

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 609 403**

51 Int. Cl.:

**A61Q 19/08** (2006.01)

**A61K 8/49** (2006.01)

**A61K 8/67** (2006.01)

**A61K 8/97** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.01.2014 PCT/EP2014/050269**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.07.2014 WO14114496**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.01.2014 E 14700180 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.10.2016 EP 2948128**

54 Título: **Composición para el cuidado de la piel**

30 Prioridad:

**28.01.2013 EP 13152808**

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

**20.04.2017**

73 Titular/es:

**UNILEVER N.V. (100.0%)  
Weena 455  
3013 AL Rotterdam, NL**

72 Inventor/es:

**DAMODARAN, ANITA y  
DIAS, PAUL MARK**

74 Agente/Representante:

**LINAGE GONZÁLEZ, Rafael**

ES 2 609 403 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

Composición para el cuidado de la piel

### 5 **Campo de la invención**

La invención se refiere a una composición tópica que proporciona una salud de la piel mejorada por medio de proporcionar beneficios antienvjecimiento que son evidentes a partir de arrugas y ojeras visiblemente reducidas.

### 10 **Antecedentes de la invención**

La modificación del estilo de vida y edad aumentan la probabilidad de adquirir problemas de salud importantes como factores de riesgo cardiovascular. El deterioro en la flexibilidad de vasos sanguíneos es un factor de riesgo importante para la aparición de tales enfermedades, que se reflejan como hipertensión, angina y aterosclerosis. En seres humanos, la investigación de la función endotelial se ha centrado o bien en la macrocirculación o bien en la microvasculatura. La microcirculación es el suministro de sangre fresca a los vasos sanguíneos más pequeños, presentes en la vasculatura incrustada dentro de tejidos de órganos. Esto contrasta con la macrocirculación, que transporta sangre a y desde los órganos. Las funciones principales de la macrocirculación incluyen: 1. Regulación del flujo sanguíneo y perfusión de tejidos; 2. regulación de la tensión arterial; 3. regulación del fluido de tejidos (hinchazón o edema); 4. suministro de oxígeno y otros nutrientes y eliminación de dióxido de carbono y otros productos de desechos metabólicos; 5. regulación de la temperatura corporal; y 6. reducción del envejecimiento sedentario (arrugas, ojeras). Además de mantener estas funciones para beneficios de salud globales, la microcirculación mejora la salud de la piel.

La microcirculación de la piel es un sistema complejo y dinámico que es importante para la termorregulación, el metabolismo de piel y la penetración transcutánea. El suministro de sangre a la piel se proporciona por una red de arteriolas, capilares y vénulas organizados en un plexo superficial y uno profundo. La piel está expuesta a factores estresantes ambientales (tales como UV, contaminantes químicos y materia particulada) o factores estresantes fisiológicos (no ambientales) (estrés psicológico, envejecimiento sedentario e inflamación). Tal flujo sanguíneo comprometido conduce a efectos fisiológicos, tales como ojeras, arrugas, cicatrización de heridas retardada y edema.

Para superar estos problemas, para lograr una mejor salud de la piel, los presentes inventores se han aproximado al problema combinando agentes activos que regulan la función endotelial macrovascular y microvascular. Han encontrado que una composición que comprende catequinas galatadas y ácido fólico en razones específicas puede interactuar sinérgicamente para mejorar la salud de la piel cuando se aplica de manera tópica.

El documento US2009061023 describe un complemento nutricional para inhibir la pérdida de audición sensorineural que incluye varios micronutrientes seleccionados de ácido fólico, extracto de té verde y varios otros como tiamina, hidroxibalamina, magnesio, cinc, selenio y manganeso por nombrar algunos. Se cree que el beneficio reivindicado se efectuará por una microcirculación mejorada entre otros.

El documento US2005106263 da a conocer una formulación natural para tratamiento de la pérdida de cabello de patrón masculino, femenino y adolescente que comprende una combinación de extracto de hoja de té verde, polifenoles, galato de epigallocatequina (EGCC), vitamina E, ácido fólico, cobre (como quelato de aminoácido), vitamina B12, cinc (como óxido), pantotenato de calcio, niacina, biotina, riboflavina, tiamina y opcionalmente inositol, extracto de té negro y extracto de ortiga.

Las composiciones dadas a conocer en los documentos publicados mencionados anteriormente no dan a conocer las razones específicas de catequinas galatadas y ácido fólico que los presentes inventores han determinado que interactúan sinérgicamente mejorando la micro y macrocirculación para lograr una salud de la piel mejorada.

Por tanto, un objeto de la presente invención es proporcionar una composición tópica que presenta micro y/o macrocirculación mejorada para lograr una salud de la piel mejorada.

### 55 **Breve descripción de la invención**

Según el primer aspecto de la invención, se proporciona una composición tópica que comprende

60 (i) del 0,1 al 5% de ácido fólico;

(ii) del 0,1 al 5% de catequina galatada; y

(iii) una base cosméticamente aceptable seleccionada del grupo que consiste en crema, loción, gel y emulsión.

65

en la que la razón en peso de catequina galatada:ácido fólico está en el intervalo de 1:1 a 10:1.

Según todavía otro aspecto de la presente invención, se proporciona un método de mejora de la microcirculación de la piel que comprende aplicar a la piel una composición de la invención.

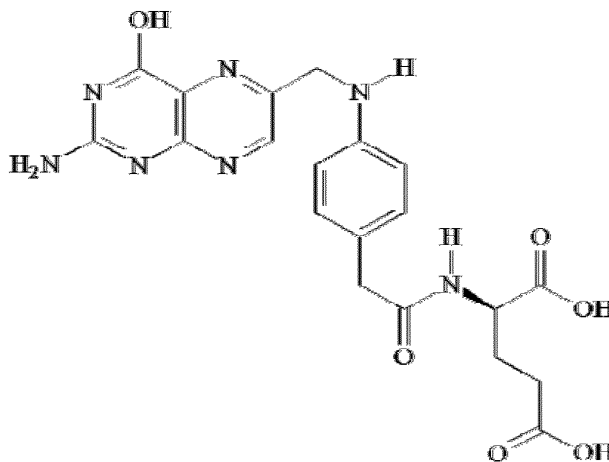
## 5 Descripción detallada de la invención

Estos y otros aspectos, características y ventajas resultarán evidentes para los expertos habituales en la técnica a partir de una lectura de la siguiente descripción detallada y las reivindicaciones adjuntas. Para evitar dudas, cualquier característica de un aspecto de la presente invención puede utilizarse en cualquier otro aspecto de la invención. La palabra “que comprende” pretende significar “que incluye” pero no necesariamente “que consiste en” o “compuesto por”. En otras palabras, no es necesario que las etapas u opciones enumeradas sean exhaustivas. Se indica que los ejemplos proporcionados en la descripción a continuación pretenden clarificar la invención y no pretenden limitar la invención a esos ejemplos *per se*. De manera similar, todos los porcentajes son porcentajes en peso/peso a menos que se indique otra cosa. Excepto en los ejemplos de funcionamiento y comparativos, o cuando se indique explícitamente otra cosa, todos los números en esta descripción y las reivindicaciones que indican cantidades de material o condiciones de reacción, propiedades físicas de materiales y/o uso ha de entenderse que están modificadas por la palabra “aproximadamente”. Se entiende que intervalos numéricos expresados en el formato “desde x hasta y” incluyen x e y. Cuando para una característica específica se describen múltiples intervalos preferidos en el formato “desde x hasta y”, se entiende que también se contemplan todos los intervalos que combinan los diferentes puntos finales.

“Composición tópica” tal como se usa en el presente documento pretende incluir una composición para su aplicación a la superficie externa, por ejemplo, la piel de mamíferos, especialmente seres humanos para lograr los beneficios de una mejor salud de la piel. Una composición de este tipo puede clasificarse generalmente como con aclarado o sin aclarado, preferiblemente con aclarado e incluye cualquier producto aplicado a un cuerpo humano principalmente para lograr una salud mejorada de la piel, pero puede usarse también para mejorar el aspecto, limpieza, control del olor o estética general. La composición de la presente invención puede estar en forma de un líquido, una loción, una crema, una espuma, una esponja, un gel, una barra de jabón o tonificante, o puede aplicarse con un implemento o por medio de una máscara facial, almohadilla o parche. Los ejemplos no limitativos de tales composiciones tópicas incluyen lociones y cremas para la piel con aclarado, antitranspirantes, desodorantes, lápices labiales, maquillajes, rímel, bronceadores sin sol o lociones de filtro solar, y productos que se eliminan por lavado como champús, acondicionadores, geles de ducha o barras de tocador. “Piel” tal como se usa en el presente documento pretende incluir piel en la cara y cuerpo (por ejemplo, cuello, pecho, espalda, brazos, axilas, manos, piernas, nalgas y cuero cabelludo) y especialmente en las partes debajo de los ojos de la cara. La composición tópica de la invención es especialmente útil para su aplicación en zonas de la piel que se arrugan o es más probable que se arruguen especialmente a las partes expuestas al sol del cuerpo.

El primer aspecto de la presente invención proporciona una composición tópica que comprende ácido fólico y una catequina galatada en una base cosméticamente aceptable, en la que la razón en peso de catequina galatada:ácido fólico está en el intervalo de 1:1 a 10:1.

El ácido fólico es un importante micronutriente. El ácido fólico tiene la estructura proporcionada a continuación:



El ácido fólico (también conocido como folato, vitamina M, vitamina B9, vitamina Bc (o folacina), ácido pteroil-L-glutámico, pteroil-L-glutamato y ácido pteroilmonoglutámico) son formas de la vitamina B9 hidrosoluble. El ácido fólico no es por sí mismo biológicamente activo, pero su importancia biológica se debe a tetrahidrofolato y otros derivados después de su conversión en ácido dihidrofolico en el hígado.

La vitamina B9 (ácido fólico y folato) es esencial para numerosas funciones corporales. El cuerpo humano necesita folato para sintetizar ADN, reparar ADN y metilar ADN así como para actuar como un cofactor en determinadas reacciones biológicas. Es especialmente importante para ayudar en la división celular rápida y el crecimiento, tal como en la infancia y el embarazo. Los niños y adultos requieren ambos ácido fólico para producir glóbulos rojos sanos y prevenir la anemia.

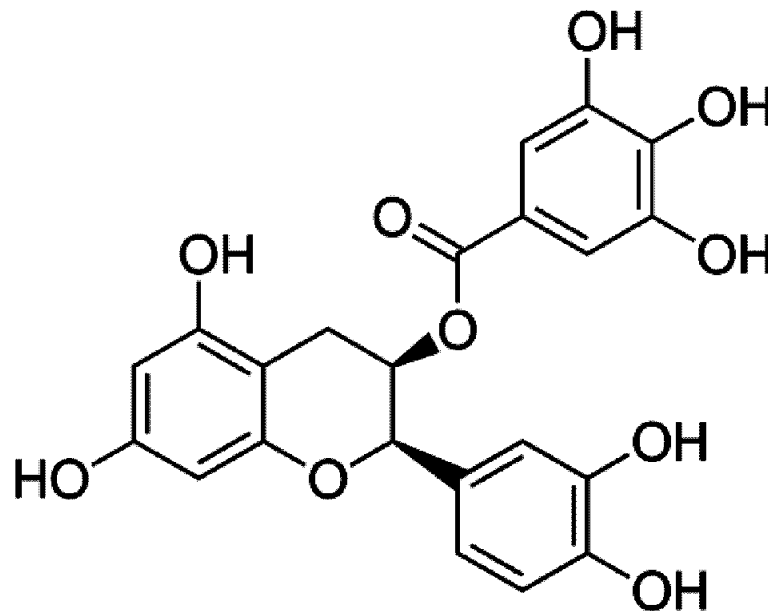
Vegetales de hojas son fuentes principales de ácido fólico, aunque los cereales y el pan fortificados de dietas occidentales pueden ser una fuente dietética mayor.

10 Los alimentos que son altos en folato incluyen:

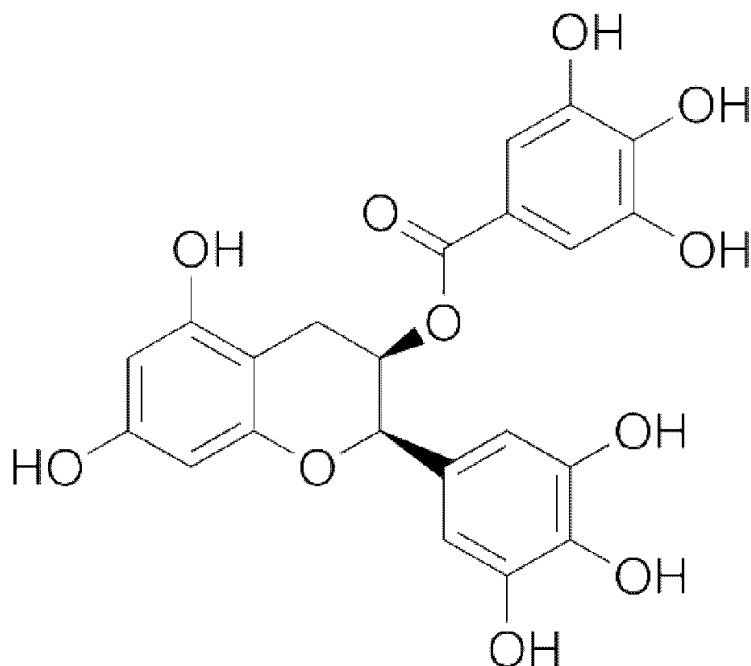
- Frutas, en particular kiwi y papaya.
- Vegetales tales como brócoli, coles de Bruselas, espinacas, calabaza, espárrago y nabo.
- Riñón e hígado cocido
- Naranjas (incluyendo zumo de naranja)
- Frijoles horneados enlatados
- Lechuga, guisantes y coliflor
- Yema de huevo
- Leche

El ácido fólico está presente en del 0,1 al 5%, preferiblemente en del 0,1 al 3%, más preferiblemente del 0,1 al 2% en la composición de la invención.

Están presentes catequinas galatadas en la composición de la invención. Las catequinas galatadas son preferiblemente galato de epigalocatequina (EGCG) o galato de epicatequina (ECG) o galato de catequina (CG). EGCG y ECG tienen la estructura proporcionada a continuación:



EGC



### EGCG

Estas catequinas se encuentran en altas cantidades en té verde a partir del cual se extraen preferiblemente. El té verde se prepara a partir de la planta de té. Té se refiere a una o más plantas que pertenecen a la familia de *Camellia sinensis* var. *Sinensis* y/o *Camellia sinensis* var. *Assamica*. El té es la segunda bebida más consumida en todo el mundo. Es una fuente rica de formas monoméricas y poliméricas de los flavonoides y puede representar hasta el 10-30% de los flavonoides en peso.

El té verde generalmente se prepara a partir de las hojas y los brotes de la planta de té mediante el proceso descrito a continuación.

El té (*Camellia sinensis*) es la segunda bebida más consumida en todo el mundo. En la cosecha, las hojas de té contienen altos niveles de catequinas, una clase particular de polifenoles. Después de la cosecha, las catequinas pueden convertirse rápidamente mediante oxidación enzimática en una mezcla compleja de otros derivados, tearubiginas y teaflavinas, responsables del color característico del té negro y oolong. Sin embargo, el té verde (GT) se produce tratando térmicamente hojas poco después de la cosecha, conservando de ese modo las catequinas de la oxidación. La cantidad de catequinas en una taza de GT es altamente variable, dependiendo del tipo preciso de té, la razón de té seco con respecto a agua y del momento en el que las hojas se someten a infusión antes del consumo. Una porción promedio de 250 ml de GT contiene entre 50 y 100 mg de catequinas. Las catequinas son los principales constituyentes bioactivos de hojas de té verde y representan del 25% al 35% de su peso seco. La catequina de tipo flavonoide polifenólico son (+)-catequina (C), (-)-epicatequina (EC), (+)-galocatequina (GC), (-)-epigalocatequina (EGC), (+)-galato de catequina (CG), (-)-galato de epicatequina (ECG), (+)-galato de galocatequina (GCG) y (-)-galato de epigalocatequina (EGCG). Las catequinas se encuentran también en muchas frutas y bebidas comúnmente consumidas como manzanas, grosellas negras, rojas y blancas, arándanos, chocolates, cacao, pepitas de uva y vino tinto.

Los principales componentes en el té verde se mencionan en la tabla a continuación

Tabla 1 – Principales componentes del té verde

	Té verde (% en peso de sólidos de extracto)
Catequinas	30-42
Flavonoles	5-10
Otros flavonoides	2-4
Teogalina	2-3
Otros dépsidos	1
Acido ascórbico	1-2
Acido gálico	0,5
Acido quínico	2
Otros ácidos orgánicos	4-5

Teanina	4-6
Otros aminoácidos	4-6
Metilxantinas	7-9
Hidratos de carbono	10-15
Minerales	6-8
Compuestos volátiles	0,02

Entre las catequinas, la composición de diferentes catequinas en té verde es tal como sigue.

Composición de flavonoides del té verde: porcentaje en peso seco

5

Componente	Té verde
Flavonoides totales	15-25%
Catequinas totales	12-18%
(-) epicatequina	1-3%
(-) galato de epicatequina	3-6%
(-) epigalocatequina	3-6%
(-) galato de epigalocatequina	9-13%
Flavonoles	2-3%
Teaflavinas	<1%
Otros polifenoles	2-4%

Las catequinas galatadas están presentes en del 0,1 al 5%, preferiblemente del 0,1 al 4%, más preferiblemente del 0,1 al 3% en la composición de la invención.

10 Las catequinas galatadas y el ácido fólico se incluyen en la composición de la invención en una razón en peso de catequina galatada:ácido fólico que está en el intervalo de 1:1 a 10:1, preferiblemente en un intervalo de 2,5:1 a 7,5:1.

15 Sin desear querer restringirse a la teoría, se cree que el problema de una mala circulación sanguínea que conduce a los problemas de una mala salud de la piel como ojeras, arrugas, etc., se produce debido al mecanismo descrito a continuación. Además, se describe a continuación el mecanismo mediante el cual se cree que la composición de la presente invención funciona para aliviar el problema.

20 La piel está expuesta a factores estresantes ambientales (tales como UV, contaminantes químicos y materia particulada) o factores estresantes fisiológicos (no ambientales) (estrés psicológico, envejecimiento sedentario e inflamación), que desencadenan cambios secuenciales; inducen de ese modo cambios significativos en el flujo sanguíneo cutáneo debido a disfunción endotelial o deterioro por óxido nítrico (NO). Tal flujo sanguíneo comprometido conduce a efectos fisiológicos tales como ojeras, arrugas, cicatrización de heridas retardada y edema. Todas estas funciones fisiológicas están vinculadas a inflamación crónica de bajo grado y resistencia periférica (disfunción endotelial).

25 Los presentes inventores creen que este estado comprometido del endotelio puede revertirse obteniendo su funcionalidad normal, modulando la producción de NO endotelial o bien interfiriendo con la señalización de NO o bien eliminando radicales libres que disipan NO.

30 El mecanismo que subyace a este efecto es la activación de la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS), lo que da como resultado óxido nítrico mejorado, lo que dará como resultado dilatación de vasos. Se cree que EGCG, una catequina galatada importante en el té verde, actúa como prooxidante a concentraciones superiores, mientras que su presencia a concentraciones inferiores confiere un efecto antioxidante en diferentes tipos de células. La exposición a EGCG de células endoteliales potencia la activación de NOS *in vitro*, mientras que la presencia de una alta concentración de EGCG conduce a activación del medio prooxidante. El medio prooxidante se caracteriza por producción aumentada de superóxido. Esta producción de superóxido aumentada puede deberse a un cambio conformacional en la enzima denominado "desacoplamiento" de eNOS. Esta enzima es un homodímero en fisiología normal y produce óxido nítrico con estimulación (lo que es beneficioso), y altera su forma monomérica en medio prooxidante. La forma monomérica produce superóxido en lugar de óxido nítrico. El superóxido formado elimina incluso una cantidad mínima de NO en los alrededores formando peroxinitritos. Se cree que los peroxinitritos provocan nitrosilación de proteínas y dificultan la señalización normal.

45 El desacoplamiento de eNOS es una causa principal de disfunción endotelial tanto en fisiopatología micro como macrovascular. A nivel molecular, la administración de ácido fólico, un precursor de metiltetrahidrofolato (MTHF, cofactor para eNOS) mantiene la enzima en su estado acoplado (la forma activa). Por tanto el pretratamiento con ácido fólico reduce la producción de superóxido y mejora la síntesis de NO por la enzima.

Los presentes inventores han encontrado que, cuando se trata con EGCG en células endoteliales, se activa la

enzima eNOS, pero a una mayor concentración conduce a la formación de superóxido. El pretratamiento con ácido fólico eliminó el desacoplamiento de ENOS, por tanto se mejora la producción de NO inducida por EGCG. Por tanto, una combinación cuidadosamente seleccionada de catequinas galatadas y ácido fólico produce los beneficios deseados que no son evidentes fuera de las razones de concentración seleccionadas.

5 La composición de la invención comprende una base cosméticamente aceptable. La base cosméticamente aceptable en cuanto a la presente invención es una crema, loción, gel o emulsión. La base cosméticamente aceptable comprende preferiblemente un ácido graso o un compuesto de silicona. Cuando la base cosméticamente aceptable comprende ácido graso, está presente preferiblemente en del 1 al 25% en peso de la composición.

10 Cuando las bases cosméticamente aceptables son tales como para tener un producto en un formato de crema, loción o emulsión, generalmente comprende ácido graso. De estos formatos, un formato más preferido es una crema o loción, más preferiblemente además una crema. Una base de crema evanescente es una que comprende del 3 al 25%, más preferiblemente del 5 al 20% de ácido graso, que es un formato preferido de la composición de la invención. En ésta, la base comprende preferiblemente del 0,1 al 10%, más preferiblemente del 0,1 al 3% de jabón.

15 Se prefieren especialmente ácidos grasos  $C_{12}$  a  $C_{20}$  en bases de crema evanescentes, siendo más preferidos adicionalmente ácidos grasos  $C_{14}$  a  $C_{18}$ . En cremas, sustancialmente el ácido graso es preferiblemente una mezcla de ácido esteárico y ácido palmítico. Los jabones en la base de crema evanescente incluyen sal de metal alcalino de ácidos grasos, como sales de sodio o potasio. El jabón preferiblemente es la sal de potasio de la mezcla de ácidos grasos. El ácido graso en la base de crema evanescente se prepara a menudo usando ácido hídrico, que es sustancialmente (en general aproximadamente del 90 al 95%) una mezcla de ácido esteárico y ácido palmítico (habitualmente el 55% de ácido esteárico y el 45% de ácido palmítico). Por tanto, la inclusión de ácido hídrico y su jabón para preparar la base de crema evanescente está dentro del alcance de la presente invención. Se prefiere particularmente que la composición comprenda al menos el 6%, preferiblemente al menos el 10%, más preferiblemente al menos el 12% de ácido graso. La base cosméticamente aceptable es habitualmente de desde el

20 10 hasta el 99,9%, preferiblemente desde el 50 hasta el 99% en peso de la composición. Otra base preferida es una loción. Las lociones comprenden generalmente del 1 al 20% de ácido graso. La base cosméticamente aceptable incluye preferiblemente agua. El agua se incluye preferiblemente en del 35 al 90%, más preferiblemente del 50 al 85%, más preferiblemente además del 50 al 80% en peso de la composición.

30 Una base cosméticamente aceptable especialmente adecuada es una que comprende una emulsión de agua en aceite que comprende aceites de silicona como fase continua. Las emulsiones de agua en aceite comprenden preferiblemente una combinación de elastómero de silicona reticulado.

35 La inclusión de la combinación de elastómero de silicona en una emulsión de agua en aceite puede usarse como base cosméticamente aceptable para preparar las composiciones de la presente invención. Aunque pueden usarse fluidos de silicona, se prefieren especialmente elastómeros de silicona, que están reticulados. La creación de reticulaciones entre polímeros lineales, tales como dimeticona, convierte el polímero lineal en un elastómero de silicona. En contraposición a polímeros de fluido de silicona, las propiedades físicas de los elastómeros dependen normalmente del número de reticulaciones, en lugar del peso molecular. La capacidad de los elastómeros de silicona para hincharse los hace espesantes ideales para fases oleosas. Los elastómeros tienen una sensación muy tersa y suave cuando se aplican a piel o cabello. También pueden usarse como agentes de suministro para fragancias, vitaminas y otros aditivos en composiciones cosméticas.

40

45 Combinaciones de elastómero de silicona o geles adecuadas que están comercialmente disponibles y son adecuadas para su inclusión en la composición de la invención y se encuentra que proporcionan la estabilidad mejorada son: combinación de elastómero orgánico de silicona Dow Corning® EL-8051 IN [denominación INCI: polímero cruzado de neopentanoato de isodecilo (y) dimeticona/bis-isobutil-PPG-20]; DC 9040, DC9041, DC9045 (polímero cruzado de dimeticona); DC 9506, 9509 (polímero cruzado de dimeticona-vinildimeticona), Shin-Etsu KSG-15, KSG-16, KSG-17 (polímero cruzado de dimeticona-vinildimeticona). Se prefiere además que la composición

50 comprenda del 5 al 50% de elastómero de silicona en peso de la composición.

Pueden usarse preferiblemente agentes protectores solares útiles, por ejemplo, bloqueantes solares inorgánicos en la presente invención. Estos incluyen, por ejemplo, óxido de cinc, óxido de hierro, sílice, tal como sílice pirogénica o dióxido de titanio. La cantidad total de bloqueante solar que se incorporada preferiblemente en la composición según

55 la invención es del 0,1 al 5% en peso de la composición.

La composición de la invención puede comprender adicionalmente un agente de blanqueamiento de la piel. El agente de blanqueamiento de la piel se elige preferiblemente de un compuesto de vitamina B3 o su derivado, por ejemplo, niacina, ácido nicotínico, niacinamida u otros agentes de blanqueamiento de la piel bien conocidos, por

60 ejemplo, extracto de aloe, lactato de amonio, ácido azelaico, ácido kójico, ésteres de citrato, ácido elágico, ácido glicólico, extracto de té verde, hidroquinona, extracto de limón, ácido linoleico, ascorbilfosfato de magnesio, vitaminas como vitamina B6, vitamina B12, vitamina C, vitamina A, un ácido dicarboxílico, derivados de resorcinol, ácido hidrocarboxílico como ácido láctico y sus sales, por ejemplo, lactato de sodio, y mezclas de los mismos. El compuesto de vitamina B3 o su derivado, por ejemplo, niacina, ácido nicotínico, niacinamida son el agente de

65 blanqueamiento de piel más preferido según la invención, siendo la más preferida la niacinamida. La niacinamida, cuando se usa, está presente preferiblemente en una cantidad en el intervalo del 0,1 al 10%, más preferiblemente

del 0,2 al 5% en peso de la composición.

La composición según la invención también puede comprender otros diluyentes. Los diluyentes actúan como dispersante o portador para otros materiales presentes en la composición, con el fin de facilitar su distribución cuando la composición se aplica a la piel. Los diluyentes distintos de agua pueden incluir emolientes líquidos o sólidos, disolventes, humectantes, espesantes y polvos.

La composición de la invención puede comprender una base desodorante convencional como portador cosméticamente aceptable. Por un desodorante quiere decirse un producto en medio de barra, bola o propelente que se usa para beneficio desodorante personal, por ejemplo aplicación en la axila o cualquier otra zona que puede contener o no agentes activos antitranspirantes.

Las composiciones desodorantes pueden estar generalmente en forma de sólidos firmes, sólidos blandos, geles, cremas y líquidos y se dispensan usando aplicadores apropiados a las características físicas de la composición.

Las composiciones de la presente invención pueden comprender una amplia gama de otros componentes opcionales. El CTFA Cosmetic Ingredient Handbook, segunda edición, 1992, describe una amplia variedad de componentes cosméticos y farmacéuticos no limitativos comúnmente usados en la industria del cuidado de la piel, que son adecuados para uso en las composiciones de la presente invención. Los ejemplos incluyen: antioxidantes, aglutinantes, aditivos biológicos, agentes de tamponamiento, colorantes, espesantes, polímeros, astringentes, fragancia, humectantes, agentes opacificantes, acondicionadores, agentes exfoliantes, agentes de ajuste del pH, conservantes, extractos naturales, aceites esenciales, sensibilizadores de la piel, agentes calmantes de la piel y agentes cicatrizantes de la piel.

Según otro aspecto de la presente invención, se proporciona un método de mejora de la microcirculación de la piel que comprende aplicar a la piel una composición de la invención. El uso de un método de este tipo es preferiblemente no terapéutico.

Según otro aspecto la invención proporciona una composición para su uso en la mejora de la microcirculación de la piel.

La invención se ilustrará ahora con la ayuda de los siguientes ejemplos no limitativos.

### **Ejemplos**

Los experimentos se realizaron usando el siguiente procedimiento:

#### Materiales

DAF FM-DA se adquirió de Invitrogen (Eugene, Oregon).

DMEM, ácido fólico (n.º de cat. - F7876) y EGCG (n.º de cat.-50299) se adquirieron de Sigma (St. Louis, MO, EE.UU.).

#### Preparación de células EA.Hy926

Se obtuvieron las células de la línea de células endoteliales humanas cultivadas EA.Hy926 de la Colección Americana de Cultivos Tipo (CRL-2922 – ATCC) y se cultivaron en DMEM (Sigma) complementado con L-glutamina 2 mM, penicilina 100 U/ml, estreptomina 100 µg/ml y FBS al 10% vol/vol (Gibco, Invitrogen). Se cultivaron las células a 37°C en el 95% de aire humidificado con el 5% de CO<sub>2</sub>. Después de alcanzar el 70-80% de confluencia, se subcultivaron las células por tripsinización (Trp-EDTA al 0,25%, durante 2-3 min). Para el fin experimental, se sembraron las células sobre placas de cultivo tisular de 24 pocillos (CLS3524 Sigma). Después de la adherencia, se sometieron las células a ayuno en DMEM con bajo contenido en glucosa libre de suero durante 12-14 h antes de cualquier experimento, para mantener las células en estado quiescente y reducir el nivel basal de producción de NO:

#### Medición del óxido nítrico intracelular usando citometría de flujo

##### Flujo experimental:

1. Se sembraron células EAHy926 ( $5 \times 10^5$ ) en placa de cultivo tisular de 24 pocillos y se permitió que se adhirieran durante 12-16 h.

2. Después de la adherencia, se trataron las células con o sin ácido fólico 4,41 µg/ml (10 µM) y se incubaron durante 24 h en DMEM sin FBS.

3. Se cargaron las células en placas de cultivo tisular de 24 pocillos con DAF FM-DA (1 µM) durante 30 min, se



lavaron dos veces con medio libre de suero.

4. Posteriormente, se estimularon las células con una concentración diferente de EGCG durante 30 min y se lavaron dos veces con medio libre de suero.

5

5. Se tripsinizaron las células estimuladas con tripsina-EDTA al 0,25% y se fijaron con PFA al 2% durante 15 min.

6. Se adquirió la suspensión de células usando citometría de flujo. Se separó una población de 10.000 células y se segregó basándose en sus intensidades de fluorescencia relativa usando FACS Calibur (BD; San Diego). Se midió el rendimiento medio de dos poblaciones distintas y se comparó con la población respectiva en células no tratadas.

10

Los datos sobre la actividad de óxido nítrico se resumen en la tabla -1 para las diversas composiciones, que pueden ser catequinas galatadas (EGCG) solas a diversas concentraciones o ácido fólico solo o EGCG en combinación con ácido fólico. Las composiciones que presentan un valor de actividad de NO superior a 3,0, preferiblemente superior a 3.8, se toman como las que se espera que proporcionen los beneficios de microcirculación mejorada de la presente invención.

15

Tabla - 1

Número de ejemplo	Concentración de EGCG, µg	Concentración de ácido fólico, µg	Razón de EGCG:ácido fólico	Actividad de NO
1	0	0	-	1,00
2	2,29	0	-	2,87
3	4,58	0	-	2,98
4	11,45	0	-	3,75
5	22,91	0	-	3,58
6	33,07	0	-	2,32
7	44,1	0	-	1,64
8	110,25	0	-	0,63
9	0	4,41	0	1,00
10	2,29	4,41	0,52	2,73
11	4,58	4,41	1,04	3,27
12	11,45	4,41	2,60	4,37
13	22,91	4,41	5,20	5,59
14	33,07	4,41	7,50	3,96
15	44,1	4,41	10,0	3,50
16	110,25	4,41	25,0	3,09
17	220,5	4,41	50,0	2,29
18	0	1,00	-	1,08
19	0	5,00	-	1,02
20	0	10,00	-	1,03
21	0	25,00	-	1,03

20

Los datos en la tabla -1 indican que la concentración de ácido fólico creciente sola no mejora la actividad de NO. Aumentar la concentración de EGCG solo aumenta la actividad de NO hasta una concentración de EGCG de aproximadamente 11 µg y después de eso la actividad de NO disminuye. Además, ha de indicarse que una actividad de NO de 1,0 es indicativa de ausencia de aumento con respecto a la muestra tratada (y de hecho es una indicación de actividad nula con respecto al control). Además, los mecanismos mediante los cuales se cree que el ácido fólico y las catequinas galatadas interactúan son diferentes (tal como se describió anteriormente en el presente documento) y por lo tanto la sinergia no debe interpretarse comparando la actividad de NO de las composiciones con respecto a la suma aritmética de las contribuciones individuales. Los datos en la tabla anterior indican que las composiciones demuestran de hecho sinergia debido a que la actividad de NO que puede lograrse por la combinación entre aproximadamente una razón en peso de 1:1 a aproximadamente 10:1, preferiblemente de 2,5:1 a 7.5:1 no puede lograrse a ninguna concentración de los componentes individuales. Los datos en la tabla -1 anterior indican que existe actividad óptima entre la catequina galatada (EGCG) y ácido fólico cuando la razón en peso es de entre 1:1 y 10:1, preferiblemente entre 2,5:1 y 7,5:1.

25

30

**REIVINDICACIONES**

1. Composición tópica que comprende:
  - 5 (i) del 0,1 al 5% de ácido fólico;
  - (ii) del 0,1 al 5% de una catequina galatada; y
  - 10 (iii) una base cosméticamente aceptable seleccionada del grupo que consiste en crema, loción, gel y emulsión,en la que la razón en peso de catequina galatada:ácido fólico está en el intervalo de 1:1 a 10:1.
- 15 2. Composición según la reivindicación 1, en la que dicha razón en peso de catequina galatada:ácido fólico está en el intervalo de 2,5:1 a 7,5:1.
3. Composición según la reivindicación 1 ó 2, en la que dicha catequina galatada es galato de epigallocatequina (EGCG) o galato de epicatequina (ECG).
- 20 4. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que dicha catequina galatada se incluye en la composición como un extracto de té verde.
5. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para su uso en la mejora de la microcirculación de la piel.