

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 614 749**

51 Int. Cl.:

A61B 5/103 (2006.01)

A61B 10/00 (2006.01)

G01N 33/50 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.02.2006 E 06300162 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.12.2016 EP 1695663**

54 Título: **Procedimiento para evaluar el potencial de neutralización de radicales libres de la piel**

30 Prioridad:

25.02.2005 FR 0550525

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

01.06.2017

73 Titular/es:

L'ORÉAL (100.0%)

14, rue Royale

75008 Paris, FR

72 Inventor/es:

PRUCHE, FRANCIS;

NGUYEN, QUANG LAN y

HIRT, JEAN-PASCAL

74 Agente/Representante:

TOMAS GIL, Tesifonte Enrique

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 614 749 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

Procedimiento para evaluar el potencial de neutralización de radicales libres de la piel

- 5 [0001] La presente invención se refiere a los procedimientos y dispositivos que permiten evaluar el potencial de neutralización de radicales libres de la piel, incluyendo las mucosas, este potencial siendo también denominado potencial antioxidante.
- 10 [0002] Los radicales libres nocivos son moléculas con una duración de semivida muy corta, de alrededor del nanosegundo al milisegundo, por lo tanto muy inestables y muy reactivas.
- 15 [0003] Se sabe que la capacidad de la piel para protegerse contra agresiones exteriores, tales como la exposición a los rayos UV, la contaminación u otras agresiones biológicas o químicas, puede depender particularmente de su contenido epidérmico en sustancias antioxidantes no enzimáticas capaces de neutralizar los radicales libres.
- [0004] Así, la vitamina E es una sustancia antioxidante conocida para proteger la piel y prevenir su envejecimiento, que se encuentra frecuentemente en las formulaciones cosméticas.
- 20 [0005] Según cada individuo, la concentración en la piel de sustancias antioxidantes tales como las moléculas de función SH, tocoferol, tocotrienol, ácido úrico, vitamina A, ubiquinona 10, espermina, ... puede variar, por ejemplo a causa de la edad, de la naturaleza de la piel, de la alimentación, del grado de exposición a los rayos ultravioleta, etc ...
- 25 [0006] El seguimiento directo los radicales libres es inabordable en las condiciones habituales de acoplamiento.
- [0007] Se ha propuesto utilizar moléculas neutras sensoras llamadas spin trap, que proporcionan como reacción moléculas radicalarias más estables y así medibles por ESR (resonancia de espín electrónico).
- 30 [0008] La formación de peróxidos lipídicos o de peróxidos de escualeno como indicadores del estrés cutáneo se ha estudiado en la publicación *Ultraviolet A induces generation of squalene monohydroperoxide isomers in human sebum and skin surface lipids in vitro and in vivo*: Mudiyanseleage SE, Hamburger M, Elsner P, Thiele JJ/J Invest Dermatol. 2003 Junio; 120(6) 915-22 y en la solicitud de patente alemana DE 10 164 553.
- 35 [0009] El artículo 'Evaluation of free radical scavenger effects of Helianthus annuus extract using new ex vivo stripping methods': P. Mondon et al. en *Cosmetics, aerosols & toiletries in Australia* 20/05/1999 describe un método que consiste en retirar una muestra de capa córnea y extraer las sustancias antioxidantes, que se hacen reaccionar con un reactivo de color que es DPPH (2,2-difenil-1-picrimidrazil), la decoloración de este reactivo estando seguida de un espectrofotómetro a 517 nm.
- 40 [0010] Por su parte, el documento J. Fuchs et al., *Radical Biology and Medecine*, Vol. 34, No.3. pp; 330-336, describe la utilización de este reactivo en el método de resonancia paramagnética electrónica (Electron Paramagnetic Resonance, en inglés) para analizar el contenido en sustancias antioxidantes en forma de isoformas de la vitamina E en una muestra de piel, obtenida por biopsia.
- 45 [0011] El DPPH es un radical libre estable que, en presencia de uno o varios neutralizadores de radicales (radical scavengers), pierde su carácter de radical libre con una disminución de su color.
- [0012] A causa de su carácter estable, el DPPH también se ha utilizado en técnicas de EPR para medir la actividad de neutralización de radicales libres de la epidermis humana, como se describe en el artículo 'HPLC analysis of vitamin E isoforms in human epidermis: Correlation with minimal erythema dose and free. radical scavenger activity': Fuchs J, Weber, S, Podda M, Groth N, Herrling T, Packer L, Kaufmann R, *Free radic. Biol. Med.* 2003 Feb. 1; 34 (3) : 330-6.
- 50 [0013] Las técnicas de análisis actuales que utilizan DPPH son relativamente complejas y costosas.
- 55 [0014] Se conoce el uso de parches con el fin de detectar la presencia de analitos, además de antioxidantes, sobre la piel.
- [0015] La patente EP 1262559 describe un parche que permite detectar la presencia de lactato en la piel mediante una primera reacción con una enzima presente en el parche que lleva a la formación de piruvato o de otro subproducto. Estos productos se pueden detectar en reacción con otro reactivo también presente en el parche.
- 60 [0016] La patente US 4595011 describe un dosímetro transdérmico en forma de un parche que recoge las sustancias contenidas en el sudor y hace reaccionar este último con los reactivos presentes en el parche, produciendo un cambio de color del parche.
- 65

- 5 [0017] Por consiguiente, existe una necesidad de beneficiarse de un medio que permita evaluar fácilmente el potencial antioxidante de la piel, con el objetivo, por ejemplo, de determinar si la piel dispone de recursos suficientes de sustancias neutralizadoras de radicales libres y si una aportación suplementaria de sustancias antioxidantes puede ser deseable.
- [0018] La invención tiene como objetivo principal responder a esta necesidad.
- 10 [0019] La invención tiene como objeto un procedimiento para evaluar el potencial de neutralización de radicales libres de la piel, como se define en las reivindicaciones, que comprende los pasos consistentes en:
- extraer de manera no invasiva sobre la piel al menos un analito neutralizador de radicales libres presente en la superficie de ésta,
 - permitir al analito así extraído reaccionar en contacto con un reactivo presente sobre un substrato y capaz de producir una reacción observable ópticamente en presencia del analito.
- 15 [0020] La invención favorece una concentración relativamente elevada de analitos y de reactivo por el hecho de que éstos pueden estar presentes en grosores débiles en el momento de su puesta en contacto, lo que facilita la detección de un cambio de color.
- 20 [0021] La extracción puede efectuarse directamente aplicando el substrato sobre la zona de la piel que comprende el analito que se desea extraer.
- [0022] Este cambio de color se puede detectar de forma visual y/o a través de un aparato, por ejemplo un colorímetro o de otro modo, particularmente con ayuda de un escáner.
- 25 [0023] Se utiliza una escala colorimétrica con el fin de facilitar la detección visual del cambio de color.
- [0024] La invención permite beneficiarse de un medio que es sencillo de poner en práctica para evaluar el potencial de neutralización de radicales libres de la piel.
- 30 [0025] La extracción incluye, por ejemplo, la solubilización de uno o varios analitos neutralizadores de radicales libres presentes en la superficie de la piel con un líquido de extracción en el cual el reactivo es preferiblemente soluble, por ejemplo un líquido que comprende un alcohol, particularmente una solución de etanol.
- 35 [0026] El líquido que se usa para la extracción puede impregnar, al menos durante la extracción, un soporte poroso, lo que puede simplificar la operación de extracción y, en su caso, el acondicionamiento de este líquido. El soporte poroso es, por ejemplo, un soporte que comprende fibras, siendo por ejemplo acolchado.
- [0027] Por ejemplo, el soporte se monta en el extremo de un tubo. Este último puede, en su caso, ser hueco y contener el líquido de extracción.
- 40 [0028] El substrato mencionado, que lleva el reactivo, puede ser diferente del soporte poroso.
- [0029] El substrato puede ser particularmente una membrana, ésta pudiendo ser porosa, preferiblemente con una porosidad comprendida entre 0,4 y 0,5 μm , por ejemplo del orden de 0,45 μm .
- 45 [0030] Preferiblemente, el substrato cargado con el reactivo está seco. En una variante, el substrato cargado con el reactivo está acondicionado en estado húmedo, el substrato estando, por ejemplo, impregnado con el líquido de extracción.
- 50 [0031] El material del substrato se elige, por ejemplo, de entre la poliamida, la celulosa, el acetato de celulosa, el politetrafluoroetileno, el policarbonato, la poliéter sulfona, el fluoruro de polivinilidona.
- 55 [0032] La concentración del reactivo sobre el substrato es, por ejemplo, de 0,2 mg a 20 mg por 100 cm^2 , preferiblemente aproximadamente 2 $\text{mg}/100 \text{cm}^2$, particularmente cuando el substrato es una membrana porosa.
- [0033] El reactivo incluye, por ejemplo, DPPH que presenta un carácter de radical libre estable y capaz de producir una reacción observable ópticamente en presencia de una sustancia neutralizadora de radicales libres.
- 60 [0034] El substrato preferiblemente está cargado positivamente.
- [0035] El reactivo puede haber sido depositado sobre el substrato mediante pulverización, serigrafía, chorro de tinta o impregnación, y haber sufrido en su caso un secado más o menos pronunciado.
- 65 [0036] Antes de efectuar la extracción, se puede delimitar sobre la piel el contorno de la superficie sobre la cual se debe realizar la extracción, con el fin de tratar una superficie de piel predeterminada durante la operación de

extracción y mejorar así la precisión de la evaluación y facilitar la comparación de los resultados.

5 [0037] El contorno de la región sobre la cual se realiza la extracción se define, por ejemplo, aplicando sobre la piel una máscara, particularmente una máscara adhesiva, esta máscara siendo por ejemplo una hoja de papel revestida por una cara con un adhesivo que permite el reposicionamiento.

[0038] Una tal máscara incluye, por ejemplo, una ventana de dimensiones predefinidas.

10 [0039] Cuando el líquido de extracción está contenido en un tubo, este último puede presentar un extremo divisible, el cual se rompe en el momento del uso de manera que permite el flujo del líquido de extracción hacia el soporte poroso, presente en el otro extremo del tubo.

15 [0040] En la realización práctica de la invención, el soporte poroso se utiliza para recoger el o los analitos de la superficie de la piel, particularmente siendo puesto en contacto con ésta mientras está impregnado con el líquido de extracción, y luego el soporte se pone en contacto con el substrato cargado con el reactivo.

20 [0041] También se describe un substrato cargado con un reactivo que presenta un carácter de radical libre estable, capaz de producir una reacción observable ópticamente en presencia de por lo menos un analito de la piel neutralizador de radicales libres.

[0042] El substrato puede contener una membrana, particularmente una membrana porosa, y el reactivo puede ser inicialmente de color.

25 [0043] El reactivo incluye, por ejemplo, DPPH.

[0044] El substrato puede ser un material polimérico, particularmente elegido de entre la poliamida, la celulosa, el acetato de celulosa, el politetrafluoroetileno, el policarbonato, la poliéter sulfona, el fluoruro de polivinilidona.

30 [0045] El substrato presenta ventajosamente una resistencia a los solventes tales como el etanol. La porosidad del substrato puede facilitar el enganche de las macromoléculas biológicas. El substrato puede contener una matriz fibrosa de un no tejido, por ejemplo de fibras de poliéster, que le confiere una resistencia mecánica mejorada. Esta matriz fibrosa se puede sumergir en NYLON[®] 6,6, como en el caso de las membranas BIODYNE de la empresa PALL.

35 [0046] El substrato puede ser seco.

[0047] El substrato se puede cargar solamente de manera superficial con reactivo o, alternativamente, más profundamente con reactivo, por ejemplo después de una impregnación completa con el reactivo

40 [0048] También se describe un kit que permite evaluar el potencial de neutralización de radicales libres de la piel, este kit que comprende al menos un substrato como se ha definido anteriormente.

45 [0049] El kit incluye ventajosamente un elemento de extracción que permite extraer de manera no invasiva al menos un analito neutralizador de radicales libres presente en la superficie de la piel, con el fin de hacerlo reaccionar con el reactivo

[0050] El elemento de extracción puede estar configurado para permitir el acondicionamiento de un líquido que se usa para la extracción, antes del uso.

50 El elemento de extracción, por tanto, se presenta por ejemplo en forma de un tubo hueco lleno del líquido de extracción, provisto de un extremo divisible y, en el otro extremo, de un soporte poroso al cual el líquido de extracción puede pasar después de la rotura del extremo divisible.

55 [0051] El kit puede contener una escala colorimétrica, así como un medio que permite delimitar una zona de piel sobre la cual se debe realizar la extracción, por ejemplo una máscara, particularmente una máscara adhesiva.

[0052] También se describe un procedimiento para resaltar el efecto de una acción sobre el potencial de neutralización de los radicales libres de la piel, en el cual:

- 60
- a) se determina el potencial de neutralización de los radicales libres de la piel, por ejemplo mediante la realización del procedimiento como se ha definido anteriormente,
 - b) se efectúa una acción susceptible de actuar sobre este potencial,
 - c) se determina de nuevo este potencial después de esta acción, y se evalúa la incidencia de ésta sobre el potencial por comparación de los resultados antes y después de la acción.

65 [0053] Esta última incluye, por ejemplo, la aplicación sobre la piel de un producto y/o la ingestión de por lo menos un complemento alimenticio, o la exposición a un ambiente particular, por ejemplo el sol.

- 5 [0054] El efecto de los rayos ultravioleta sobre el potencial de neutralización de radicales libres de la piel se puede así poner de manifiesto, y los resultados se pueden utilizar por ejemplo en una campaña de sensibilización de las personas respecto a los efectos del sol y/o para promover la venta de productos para disminuir el estrés cutáneo ligado al sol.
- [0055] El kit mencionado puede contener además, cuando proceda, un producto para aplicar sobre la piel, por ejemplo un producto de protección solar o para retrasar el envejecimiento cutáneo.
- 10 [0056] En un ejemplo de realización de la invención, el potencial de neutralización de radicales libres de la piel se evalúa antes y después de la exposición a una fuente de estrés cutáneo, por ejemplo el sol, en un caso en el que la piel no está protegida y en otro caso en el que la piel está protegida, y los resultados se comparan con el fin de resaltar el efecto protector del producto aplicado sobre la piel.
- 15 [0057] También se describe un procedimiento en el cual se evalúa el potencial de neutralización de radicales libres de la piel llevando a cabo un procedimiento de evaluación como se ha definido anteriormente y en el cual se transmite a continuación un consejo relativo a un producto y/o a un tratamiento destinado a tener un efecto en este potencial, en función del resultado de la evaluación.
- 20 [0058] También se describe un procedimiento de formulación de una composición cosmética o dermatológica personalizada, en el cual se evalúa el potencial de neutralización de radicales libres de la piel de una persona y se determina para esta persona el contenido en la composición de al menos una sustancia antioxidante en función del potencial así determinado.
Este antioxidante, por ejemplo, se elige de entre: vitamina E, (alfa tocoferoles e isómeros), ácido ascórbico, coenzima Q, ácido úrico, carotenoides, flavonoides y polifenoles, aminoindoles y melatonina, ácido dihidrolipoico, etc
- 25 ...
- [0059] La invención podrá ser comprendida mejor con la lectura de la descripción detallada siguiente, de ejemplos de realización de ésta, y con la observación del dibujo anexo, en el cual:
- 30 – la figura 1 representa de manera esquemática, en perspectiva, un ejemplo de kit,
– las figuras 2 y 3 ilustran el uso del kit,
– la figura 4 ilustra el uso de un aparato para detectar un cambio de color,
– la figura 5 ilustra el tratamiento a distancia de datos resultantes de la evaluación del potencial de neutralización de radicales libres de la piel,
- 35 – la figura 6 representa un conjunto que comprende el kit de la figura 1 y un producto asociado, y las figuras 7 y 8 representan dos variantes de realización.
- [0060] El kit 1 representado en la figura 1 incluye un elemento de extracción 2 destinado a extraer uno o varios analitos de la superficie de la piel y un reactivo 3 que permite producir en presencia de este analito o analitos una reacción observable ópticamente.
- 40 [0061] El elemento de extracción 2 incluye, por ejemplo, un tubo 5 lleno de un líquido de extracción L, este tubo 5 estando provisto en un extremo de un soporte poroso 6 y en el otro extremo de una parte divisible 7.
Cuando esta última se rompe, se crea una toma de aire en el tubo 5 por encima del líquido L y este último puede pasar al interior del soporte 6.
- 45 [0062] Los ejemplos de elementos de extracción que pueden resultar convenientes se describen en la solicitud de patente US 2004/0158188 y pueden ser fabricados por la empresa norteamericana SWAB PLUS.
- 50 [0063] El elemento de extracción 2 puede contener en el tubo 5, por encima del soporte 6, un tapón 9 de un líquido no miscible con el líquido de extracción, para aislar el líquido de extracción L del exterior.
Este tapón 9 es, por ejemplo, un menisco de un aceite de silicona, capaz de evacuarse con el líquido de extracción L cuando este último sale del tubo 5.
- 55 [0064] El soporte 6 es, por ejemplo, una boquilla acolchada.
- [0065] El líquido de extracción L es, por ejemplo, una solución de etanol a 10 %.
- 60 [0066] El reactivo 3 es, por ejemplo, DPPH depositado sobre un sustrato 8 elegido de modo que no afecte a su reactividad y preferiblemente poroso para facilitar su impregnación con el reactivo
- [0067] En el ejemplo considerado, el sustrato 8 es una membrana resistente a los solventes orgánicos tales como el etanol y que no contiene rastros de peróxidos susceptibles de disminuir la sensibilidad del reactivo a las sustancias antioxidantes y que no contiene sustancias antioxidantes que podrían reducir el reactivo y afectar a la
- 65 detección.

- 5 [0068] El substrato 8 es, por ejemplo, una membrana de poliamida, por ejemplo una membrana de NYLON® 6,6 cargada positivamente.
La membrana presenta una superficie porosa con un tamaño de poros de por ejemplo 0,2, 0,45 o 1,2 µm, preferiblemente de 0,45 µm.
- [0069] El grosor de la membrana es por ejemplo de 6,0 mils más o menos 0,5 mils.
- 10 [0070] Algunas membranas que pueden ser convenientes son comercializadas por la empresa americana PALL CORPORATION con las referencias comerciales BIODYNE B o C.
- [0071] La membrana 8 puede presentarse, por ejemplo, en forma de una pastilla independiente o estar, como en el ejemplo ilustrado, dispuesta al lado de testigos de color 14 dentro de una escala colorimétrica 13 que permite evaluar más fácilmente un cambio de color de ésta.
- 15 [0072] Los testigos de color 14 están asociados, por ejemplo, a los identificadores 26 alfanuméricos u otros, permitiendo distinguirlos.
- 20 [0073] El kit 1 puede contener unas instrucciones 27 que informan al usuario del kit 1 sobre la manera de llevar a cabo la prueba y sobre el análisis que conviene hacer de los resultados de la evaluación, en función, por ejemplo, del identificador 26 correspondiente al cambio de coloración observado.
- [0074] En un ejemplo de realización de la invención, la membrana 8 se presenta en forma de una pastilla cuadrada de 2 cm de lado, realizada a partir de una hoja de 10 cm de lado de BIODYNE B o C, previamente cargada con el reactivo 3 mediante el depósito de 2 ml de una solución de DPPH de la empresa alemana SIGMA ALDRICH CHEMIE, STEINHEIN, a una concentración de 100 mg/100 ml de etanol a 96°, y luego agitada y secada bajo campana a temperatura ambiente durante dos horas.
- 25 [0075] La concentración de DPPH en la membrana está comprendida por ejemplo entre 0,2 mg y 20 mg por 100 cm², siendo preferiblemente del orden de 2 mg/100 cm².
- 30 [0076] El kit 1 incluye además, en el ejemplo considerado, una máscara 10, por ejemplo de papel de tipo POST IT®, de la cual una cara está revestida con un adhesivo sensible a la presión.
Esta máscara 10 está atravesada por una ventana 11.
- 35 [0077] Cuando se usa, la máscara 10 se aplica sobre la región sobre la cual debe realizarse la extracción, por ejemplo la cara en el ejemplo de la figura 2.
- [0078] El extremo divisible 7 se rompe y el líquido de extracción L pasa al soporte 6.
Este último se pone en contacto con la zona de piel delimitada por la ventana 11 y los analitos presentes en la superficie de ésta son extraídos, por ejemplo haciendo realizar al soporte 6 un barrido horizontal y luego vertical de la zona de extracción.
- 40 [0079] A continuación, el soporte 6 se pone en contacto por ejemplo durante 10 segundos con el substrato 8 cargado con el reactivo 3, tal y como se ilustra en la figura 3.
- 45 [0080] En presencia de una solución a 10 % de etanol, el substrato 8 es por ejemplo rojo/rosado.
En presencia de un antioxidante lipófilo como por ejemplo la vitamina E, se observa una decoloración, ésta siendo proporcional a la cantidad de vitamina E. La decoloración observada se puede evaluar por comparación con los testigos de color 14, después de un tiempo de espera predeterminado, por ejemplo de 60 a 120 segundos.
- 50 [0081] La evaluación del potencial de neutralización de radicales libres de la piel puede ser útil por ejemplo para resaltar la necesidad de un tratamiento o el efecto de un tratamiento en la piel.
- 55 [0082] El kit 1 se utiliza por ejemplo en un punto de venta o en un instituto de belleza o en la consulta de un dermatólogo para aconsejar a un consumidor o un paciente sobre la necesidad eventual de un tratamiento.
En tal caso, se puede proponer, en vista del resultado de la evaluación, uno o varios productos para aplicar sobre la piel o para ingerir.
- 60 [0083] El o los productos para ingerir pueden por ejemplo contener más de 50 mg de vitamina C, más de 5 mg de vitamina E, más de 100 mg de polifenoles de uva o de té, más de 1 µg de selenio y/o más de 1mg de betacaroteno.
- [0084] Se puede proponer, por ejemplo, una fórmula oral correspondiente a una dosis diaria de 60 mg de vitamina C, 10 mg de vitamina E, 200 mg de polifenoles de uva o de té, 2 µg de selenio y 2 mg de betacaroteno.
- 65 [0085] El kit también puede utilizarse en el domicilio del consumidor.

En tal caso, el consumidor puede proceder él mismo a la extracción y luego a la detección de un cambio de color del reactivo.

5 [0086] Independientemente de si la evaluación se efectúa a domicilio o no, se puede utilizar un aparato para facilitar la detección de un cambio de color del reactivo.

[0087] Una medida de la absorción a una longitud de onda predeterminada, por ejemplo 517 nm, puede por ejemplo permitir detectar una variación del color del reactivo.
También se puede utilizar un colorímetro.

10 [0088] En un ejemplo de realización de la invención, la comparación del color del sustrato 8 con el de los testigos de color 14 se realiza con la ayuda de un escáner de color 20, este escáner estando por ejemplo integrado en una impresora a color multifunción, tal y como se ilustra en la figura 4.

15 [0089] Esta impresora puede estar conectada a un microordenador o terminal móvil no representado, encargado de analizar la imagen así digitalizada con el fin de detectar el cambio de color.

[0090] El escáner también puede estar conectado, directamente o no, a una red informática 21, por ejemplo Internet, y haber descargado por esta red 21 un programa que permite efectuar esta comparación, tal y como se ilustra en la
20 figura 5.

[0091] En su caso, el tratamiento de los datos puede ser realizado por un servidor distante 22, al cual se transmite por ejemplo la imagen digitalizada.

25 [0092] Este servidor 22 a continuación puede transmitir información al consumidor, particularmente un resultado de un análisis, el cual puede ir acompañado por la prescripción de un producto, incluso por el suministro de un producto personalizado, el servidor 22 por ejemplo habiendo comunicado, por ejemplo mediante la red 2, la información a un centro de fabricación 23.

30 [0093] El producto personalizado incluye por ejemplo una sustancia antioxidante cuya concentración está en función del potencial de neutralización de radicales libres de la piel previamente evaluada.

[0094] Esta sustancia se elige por ejemplo de entre la vitamina E, la vitamina C, el NDGA, los tioles y sus derivados (glutatión; N-acetilcisteína), los oligómeros procianidólicos (OPC), los flavonoides, las catequinas, las epicatequinas
35 así como sus derivados gálicos, los polifenoles como por ejemplo el tirosol, el hidroxitirosol, el sesamol, el carnosol, el gamma orizanol, los ácidos tales como el ferúlico, cafeico, rosmarínico, carnósico, etc ...

[0095] La invención también puede ser puesta en práctica para evaluar el efecto de un tratamiento sobre la piel.

40 [0096] El kit 1 se propone por ejemplo en acompañamiento de un producto P para aplicar sobre la piel, siendo por ejemplo comercializado con este producto, tal y como se ilustra en la figura 6.

[0097] El usuario puede por ejemplo evaluar el potencial de neutralización de los radicales libres de la piel antes del uso del producto y luego después de éste comparando los resultados para determinar el efecto del tratamiento en
45 este potencial.

[0098] El kit de evaluación también puede ser utilizado con el fin de determinar la posología de un producto con un efecto sobre el potencial antioxidante de la piel, por ejemplo un número de aplicaciones del producto por intervalo de tiempo o una cantidad que se ha de aplicar.

50 [0099] El kit de evaluación 1 también puede ser utilizado para determinar las zonas del cuerpo que se han de tratar, haciendo ver, por ejemplo, que ciertas zonas del cuerpo tienen un potencial de neutralización de radicales libres más elevado que otras, estas últimas teniendo por consiguiente una necesidad mayor de tratamiento.

55 [0100] La invención también puede ser útil para resaltar el efecto de un ambiente en la piel, por ejemplo para evaluar el estrés cutáneo inducido por la exposición al sol.

[0101] Dos evaluaciones de zonas del cuerpo, respectivamente expuestas y no expuestas al sol, se pueden realizar y se pueden comparar sus resultados.

60 Tal comparación puede mostrar el estrés cutáneo más o menos importante según cada individuo generado por el sol.

[0102] Un identificador determinado durante la evaluación del potencial de la neutralización de los radicales libres de la piel o de la evaluación de la resistencia de la piel a un estrés cutáneo puede figurar en productos o tablas de correspondencia asociadas a los productos, con el fin de permitir a un usuario conocedor del potencial antioxidante de su piel o la resistencia de ésta a un estrés generador de radicales libres elegir productos adaptados.

65

[0103] El uso de una membrana como vehículo para el reactivo 3 sólo constituye un ejemplo entre otros de sustrato.

5 [0104] Por ejemplo, el soporte 6 del elemento de extracción 2 también se puede utilizar como sustrato para el reactivo, tal y como se ilustra en la figura 7.

[0105] El elemento de extracción 2 puede entonces ser utilizado de la siguiente manera.

10 [0106] El extremo divisible 7 se rompe, lo que permite al líquido de extracción impregnar el soporte 6, y luego éste se pone en contacto de la piel para recoger los analitos susceptibles de reaccionar con el reactivo 3.

[0107] Entonces se observa un cambio de color eventual directamente sobre el soporte 6.

15 [0108] Este último puede ser diferente de una boquilla acolchada según convenga, para facilitar la detección visual del cambio de color.

[0109] El reactivo 3 también puede estar presente, tal y como se ilustra en la figura 8, en una toallita, pastilla o parche, un tal sustrato estando preimpregnado por el líquido de extracción y acondicionado de manera hermética en una bolsita 30.

20 [0110] Para utilizar tal elemento de extracción, el usuario extrae el sustrato, que también es el soporte del líquido de extracción, de la bolsita 30, y luego aplica el sustrato sobre la piel para recoger los analitos que se encuentran en su superficie.

25 [0111] La reacción de color se observa en el sustrato.

[0112] En toda la descripción, incluidas las reivindicaciones, la expresión «que comprende un» debe ser entendida como sinónima de «que comprende al menos un/a», excepto si se especifica lo contrario.

30

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para evaluar el potencial antioxidante de la piel, que comprende los pasos consistentes en:
- 5 - retirar de manera no invasiva sobre la piel al menos un analito neutralizador de radicales libres presente en la superficie de ésta, utilizando un soporte poroso (6), para recoger el o los analito(s) de la superficie de la piel, dicho soporte poroso estando impregnado con un líquido de extracción (L), donde la extracción comprende la solubilización del o de los analito(s) con el líquido de extracción (L),
 - después, poner dicho soporte poroso en contacto con un sustrato (8) diferente del soporte poroso, dicho sustrato estando cargado de un reactivo (3) que comprende DPPH, y
 - 10 - permitir al analito así extraído reaccionar en contacto con el reactivo (3) presente sobre dicho sustrato (8), dicho sustrato siendo capaz de producir una reacción observable ópticamente en presencia del analito,
- caracterizado por el hecho de que** se utiliza una escala colorimétrica (13) durante la detección visual de un cambio de color del reactivo.
- 15 2. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado por el hecho de que** el reactivo (3) es soluble en el líquido de extracción.
3. Procedimiento según la reivindicación 1 o 2, **caracterizado por el hecho de que** el líquido de extracción incluye un alcohol, particularmente etanol.
- 20 4. Procedimiento según la reivindicación 3, **caracterizado por el hecho de que** el soporte poroso (6) incluye fibras.
5. Procedimiento según las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado por el hecho de que** el soporte poroso (6) está dispuesto en el extremo de un tubo.
- 25 6. Procedimiento según la reivindicación 5, **caracterizado por el hecho de que** el soporte (6) es acolchado.
7. Procedimiento según la reivindicación 5 o 6, **caracterizado por el hecho de que** un tubo (5) contiene el líquido de extracción.
- 30 8. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, **caracterizado por el hecho de que** el sustrato (8) es una membrana.
9. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, **caracterizado por el hecho de que** el sustrato (8) es poroso, siendo particularmente realizado de un material elegido entre la poliamida, la celulosa, el acetato de celulosa, el politetrafluoroetileno, el policarbonato, la poliéter sulfona, el fluoruro de polivinilidona.
- 35 10. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, **caracterizado por el hecho de que** antes de efectuar la extracción, el contorno de la superficie sobre la cual se debe realizar la extracción se delimita sobre la piel.
- 40 11. Procedimiento según la reivindicación precedente, **caracterizado por el hecho de que** dicho contorno se delimita aplicando sobre la piel una máscara (10), particularmente una máscara adhesiva.
- 45 12. Procedimiento según la reivindicación 7, **caracterizado por el hecho de que** el tubo (5) presenta un extremo divisible (7), el cual se rompe en el momento del uso, de manera que permita el flujo del líquido de extracción hacia el soporte poroso.

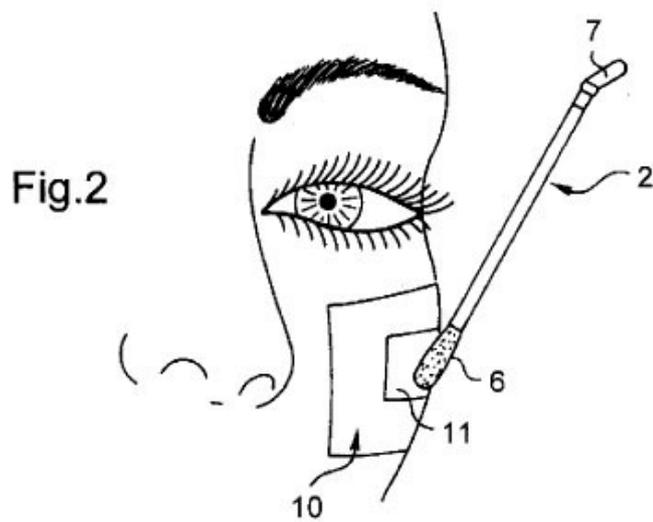
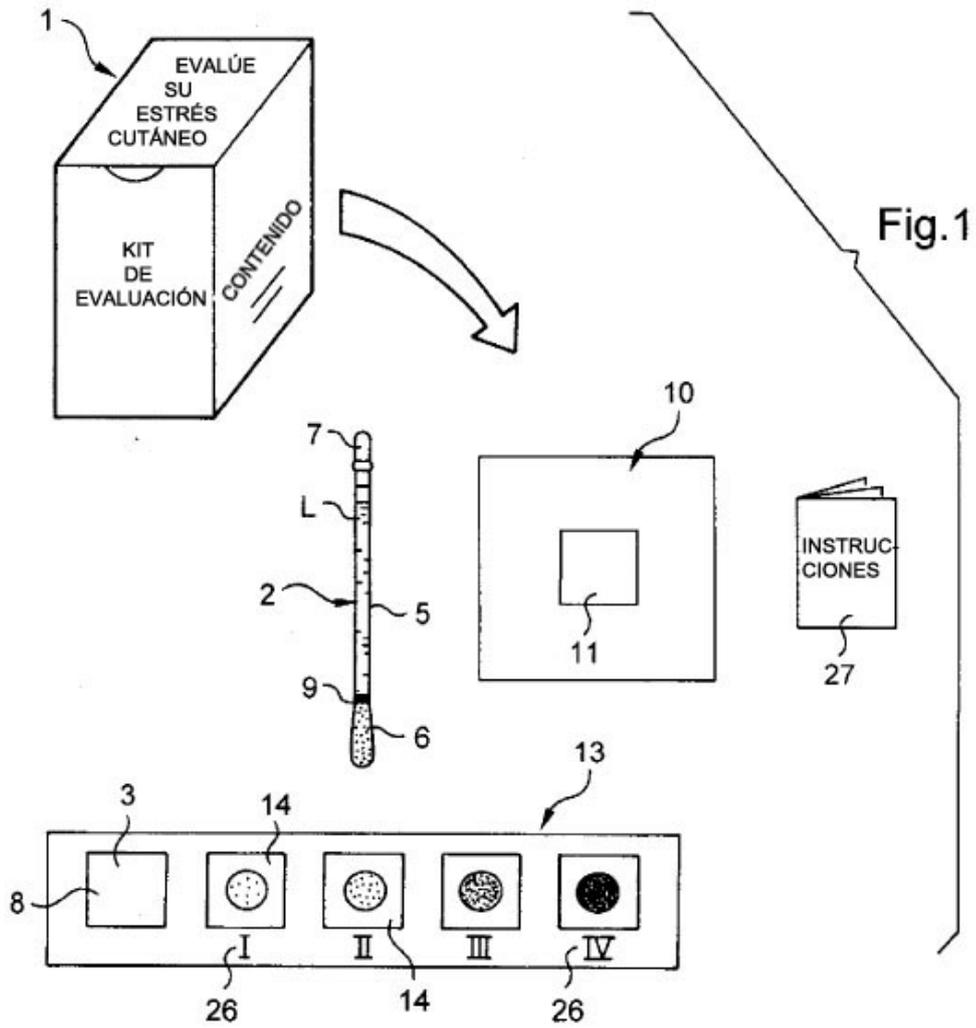


Fig.3

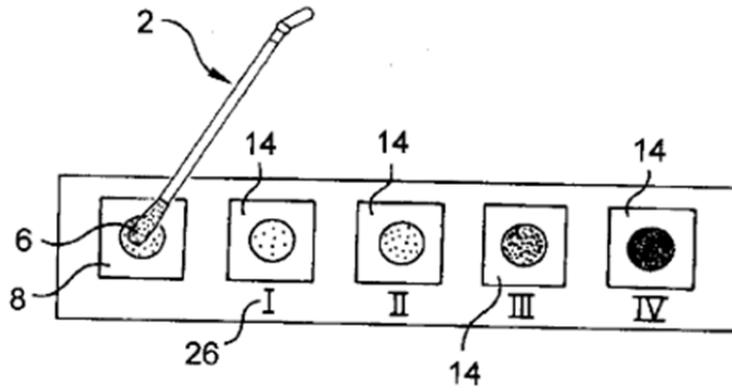


Fig.4

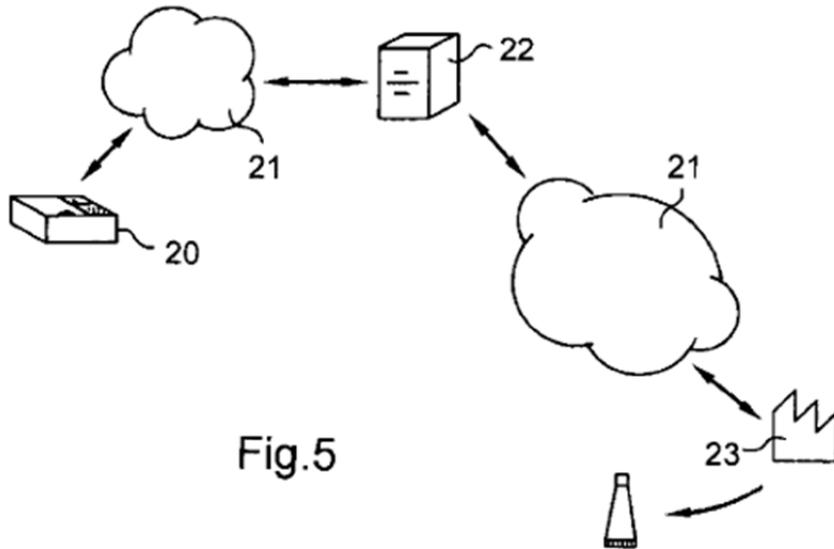
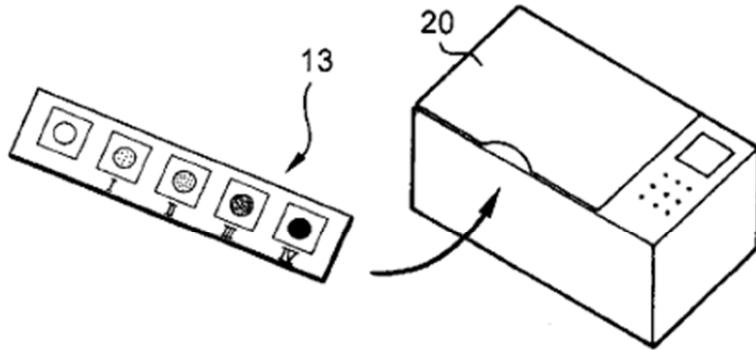


Fig.5

