dulbecco) con suero bovino fetal al 10 %, en cada pocillo de una placa de cultivo celular de 24 pocillos. El control era la monocapa cultivada en 1 ml de DMEM. La muestra que contenía 10 mg de γ -poliglutamateína en forma de Na^+ de bajo peso molecular con 200.000 a 350.000 dalton (designada como BM) en 1 ml de DMEM se utilizó como extracto de ensayo. Se prepararon cultivos por triplicado. Los cultivos se incubaron durante 24 horas a 37 °C con CO_2 al 5 %. Después, la monocapa se examinó microscópicamente, se añadió tripsina y se contó la densidad celular. El número de células respectivo dentro de la monocapa se enumeran en la Tabla 11.

Tabla 11. Densidad de la capa celular.

Muestra	Número total de células en la monocapa ($\times 10^4$)			
	n.º 1	n.º 2	n.º 3	Media (n = 3)
Control	$3,9 \pm 0,3$	$6,7 \pm 0,3$	$4,6 \pm 0,3$	$5,1 \pm 1,5$
Extracto del ensayo, con γ -poliglutamato en forma de Na^+ al 1 %, BM	$9,6 \pm 0,4$	$7,7 \pm 0,2$	$7,6 \pm 0,6$	$8,3 \pm 1,1$

Los resultados de la Tabla 11 muestran que el γ -poliglutamato en forma de Na^+ de bajo peso molecular, BM, con 200.000 a 350.000 dalton (designado como BM) estimuló el crecimiento de células de fibroblasto, lo que indica que el γ -poliglutamato en forma de Na^+ , BM ayuda al crecimiento de células de fibroblasto.

Ejemplo experimental 11 (ejemplo de referencia)

Aunque la formación del pigmento negro melanina en la piel es complicado, se sabe en general que la tirosina se oxida a DOPA (dihidroxifenilalanina) mediante la catálisis de la tirosinasa del melanosoma de los melanocitos. La DOPA se oxida adicionalmente y finalmente se convierte en un complejo coloreado de melanina-proteína. El γ -poliglutamato en forma de Na^+ de bajo peso molecular con 200.000 a 350.000 dalton (designado como BM) y el γ -

poliglutamato en forma de Na^+ de alto peso molecular con $1,15 \times 10^6$ a $1,35 \times 10^6$ dalton (designado como AM) se usaron en este experimento para determinar la eficacia de la inhibición de la actividad de la tirosinasa.

a. Determinación de la absorbancia total a la longitud de onda de 475 nm:

A un tubo de ensayo de 25 ml de la muestra, añadir 0,9 ml de solución de tampón fosfato 0,1 M (pH 6,8), 1 ml de muestra de γ -poliglutamato (forma de Na^+) y 1 ml de solución de tirosina 0,25 mg/ml y mezclar bien, después incubar a 37 °C durante 10 minutos. Añadir 0,1 ml de solución de tirosinasa 8,55 unidades/ml, mezclar bien y volver a incubar la mezcla a 37 °C durante otros 25 minutos. Después, se lleva la muestra de la solución de reacción para medir la absorbancia a 475 nm y se registró como At.

b. Determinación de la absorbancia del blanco de solución de tirosinasa:

Reemplazar 0,1 ml de la solución tampón por solución de tirosinasa y repetir el mismo procedimiento que en el punto (a) y registrar la absorbancia a 475 nm como A1.

c. Reemplazar 1 ml de solución de muestra por solución tampón y repetir el mismo procedimiento que en el punto (a) y registrar la absorbancia a 475 nm como Ab.

d. Determinación de la absorbancia del blanco total de la solución de ensayo:

Reemplazar 1 ml de solución de muestra con solución tampón y 0,1 ml de solución de tirosinasa por solución tampón y repetir el procedimiento en el punto (a) y registrar la absorbancia a 475 nm como Ao.

e. Cálculo de la inhibición de la actividad de la tirosinasa:

$$\text{Inhibición de la actividad tirosinasa (\%)} = \frac{(\text{Ab}-\text{Ao}) - (\text{At}-\text{A1})}{(\text{Ab} - \text{Ao})} \times 100 \%$$

Los resultados de la inhibición de la actividad tirosinasa (%) por el γ -poliglutamato (forma de Na^+) se resumen en la Tabla 12.

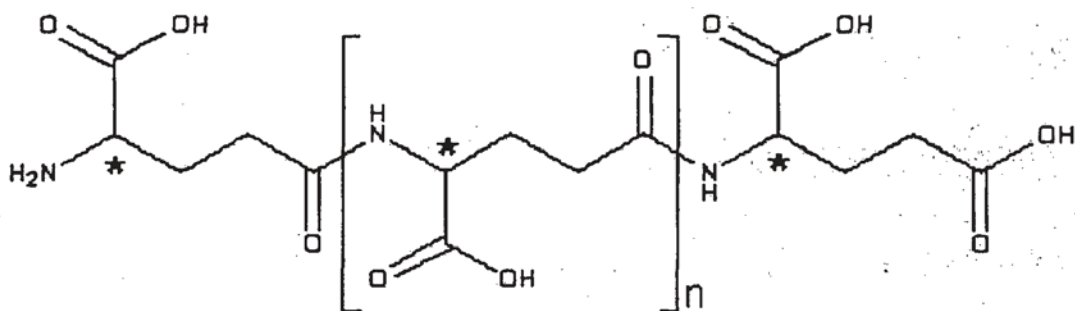
Tabla 12. Eficacia del blanqueamiento del γ -poliglutamato en forma de Na^+ en la inhibición de la actividad tirosinasa.

Muestra	Inhibición de la actividad tirosinasa, %
γ -Poliglutamato en forma de Na^+ al 0,5 % AM	52,6
γ -Poliglutamato en forma de Na^+ al 1,5 % AM	65,1
γ -Poliglutamato en forma de Na^+ al 1,0 % BM	34,3
γ -Poliglutamato en forma de Na^+ al 1,5 % BM	48,6
Ácido kójico al 1,0 %	100,0
Vitamina C al 1,0 %	99,4

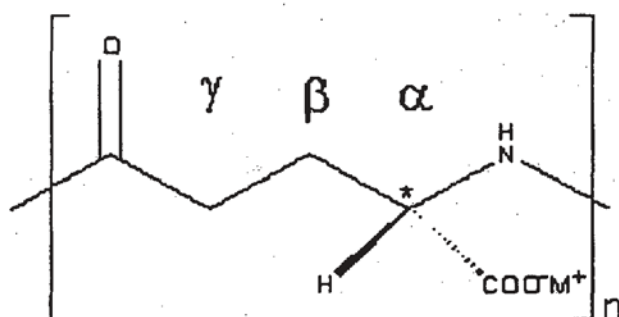
La Tabla 12 muestra que tanto el γ -poliglutamato en forma de Na^+ AM como el γ -poliglutamato en forma Na^+ BM son agentes blanqueadores relativamente eficaces para inhibir la actividad tirosinasa, inhibiendo el γ -poliglutamato en forma de Na^+ al 0,5 % AM el 52,6 % e inhibiendo el γ -poliglutamato en forma de Na^+ al 1,0 % BM el 34,3 %, en comparación con el 100,0 % para el ácido kójico al 1,0 % y el 99,4 % para la vitamina C al 1,0 %. El γ -poliglutamato en forma de Na^+ AM de mayor peso molecular tiene un efecto blanqueador mejor que el γ -poliglutamato en forma de Na^+ BM de menor peso molecular.

REIVINDICACIONES

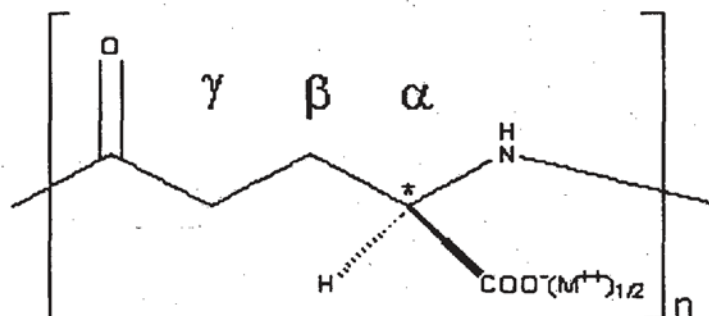
1. Uso de un hidrogel de γ -poliglutamato como humectante en un producto cosmético o de cuidado personal, en el que dicho hidrogel de γ -poliglutamato se prepara a partir de γ -poliglutamato en forma de Na^+ , γ -poliglutamato en forma de K^+ , γ -poliglutamato en forma de NH_4^+ , γ -poliglutamato en forma de Mg^{++} , γ -poliglutamato en forma de Ca^{++} , o una mezcla de dos o más de los mismos reticulados con diglicerol poliglicidil éter, poliglicerol poliglicidil éter, sorbitol poliglicidil éter, sorbitol polioxietilenado poliglicidil éter, polisorbitol poliglicidil éter, o una mezcla de dos o más de los mismos, en el que la cantidad de dicho humectante es del 0,005 % en peso al 5 % en peso del producto cosmético o de cuidado personal.
2. Uso de acuerdo con la reivindicación 1 de un hidrogel de γ -poliglutamato y ácido γ -poliglutámico (γ -APG, forma H), γ -poliglutamato en forma de Na^+ , γ -poliglutamato en forma de K^+ , γ -poliglutamato en forma de NH_4^+ , γ -poliglutamato en forma de Mg^{++} , γ -poliglutamato en forma de Ca^{++} , o una mezcla de dos o más de los mismos como humectante en un producto cosmético o de cuidado personal.
3. Uso de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho hidrogel de γ -poliglutamato tiene un peso molecular de desde 15×10^6 hasta 200×10^6 .
4. Uso de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho ácido γ -poliglutámico (γ -APG, forma H), γ -poliglutamato en forma de Na^+ , γ -poliglutamato en forma de K^+ , γ -poliglutamato en forma de NH_4^+ , γ -poliglutamato en forma de Mg^{++} y γ -poliglutamato en forma de Ca^{++} tienen independientemente un peso molecular bajo de 100.000 a 500.000 o un peso molecular alto de 10^6 a 3×10^6 .
5. Uso de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el producto es un producto para el cuidado de las manos, el cuidado facial, el cuidado del cuerpo, el cuidado de los pies, el cuidado de la cabeza, el cuidado del cabello, el cuidado de las uñas o el cuidado de la boca.
6. Uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la cantidad de dicho humectante es del 0,08 % en peso al 1 % en peso de dicho producto.



Ácido γ - poli - glutámico (o γ - APG)



Unidad de repetición de $M(I)$ γ - poli - (L) - glutamato
 $[M(I)$ γ - (L) - APG]



Unidad de repetición de $M(II)_{1/2}$ γ - poli - (D) - glutamato
 $[M(II)_{1/2}$ γ - (D) - APG]

Figura 1

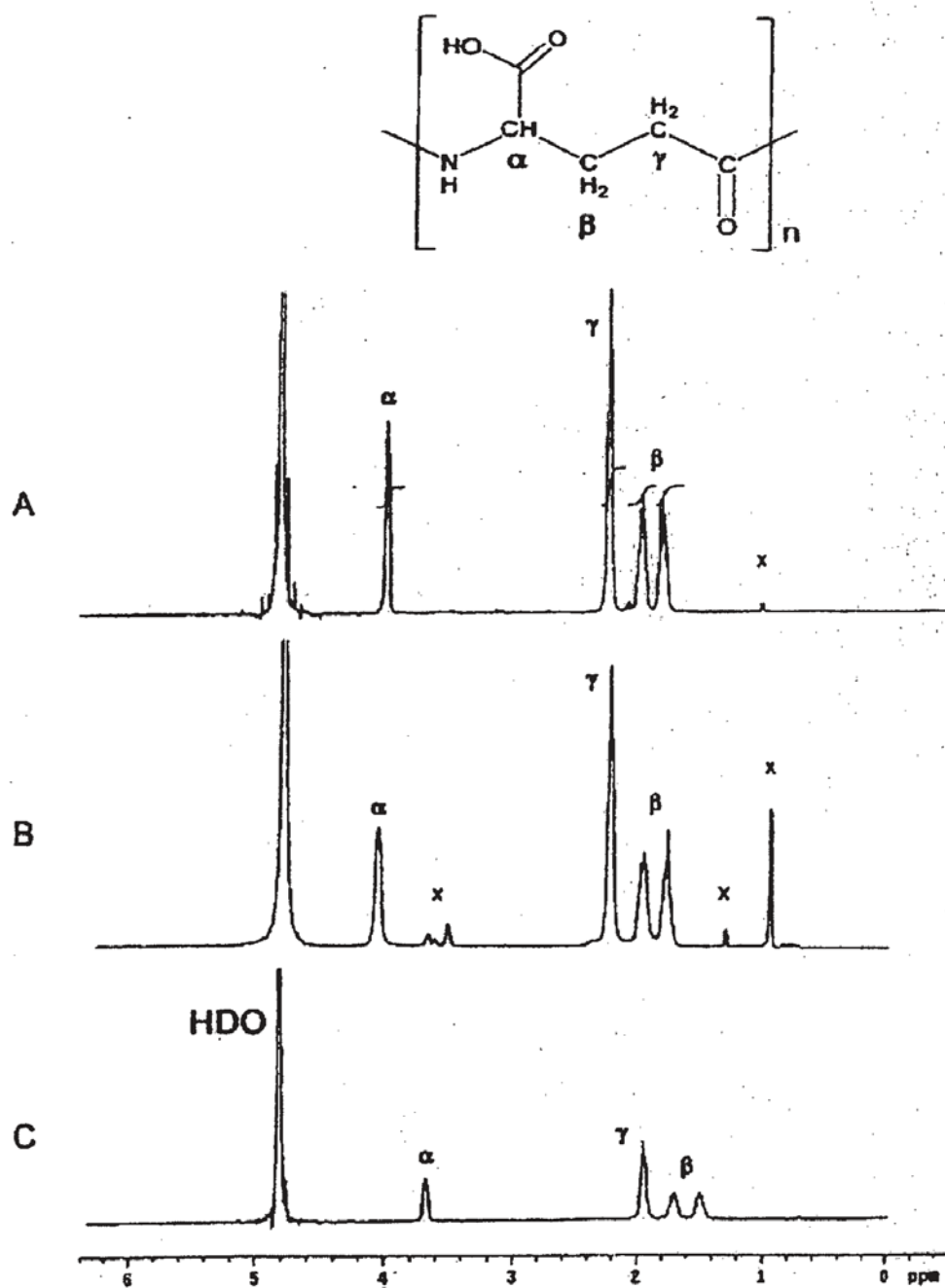


Figura 2

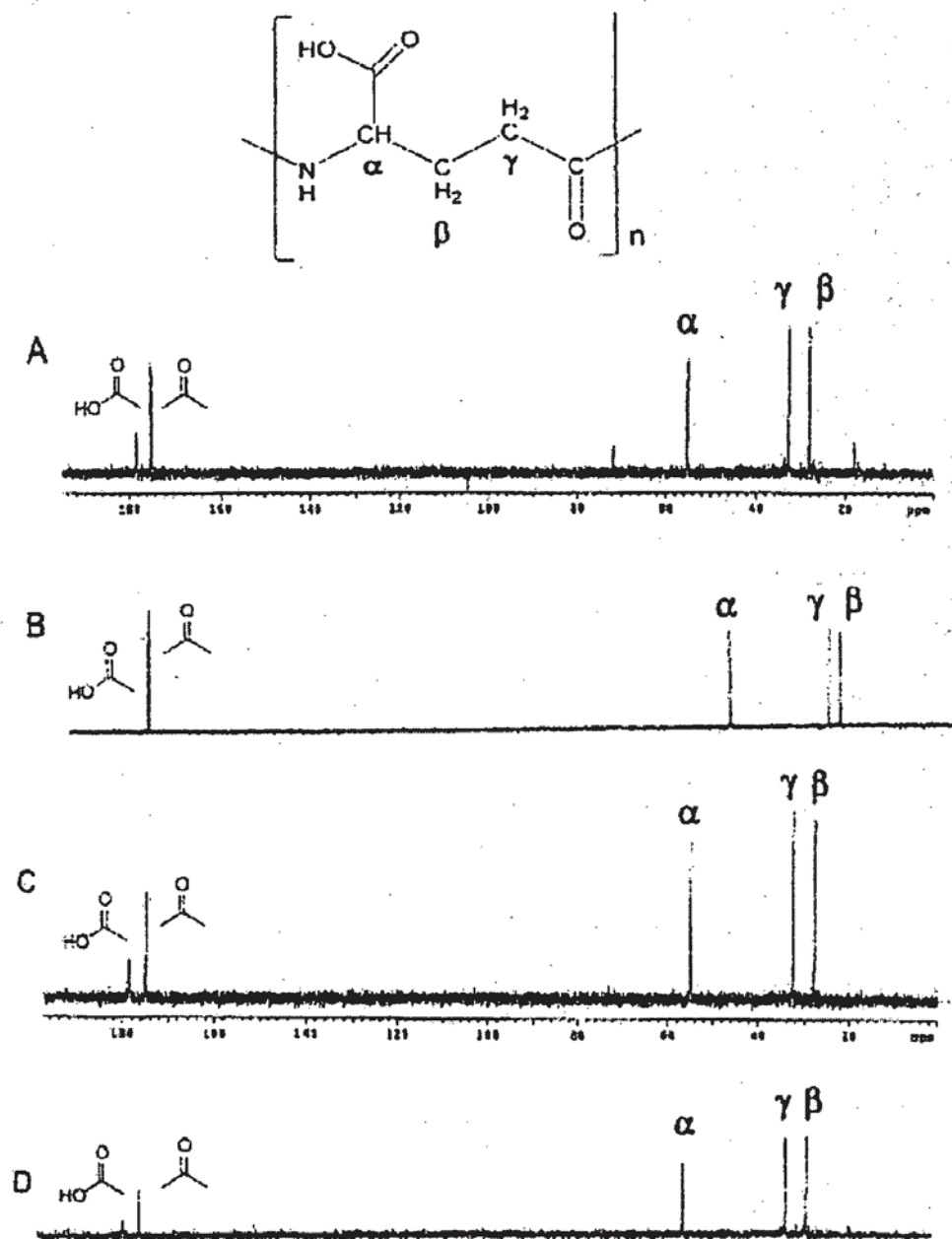


Figura 3

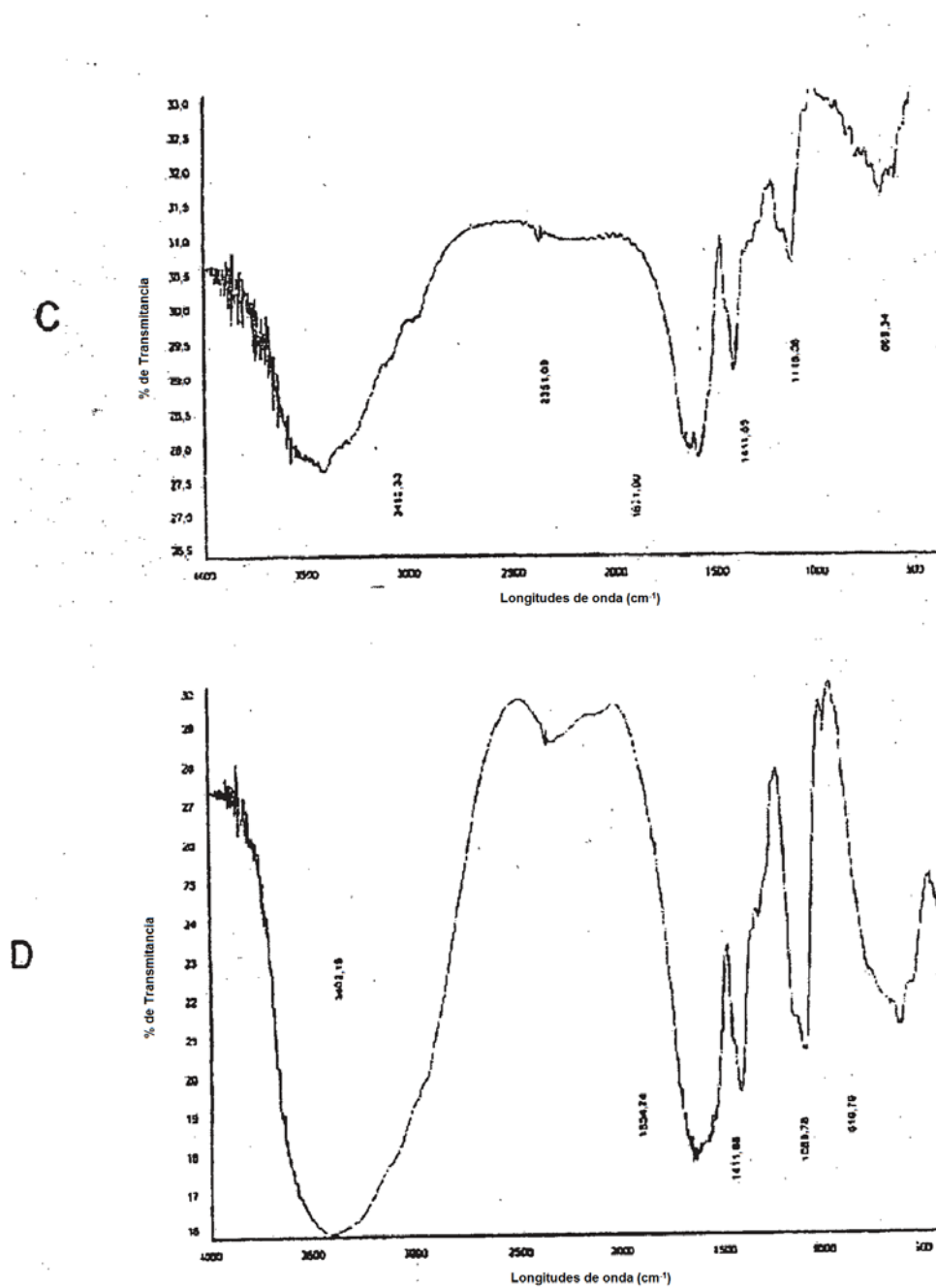


Figura 4