(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 659 453**

(51) Int. CI.:

A61K 8/73 (2006.01)
A61Q 17/00 (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01)
A61K 8/97 (2007.01)
A61K 8/99 (2007.01)
A61K 36/28 (2006.01)
A61K 36/062 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.12.2016 E 16205177 (5)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.01.2018 EP 3181142**

(54) Título: **Composiciones tópicas que comprenden Pichia anomala y extractos de raíces de achicoria**

(30) Prioridad:

17.12.2015 US 201562268618 P
12.12.2016 US 201615375365

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
15.03.2018

(73) Titular/es:

JOHNSON & JOHNSON CONSUMER INC. (100.0%)
199 Grandview Road
Skillman, NJ 08558, US

(72) Inventor/es:

BALLESTEROS, ANN THEODORE;
MAHMOOD, KHALID;
MOREIRA, LILIAM A.;
PARSA, RAMINE y
SOUTHALL, MICHAEL D.

(74) Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

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).

Composiciones tópicas que comprenden Pichia anomala y extractos de raíces de achicoria

Descripción

Campo de la invención

[0001] La presente invención proporciona un método de tratamiento de la piel mediante la aplicación tópica a la piel de una combinación de un extracto de *Pichia anomala* y un extracto de la raíz de achicoria. Además, una composición tópica que comprende una combinación de un extracto de *Pichia anomala* y se proporciona un extracto de la raíz de achicoria.

Antecedentes de la invención

[0002] La piel humana se compone de dos compartimentos, a saber un compartimiento superficial, la epidermis, y un compartimiento profundo, la dermis. La piel humana está sometida a ciertos procesos de envejecimiento.

[0003] La epidermis está en contacto con el ambiente externo. Su papel consiste en proteger el cuerpo contra los ataques de deshidratación y externos, ya sea de carácter químico, mecánico, físico o infeccioso. La epidermis humana natural está compuesta principalmente de tres tipos de células: queratinocitos, que forman la inmensa mayoría, melanocitos y células de Langerhans. Cada uno de estos tipos celulares contribuye por sus funciones específicas al papel esencial desempeñado por la piel en el cuerpo.

[0004] La dermis proporciona a la epidermis un soporte sólido. También es su fuente de nutrientes. Se compone principalmente de fibroblastos y de una matriz extracelular. También comprende los leucocitos, mastocitos o los macrófagos del tejido. También es atravesada por vasos sanguíneos y fibras nerviosas.

[0005] La matriz extracelular de la dermis se compone de proteínas que pertenecen a varias familias principales: colágenos, glicoproteínas de matriz distintas de los colágenos (fibronectina, laminina), elastina, proteoglicanos y glicosaminoglicanos (GAG) en la forma libre (es decir, no unida a una proteína), que incluye ácido hialurónico. Las GAG están predominantemente sintetizadas por los fibroblastos y se sabe que el proceso de envejecimiento de la piel provoca una disminución de estas actividades metabólicas, lo que resulta en una disminución en la GAG de la matriz extracelular de la dermis, y una disminución en el crecimiento celular, lo que resulta en un cambio perjudicial en las propiedades mecánicas de la piel, en particular, su firmeza, su elasticidad, su tonicidad y/o su flexibilidad.

[0006] Se ha demostrado que la piel envejecida se caracteriza por niveles reducidos de ácido hialurónico. El ácido hialurónico se encuentra en la piel joven en la periferia de colágeno y fibras de elastina y donde se cruzan estos tipos de fibras. En la piel envejecida, desaparecen tales conexiones con ácido hialurónico. Las disminuciones en los niveles de ácido hialurónico, que contribuyen a su disociación con el colágeno y la elastina, así como unión de agua reducida, pueden estar implicadas en los cambios observados en la piel envejecida, incluyendo las arrugas, elasticidad alterada, reducción de turgencia y disminución de la capacidad para apoyar la microvasculatura de la piel. Como una de las GAG primarias, el ácido hialurónico se puede unir 1000 veces su peso en agua, y puede ayudar a la piel a retener y mantener el agua. Se encuentra en todos los tejidos conectivos y se produce principalmente por fibroblastos y queratinocitos en la piel. El ácido hialurónico se localiza no sólo en la dermis, sino también en los espacios intercelulares epidérmicos, especialmente la capa espinosa media, pero no en el estrato córneo (SC) o estrato granuloso. La piel envejecida, que es menos rolliza que la piel joven, se caracteriza por niveles disminuidos de ácido hialurónico.

[0007] Los principales signos clínicos del envejecimiento cutáneo son en particular la aparición de líneas finas y arrugas, que aumentan con la edad. Estas arrugas pueden ser profundas, moderadas o superficiales, y afectan, en particular, los pliegues nasolabiales, la región periorbital, el contorno de los labios y la frente (líneas glabelares); estas arrugas y las líneas finas se reflejan por una depresión o pliegues en la superficie de la piel.

[0008] Se han propuesto métodos diferentes para la lucha contra las arrugas y las líneas finas, incluyendo el uso de productos de cuidado de la piel que comprenden agentes activos cosméticos (agentes activos antiarrugas, hidratantes, reafirmantes o de apriete, en particular). Con este fin, el ácido hialurónico ha sido propuesto como agente activo capaz de ser utilizado en numerosas aplicaciones cosméticas, en particular como agente anti-envejecimiento activo. También juega un papel importante en la hidratación y la elasticidad de la piel.

[0009] Sin embargo, se ha encontrado que el ácido hialurónico tiene una vida útil limitada sobre la piel, pero muy particularmente cuando se inyecta. Esto se debe a que hialuronidasas son enzimas presentes en la piel que descomponen el ácido hialurónico y por lo tanto reducen su impacto en las composiciones cosméticas. La descomposición del ácido hialurónico se lleva a cabo en virtud de la acción combinada de tres hialuronidasas diferentes. La vida media del ácido hialurónico, debido a la muy rápido catabolismo de la molécula, varía de un tejido a otro; a modo de indicación, es aproximadamente un día a la dermis y epidermis. Por otra parte, la penetración de ácido hialurónico exógeno en la piel ha demostrado ser difícil de lograr por aplicación tópica. Se utiliza con éxito la administración de ácido hialurónico exógeno por inyección, sin embargo, como un agente de relleno dérmico

temporal en procedimientos de aumento de tejidos blandos.

[0010] *Pichia* es un género de levaduras en la familia Saccharomycetaceae. Se conocen más de 100 especies de este género. Las especies más conocidas incluyen *Pichia anomala, Pichia guilliermondii, Pichia norvegensis,* y *Pichia ohmeri.*

[0011] *Pichia anomala* (anteriormente llamado *Hansenula anomala)* se puede encontrar en la leche cruda y queso. Los extractos de levaduras del género *Pichia* son ricos en mananos, polisacáridos compuestos de monómeros de manosa. Se conoce que *Pichia anomala* y mananos se utilizan en el tratamiento de envejecimiento de la piel. Véase, por ejemplo, FR 2938768, FR 2906719, FR 2897266 y FR 2976490.

[0012] PRO-LIPISKIN® es un ingrediente cosmético comercialmente disponible que contiene extracto de *Pichia anomala.* Es producido por la cepa de Pichia aislada a partir de caña de azúcar. Está disponible en Silab-France.

[0013] Achicoria común, *Cichorium intybus,* es una planta herbácea algo leñosa, perenne. La achicoria se cultiva extensamente para su uso para forraje y alimentos. Sus partes aéreas se consumen en ensaladas.

[0014] Achicoria raíz (*Cichorium intybus* L.) se ha cultivado en Europa como sustituto del café. Las raíces se cuecen al horno, suelo, y se utilizan como sustituto del café y el aditivo. El extracto de raíz de achicoria es un suplemento o alimento dietético aditivo producido por la mezcla seca, la raíz de achicoria molida con agua, y la eliminación de la fracción insoluble por filtración y centrifugación. Otros métodos pueden ser usados para eliminar pigmentos y azúcares. Se utiliza como una fuente de fibra soluble, la inulina específicamente. La raíz de achicoria fresca puede contener entre 13 y 23% de inulina, en peso total. La achicoria también se utiliza convencionalmente para sus cualidades medicinales coleréticas, de colagogo, diuréticas, depurativas y digestivas.

[0015] Extractos de achicoria además se han utilizado en los productos cosméticos, en particular para un efecto de pigmentación tal como se describe en el documento EP-1.707.191 o EP-2.277.502, un efecto anti-inflamatorio tal como se describe en el documento EP-1.962.875, un efecto anti-radical para prevenir envejecimiento cutáneo como se describe en FR-2626469, o en una mezcla con otras plantas en productos cosméticos de adelgazamiento o suavizantes.

[0016] US 2013/0237496 da a conocer la utilización cosmética de un hidrolizado de raíz de *Cichorium intybus que* comprende oligofructosanos como un ingrediente activo en una composición con la aplicación cutánea, para actuar de una manera similar a la vitamina D en las células de la piel, en particular para la estimulación de las rutas de señalización reguladas por el receptor de la vitamina D en las células cutáneas.

[0017] VEREDINE®SP es una solución acuosa que contiene 5,50% de extracto de raíz de achicoria disponible comercialmente como un ingrediente cosmético de Silab-France.

[0018] US 8.652.532 da a conocer una composición de alimentos ingerible por vía oral o composición cosmética que contiene glucosamina generada a partir de materiales de plantas a través de un proceso de secado. El material vegetal puede ser la raíz de la achicoria. La composición cosmética se puede administrar por vía tópica y se puede usar para retardar el proceso de envejecimiento de la piel.

[0019] Aunque la técnica proporciona usos tópicos para extractos de *Pichia anomala* y extractos de la raíz de achicoria, los solicitantes han descubierto ahora que la aplicación tópica de una combinación de estos dos extractos es beneficioso a la piel por mejora sinergística de su producción de ácido hialurónico a partir de dentro, proporcionando así beneficios significativos e inesperados para la piel, incluida la mejora, reduciendo, inhibiendo o retrasando la aparición de al menos un signo de envejecimiento en la piel. La combinación también puede mejorar la protección de barrera de la piel e hidratación de la piel. De acuerdo con ello, los nuevos métodos de tratamiento de los signos de envejecimiento de la piel, por ejemplo, ya están disponibles.

Resumen de la invención

[0020] La presente invención se refiere a una composición tópica que comprende un extracto de *Pichia anomala* y un extracto de la raíz de achicoria, así como métodos cosméticos, o no terapéuticos de tratamiento de una señal de envejecimiento de la piel, que comprende aplicación tópica a la piel en necesidad de tratamiento por envejecimiento de la piel una composición tópica que comprende un extracto de *Pichia anomala* y un extracto de la raíz de achicoria, en el que el extracto de raíz de achicoria contiene hasta 20% en peso de glucosamina y en el que la composición comprende más de 2 por ciento en peso del extracto de *Pichia anomala.*

[0021] La invención también se refiere a un método cosmético, o no terapéutico de tratamiento de una señal de envejecimiento de la piel, que comprende aplicar tópicamente a la piel en necesidad de tratamiento por el envejecimiento de la piel una composición tópica que comprende un extracto de Pichia anomala y un extracto de raíz de achicoria, en el que el extracto de raíz de achicoria contiene hasta 20% en peso de glucosamina y en el que la composición comprende más de 2 por ciento en peso del extracto de *Pichia anomala.*

[0022] La invención proporciona además un método cosmético, o no terapéutico de mejora de la función de barrera de la piel y humectación, que comprende aplicar tópicamente a la piel en necesidad de mejorar la función barrera de la piel y humectación de una composición tópica que comprende un extracto de *Pichia anomala* y un extracto de la raíz de achicoria, en el que el extracto de raíz de achicoria contiene hasta 20% en peso de glucosamina y en el que la composición comprende más de 2 por ciento en peso del extracto de *Pichia anomala.*

Descripción detallada

[0023] La composición tópica de la presente invención mejora la producción de ácido hialurónico en la piel por la acción sinérgica de extractos de *Pichia anomala* y la raíz de achicoria.

[0024] Se cree que un experto en la técnica puede, basándose en la descripción en el presente documento, utilizar la presente invención en su extensión más completa. Las siguientes realizaciones específicas deben interpretarse como meramente ilustrativas, y no limitativas del resto de la descripción en modo alguno.

[0025] A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en este documento tienen el mismo significado que se entiende comúnmente por un experto ordinario en la técnica al que pertenece la invención. A menos que se indique lo contrario, los porcentajes utilizados para expresar cantidades de ingredientes son porcentajes en peso (es decir, % (W/W). Del mismo modo los porcentajes de peso utilizados para expresar proporciones relativas de ingredientes también se determinan usando porcentaje en peso (es decir, relaciones en peso se calculan mediante la división del porcentaje en peso de un ingrediente por otro). A menos que se indique lo contrario, todos los intervalos son inclusives de los puntos finales, por ejemplo, "de 4 a 9" incluye los puntos finales 4 y 9.

[0026] Como se usa en el presente documento, un "producto" está opcionalmente en forma envasada terminada. En una realización, el envase es un recipiente tal como un plástico, metal o tubo de vidrio o frasco que contiene la composición. El producto puede contener además embalaje adicional, tal como una caja de cartón de plástico o para el almacenamiento de tal recipiente. En una realización, el producto comprende una composición de la invención y contiene instrucciones que dirigen al usuario a aplicar la composición a la piel o el cabello.

[0027] Como se usa en el presente documento, "aplicación tópica" significa aplicación directa o difusión sobre la piel exterior, el cuero cabelludo o el cabello, por ejemplo, mediante el uso de las manos o un aplicador tal como una toallita, rodillo o pulverización.

[0028] Como se usa en este documento, "cosmético" se refiere a una sustancia de embellecimiento o preparación que conserva, restaura, otorga, simula, o mejora la apariencia de la belleza corporal o parece mejorar la belleza o juventud, específicamente en lo que se refiere a la aparición de tejido o piel.

[0029] Como se usa en este documento, "cosméticamente aceptable" significa que los ingredientes descritos por el término son adecuados para uso en contacto con tejidos (por ejemplo, la piel o el pelo) sin excesiva toxicidad, incompatibilidad, inestabilidad, irritación, respuesta alérgica, o similares.

[0030] En ciertas realizaciones, las composiciones de la presente invención son adecuadas para el tratamiento de los signos de envejecimiento de la piel. Como se usa en el presente documento, "signos de envejecimiento de la piel" incluye la presencia de líneas y arrugas, pérdida de elasticidad, piel no equilibrada, y manchas. En una realización particularmente preferida, el signo de envejecimiento es la presencia de líneas y arrugas y/o pérdida de elasticidad.

[0031] Como se usa en el presente documento, "tratar los signos de envejecimiento de la piel" se refiere a mitigar, reducir, prevenir, mejorar, o eliminar la presencia o signos de envejecimiento de la piel descritos anteriormente.

[0032] Como se usa en este documento, "arrugas" incluye las líneas finas, las arrugas finas o arrugas gruesas. Ejemplos de arrugas incluyen, pero no se limitan a, líneas finas alrededor de los ojos (por ejemplo, "patas de gallo"), arrugas de la frente y las mejillas, líneas de la frente, y de risa alrededor de la boca.

[0033] Como se usa en este documento, "pérdida de elasticidad" incluye la pérdida de elasticidad o la integridad estructural de la piel o tejido, incluyendo pero no limitado a la flacidez de tejidos, laxa y suelta. La pérdida de la elasticidad o la estructura del tejido de integridad puede ser el resultado de una serie de factores, incluyendo pero no limitado a la enfermedad, envejecimiento, cambios hormonales, trauma mecánico, daños al medio ambiente, o el resultado de una aplicación de productos, tales como productos cosméticos o farmacéuticos, al tejido.

[0034] Como se usa en este documento, "piel desigualada" significa un estado de la piel asociada con pigmentación difusa o moteada, que puede ser clasificada como hiperpigmentación, tales como la hiperpigmentación post-inflamatoria.

[0035] Como se usa en este documento, "manchas" significa un estado de la piel asociada con enrojecimiento o

eritema.

[0036] Como se usa en este documento, "la mejora de la firmeza de la piel" significa la potenciación de la firmeza o elasticidad de la piel, la prevención de la pérdida de firmeza o de elasticidad de la piel, o la prevención o el tratamiento de la piel flácida, floja y suelta. La firmeza o elasticidad de la piel pueden medirse mediante el uso de un cutómetro. Véase Handbook Of Non-Invasive Methods And The Skin, eds. J. Serup, G. Jemec y G. Grove, Capítulo 66.1 (2006). La pérdida de elasticidad o firmeza de la piel puede ser el resultado de una serie de factores, incluyendo pero no limitado al envejecimiento, los daños medioambientales, o el resultado de una aplicación de un cosmético para la piel.

[0037] Como se usa en este documento, "la mejora de la textura de la piel" significa el alisamiento de la superficie de la piel para eliminar granos o fisuras en la superficie de la piel.

[0038] Como se usa en el presente documento, "mejorar la aparición de arrugas en la piel" significa prevenir, retardar, detener o invertir el proceso de formación de arrugas y líneas finas en la piel.

[0039] Como se usa en este documento, el término "cantidad segura y eficaz" significa una cantidad suficiente para inducir el efecto deseado, pero lo suficientemente baja para evitar efectos secundarios graves. La cantidad segura y eficaz del compuesto, extracto o composición variará con, por ejemplo, la edad, la salud y la exposición ambiental del usuario final, la duración y la naturaleza del tratamiento, el extracto específico, ingrediente, o composición empleada, en particular el vehículo utilizado, y factores similares.

[0040] Como se usa en este documento, "piel en necesidad de mejorar la función de barrera de la piel y humectación" significa la piel que es, pero no se limita a ser, carente de hidratación, carente de sebo, agrietada, seca, con picazón, escamosa, xerodérmica, deshidratada, carente de flexibilidad, carente de luminosidad, sin brillo, o carente de lípidos.

[0041] Como se describe en el presente documento, los solicitantes han descubierto que la aplicación tópica de una combinación de un extracto de *Pichia anomala* y un extracto de raíz de achicoria proporciona inesperadamente buena función de barrera de la piel, hidratación de la piel, anti-envejecimiento de la piel, y los beneficios para aclarar la piel.

[0042] Los solicitantes también han descubierto en particular que la aplicación tópica de una composición que contiene una combinación de extractos de *Pichia anomala* y la raíz de achicoria mejora los niveles en la piel del ácido hialurónico endógeno ("HA"), proporcionando mejoras en la aparición de al menos un signo de envejecimiento de la piel. El uso tópico de tal composición puede aumentar los niveles de ácido hialurónico a una dirección que se encuentra en la piel más joven proporcionando de este modo el soporte estructural a la piel para reducir la aparición de signos de envejecimiento en la piel.

[0043] Las composiciones tópicas de la presente invención se pueden usar en métodos cosméticos, o no terapéuticos, para el tratamiento de una señal de envejecimiento de la piel.

[0044] Las composiciones tópicas de la presente invención también pueden usarse en procedimientos cosméticos, o no terapéuticos, para mejorar la función de barrera de la piel y humectación.

Pichia anomala

[0045] La composición tópica comprende uno o más extractos de *Pichia anomala.* En particular, tales extractos pueden ser extractos producidos usando una de las diversas cepas de *Pichia anomala* aisladas de la fruta u otras partes aéreas de una planta. Cualquier extracto cosméticamente aceptable de *Pichia anomala* puede ser utilizado.

[0046] Un ejemplo de un extracto adecuado de *Pichia anomala* es PRO-LIPISKIN, disponible comercialmente de Silab-France. Se produce a partir de una cepa de *Pichia anomala* presente en la caña de azúcar.

[0047] Otro ejemplo de un extracto adecuado de *Pichia anomala* se produce a partir de una cepa de *Pichia anomala* presente en la fruta o hojas de la planta del kiwi.

[0048] Ambos casos anteriores se pueden proporcionar en forma de soluciones acuosas que contienen materia seca en el intervalo de aproximadamente 20%, más específicamente de 2 a 10%, más específicamente de 3 a 7%.

Raíz de achicoria

[0049] La composición tópica contiene también uno o más extractos de raíz de achicoria (*Cichorium intybus* L.). Una variedad de extractos de raíz de achicoria están comercialmente disponibles, sin embargo no cualquier extracto cosméticamente aceptable se puede usar en la invención.

[0050] En una realización preferida, el extracto de raíz de achicoria contiene la glucosamina en una cantidad de hasta aproximadamente 20%, o aproximadamente 8 a aproximadamente 12%, en peso en base al peso total del extracto. No se añade por separado tal glucosamina; es un componente del extracto de la raíz de achicoria.

[0051] Un extracto adecuado de la raíz de achicoria que se puede usar contiene aproximadamente 8 a 12% en peso y la glucosamina se prepara como se describe en US 8652532. Específicamente, como se describe en el documento US 8.652.532, se cosecha la raíz de achicoria, se corta y se seca en un horno o secador industrial a una temperatura por debajo de 110°C, preferiblemente entre 80 y 105°C, lo más preferiblemente 92°C o por debajo de por menos de una semana, preferiblemente entre 5 y 50 horas. También es preferentemente para cortar la raíz de la achicoria en rodajas o cubos, que tienen preferiblemente una anchura máxima de 5 cm. El material seco se extrae a continuación con agua u otro disolvente convencional para hacer el extracto de raíz de achicoria.

Cantidades

[0052] Cualquier cantidad adecuada del extracto de la raíz de achicoria y mayor que 2 por ciento en peso del extracto de *Pichia anomala* se utilizan en las composiciones de la presente invención. Preferiblemente, las composiciones comprenden cantidades seguras y eficaces de los extractos. En particular, las cantidades de *Pichia anomala* y extractos de raíz de achicoria que se utilizan son cosméticamente aceptables y se seleccionan para conseguir el tratamiento deseado de la piel para una condición particular, tal como se entiende bien por un experto en la técnica de los cosméticos.

[0053] En ciertas realizaciones preferidas, las composiciones comprenden de 0,5 a 20% de extracto de *Pichia anomala* y más preferiblemente 0,5 a 5% de extracto de *Pichia anomala*. Además, en ciertas realizaciones preferidas, las composiciones comprenden de aproximadamente 0,01 a 2, más preferiblemente 0,01 a 0,2 de extracto de raíz de achicoria. En ciertas realizaciones, las composiciones comprenden una cantidad combinada del 0,51 a 22%, más preferiblemente de 0,7 a un 5,2%, en peso de extracto de *Pichia anomala* y el extracto de raíz de achicoria.

Determinación del perfil de ceramida de alto rendimiento por cromatografía en capa fina

[0054] La eficacia de la composición que contiene extractos de *Pichia anomala* y la raíz de achicoria para mejorar la función de barrera de la piel se puede medir mediante un aumento de los niveles de ceramida en la piel. Por consiguiente, en una realización de la presente invención, las cantidades de extracto de *Pichia anomala* y extracto de raíz de achicoria utilizados en una composición de la invención son aquellos eficaces para lograr un aumento en los niveles de ceramida en al menos un 1% o más, preferiblemente de aproximadamente 5% o superior, y más preferiblemente aproximadamente 10% o superior, conforme a la determinación de prueba de perfil de ceramida por cromatografía de capa fina de alto rendimiento.

[0055] La determinación de prueba de perfil de ceramida por cromatografía de capa fina de alto rendimiento se realiza del siguiente modo.

Extracción de muestras y condensación

[0056] Equivalentes de la piel o 0,5-1x10^6 células se homogeneizan con 2 mL de cloroformo: metanol (2:1) y se transfirió a un vial que contiene 1 mL de solución salina tamponada con fosfato. El homogeneizador se enjuaga con 2 porciones de 2 mL de cloroformo:metanol (2:1) y los aclarados se añaden al vial que contiene los extractos y la PBS. La mezcla se agitó en vórtex y las fases se dejaron separar. La fase orgánica se evaporó a sequedad bajo vacío.

Cromatografía en capa fina de alto rendimiento

[0057] El residuo se disuelve en 200 µL de cloroformo:metanol (2:1). Veinte microlitros y 40 µL de solución de muestra se aplican sobre la placa de HPTLC (Whatman Partisil) usando CAMAG Automatic TLC Sampler 4 y se separaron usando el siguiente sistema de desarrollo secuencial: (1) diclorometano:etilo acetat: acetona (80:16:4), (2) cloroformo:metanol:acetona (76:16:8), y (3) hexano:cloroformo:ácido acético:acetona:metanol (6:80:0,1:10:4). Las placas se tiñeron con acetato de cobre al 3% en ácido fosfórico al 8% y se carbonizaron a 160°C.

Cuantificación

[0058] Las muestras se aplican en paralelo para correcciones de posición y se compararon con un extracto en blanco preparado de manera similar (tira de cinta sin exposición a lípidos de la piel). La cuantificación se realiza en contra de cantidades conocidas de Ceramida III estándar (Cosmoferm) por densitometría (CAMAG).

Ácido hialurónico (HA) Ensayo de secreción

[0059] En otra realización, la eficacia de la combinación de *Pichia anomala* y extractos de raíz de achicoria para

mejorar la función de barrera de la piel y/o mejorar la apariencia de al menos un signo de envejecimiento en la piel se puede medir mediante un aumento de la secreción de ácido hialurónico. Por consiguiente, la combinación de *Pichia anomala* y extractos de raíz de achicoria utilizados en una composición de la invención es eficaz para proporcionar un aumento de la secreción de ácido hialurónico mayor que la proporcionada por la simple adición de los aumentos en el ácido hialurónico producido por cada extracto solo. En una realización, la composición de la invención proporciona al menos 1,5 veces, o, más preferiblemente, al menos 2,0 veces, aumento de la secreción de ácido hialurónico sobre el aumento en veces aditivo cuando se mide de acuerdo con la prueba de secreción del ácido hialurónico (HA) del siguiente modo.

[0060] El ácido hialurónico (HA) de ensayo de secreción se realizó del siguiente modo.

[0061] Fibroblastos dérmicos humanos se mantienen en matraz en medio de crecimiento que consiste en Medio de Eagle Modificado de Dulbecco (DMEM) más suero bovino fetal al 10%, 50 unidades/ml de penicilina y 50 µg/ml de estreptomicina. Las células se siembran a 20.000 células por pocillo en una placa de 96 pocillos. Después de 24 horas de incubación, las células se tratan con composiciones de ensayo disueltas en DMSO o DMSO sin extractos (como control) preparadas en DMEM+FBS al 2%. Los medios de cultivo se recogen a las 48 horas post-tratamiento, y se midió la secreción de HA (ácido hialurónico) utilizando el kit de ELISA de Hialuronano (Echelon, cat. nº K-1200) siguiendo el protocolo del fabricante. Para evaluar la actividad, la posibilidad colorimétrica se mide a 405 nm y los resultados se expresaron como un cambio de veces sobre los controles no tratados.

[0062] El aumento de veces proporcionado por la combinación se calcula como el factor de cambio en HA secretada de la aplicación de los extractos combinados dividida por la suma de: a) el cambio de veces en HA secretado a partir de *Pichia anomala* solo y b) el cambio de veces en HA secretada del extracto de raíz de achicoria solo.

Composiciones tópicas

[0063] Las composiciones de la presente invención se aplican por vía tópica a la piel o cabello humano. De acuerdo con ello, la composición puede incluir, además, un vehículo tópico cosméticamente aceptable que puede ser de aproximadamente 50% a aproximadamente 99,99%, en peso, de la composición (por ejemplo, de aproximadamente 80% a aproximadamente 99%, en peso, de la composición). En una realización preferida de la invención, el vehículo tópico cosméticamente aceptable incluye agua.

[0064] Las composiciones se pueden hacer en una amplia variedad de tipos de productos que incluyen pero no se limitan a lociones, cremas, geles, barras, pulverizaciones, ungüentos, lavados líquidos de limpieza y pastillas sólidas, champúes y acondicionadores para el cabello, fijadores para el cabello, pastas, espumas, polvos, espumas, cremas de afeitar, toallitas, parches, hidrogeles, productos de formación de película, máscaras faciales y máscaras de la piel, películas y maquillaje, tales como bases, y máscaras. Estos tipos de productos pueden contener varios tipos de vehículos tópicos cosméticamente aceptables incluyendo, pero sin limitarse a soluciones, suspensiones, emulsiones tales como microemulsiones y nanoemulsiones, geles, sólidos y liposomas. Los siguientes son ejemplos de tales vehículos no limitativos. Otros vehículos pueden formularse por los expertos normales en la técnica.

[0065] Las composiciones útiles en la presente invención se pueden formular como soluciones. Soluciones incluyen típicamente una solución acuosa o disolvente orgánico (por ejemplo, de aproximadamente 50% a aproximadamente 99,99% o de aproximadamente 90% a aproximadamente 99% de un disolvente acuoso u orgánico cosméticamente aceptable). Ejemplos de disolventes orgánicos adecuados incluyen propilenglicol, polietilenglicol, polipropilenglicol, glicerol, 1,2,4-butanotriol, ésteres de sorbitol, 1,2,6-hexanotriol, etanol, y mezclas de los mismos.

[0066] Las composiciones útiles en la presente invención pueden formularse como una solución que comprende un emoliente. Tales composiciones contienen preferiblemente de aproximadamente 2% a aproximadamente 50% de un emoliente. Como se usa en este documento, "emolientes" se refiere a materiales usados para la prevención o alivio de la sequedad, tal como mediante la prevención de la pérdida transepidérmica de agua de la piel. Ejemplos de emolientes incluyen los conocidos en la técnica. Ejemplos de emolientes particularmente adecuados incluyen aceites vegetales, aceites minerales, ésteres grasos, y similares.

[0067] Una loción puede hacerse a partir de una solución de este tipo. Las lociones contienen típicamente de aproximadamente 1% a aproximadamente 20% (por ejemplo, de aproximadamente 5% a aproximadamente 10%) de un emoliente y de aproximadamente 50% a aproximadamente 90% (por ejemplo, de aproximadamente 60% a aproximadamente 80%) de agua.

[0068] Otro tipo de producto que puede formularse a partir de una solución es una crema. Una crema contiene típicamente de aproximadamente 5% a aproximadamente 50% (por ejemplo, de aproximadamente 10% a aproximadamente 20%) de un emoliente y de aproximadamente 45% a aproximadamente 85% (por ejemplo, de aproximadamente 50% a aproximadamente 75%) de agua.

[0069] La composición de la presente invención puede incluir agua o, alternativamente, ser anhidra o ser un ungüento que no incluye agua pero disolventes orgánicos y/o de silicona, aceites, lípidos y ceras. Un ungüento

puede contener una base simple de aceites animales o vegetales o hidrocarburos semi-sólidos. Un ungüento puede contener de aproximadamente 2% a aproximadamente 10% de un emoliente más de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 2% de un agente espesante.

[0070] La composición puede formularse como una emulsión. Si el portador tópico es una emulsión, de aproximadamente 1% a aproximadamente 10% (por ejemplo, de aproximadamente 2% a aproximadamente 5%) del vehículo tópico contiene un emulsionante. Los emulsionantes pueden ser no iónicas, aniónicas o catiónicas. Ejemplos de emulsionantes son bien conocidos en la técnica.

[0071] Las lociones y cremas pueden formularse como emulsiones. Típicamente tales lociones contienen de 0,5% a aproximadamente 5% de un emulsionante. Tales cremas contienen típicamente de aproximadamente 1% a aproximadamente 20% (por ejemplo, de aproximadamente 5% a aproximadamente 10%) de un emoliente; desde aproximadamente 20% a aproximadamente 80% (por ejemplo, desde 30% a aproximadamente 70%) de agua; y de aproximadamente 1% a aproximadamente 10% (por ejemplo, de aproximadamente 2% a aproximadamente 5%) de un emulsionante.

[0072] Preparaciones para el cuidado de la piel de emulsión individuales, tales como lociones y cremas, del tipo aceite-en-agua y del tipo agua-en-aceite son bien conocidas en la técnica cosmética y son útiles en la presente invención. Composiciones de emulsión de multifase, tales como del tipo agua-en-aceite-en-agua o del tipo aceite-en-agua-en-aceite, también son útiles en la presente invención. En general, tales emulsiones simples o multifase contienen agua, emolientes y emulsionantes como ingredientes esenciales.

[0073] Las composiciones de esta invención también pueden formularse como un gel (por ejemplo, una solución acuosa, alcohol, alcohol/agua, o gel de aceite con un agente gelificante adecuado). Los agentes gelificantes adecuados para geles acuosos y/o alcohólicos incluyen, pero no se limitan a, gomas naturales, ácido acrílico y polímeros y copolímeros de acrilato, y derivados de celulosa (por ejemplo, hidroximetilcelulosa e hidroxipropilcelulosa). Los agentes gelificantes adecuados para aceites (tales como aceite mineral) incluyen, pero no se limitan a, copolímero hidrogenado de butileno/etileno/estireno y copolímero de etileno/propileno/estireno hidrogenado. Tales geles contienen típicamente entre aproximadamente 0,1% y 5%, en peso, de tales agentes gelificantes.

[0074] Las composiciones de la presente invención también se pueden formular en una formulación sólida (por ejemplo, una barra basada en cera, composición de pastilla de jabón, polvo o un paño que contiene polvo).

[0075] Las composiciones útiles en la invención pueden contener, además de los componentes mencionados anteriormente, una amplia variedad de materiales solubles en aceite adicionales y/o materiales solubles en agua usados convencionalmente en composiciones para uso sobre la piel y el cabello, en sus niveles establecidos en la técnica.

Agentes adicionales cosméticamente activos

[0076] Las composiciones de la presente invención pueden comprender además cualquiera de una variedad de agentes cosméticamente activos adicionales. Los ejemplos de agentes activos adicionales adecuados incluyen: agentes aclaradores de la piel, agentes de oscurecimiento, agentes anti-envejecimiento adicionales, promotores de tropoelastina, promotores de colágeno, agentes anti-acné, agentes de control de brillo, agentes anti-microbianos, tales como agentes anti-hongos, y agentes anti-bacterianos, agentes anti-inflamatorios, agentes anti-parásitos, analgésicos externos, protectores solares, fotoprotectores, antioxidantes, agentes queratolíticos, detergentes/tensioactivos, hidratantes, nutrientes, vitaminas, potenciadores de energía, agentes anti-transpiración, astringentes, desodorantes, depilatorios, agentes de mejora del crecimiento del pelo, crecimiento del cabello, agentes reafirmantes, reforzadores de hidratación, reforzadores de eficacia, agentes anti-insensibles, agentes para acondicionamiento de la piel, agentes anti-celulitis, agentes de control de olores, tales como el enmascaramiento del olor o agentes cambiantes de pH, y similares.

[0077] Ejemplos de diversos principios activos cosméticamente aceptables adicionales adecuados incluyen ácidos hidroxi; peróxido de benzoilo; D-pantenol; Filtros UV tales como, pero no limitado a avobenzona (PARSOL 1789), sal disódica de bisdisulizol (NEO HELIOPAN AP), benzoato de hexilo de hidroxibenzoílo de dietilamino (UVINUL A Plus), ecamsule (MEXORYL SX), antranilato de metilo, ácido 4-aminobenzoico (PABA), cinoxato, triazona de etilhexilo (UVINULT 150), homosalato, alcanfor 4-metilbenciliden (PARSOL 5000), metoxicinamato de octilo (Octinoxato), salicilato de octilo (Octisalato), padimato O (ESCALOL 507), ácido fenilbencimidazolsulfónico (ENSULIZOLE), polisilicona-15 (PARSOL SLX), salicilato de trolamina, Bemotrizinol (TINOSORB S), benzofenonas 1-12, dioxibenzona, trisiloxano de drometrizol (MEXORYL XL), iscotrizinol (UVASORB HEB), octocrileno, oxibenzona (EUSOLEX 4360), sulisobenzona, bisoctrizol (TINOSORB M), dióxido de titanio, óxido de zinc; carotenoides; captadores de radicales libres; trampas de spin; retinoides y precursores de retinoides tales como retinol, ácido retinoico y palmitato de retinilo; ceramidas; ácidos grasos poliinsaturados; acidos grasos esenciales; enzimas; inhibidores enzimáticos; minerales; hormonas tales como estrógenos; esteroides tales como hidrocortisona; 2-dimetilaminoetanol; sales de cobre tales como cloruro de cobre; péptidos que contienen cobre, coenzima Q10;

aminoácidos tales como prolina; vitaminas; ácido lactobiónico; acetilo-coenzima A; niacina; riboflavina; tiamina; ribosa; transportadores de electrones tales como NADH y FADH2; y otros extractos botánicos tales como avena, aloe vera, matricaria, soja, extractos de hongo de shiitake, y derivados y mezclas de los mismos.

[0078] En ciertas realizaciones preferidas, las composiciones comprenden una combinación de *Pichia anomala* y extractos de raíz de achicoria y al menos un agente activo hidratante adicional de la piel. En ciertas realizaciones preferidas, las composiciones para el cuidado de la piel comprenden una combinación de *Pichia anomala* y extractos de raíz de achicoria y al menos un agente adicional para mejorar la apariencia de al menos un signo de envejecimiento en la piel. Los ejemplos de agentes adicionales adecuados mejoran la apariencia de al menos un signo de envejecimiento en la piel incluyen, pero no se limitan a, los promotores de la tropoelastina, promotores de colágeno, retinoides, ácido hialurónico incluyendo ácido hialurónico reticulado, dimetilaminoetanol, N,N,N',N'-tetraquis(2-hidroxi-propilo) etilendiamina, ácidos alfa hidroxi, polihidroxiácidos, y combinaciones de dos o más de los mismos.

[0079] "Promotores de tropoelastina", como se usa aquí, se refiere a una clase de compuestos que poseen la actividad biológica de la mejora de la producción de tropoelastina. Promotores de tropoelastina, de acuerdo con la presente invención, incluyen todos los compuestos naturales o sintéticos que son capaces de aumentar la producción de tropoelastina en el cuerpo humano.

[0080] Ejemplos de promotores de tropoelastina adecuados incluyen, pero no se limitan a, extractos de zarzamora, extractos de cotinus, extractos de matricaria, y complejos bimetálicos que tienen constituyentes de cobre y/o zinc. El complejo bimetálico que tiene constituyentes de cobre y/o zinc pueden ser, por ejemplo, citrato de cobre-zinc, oxalato de cobre y zinc, tartrato de cobre y zinc, malato de cobre y zinc, succinato de cobre y zinc, malonato de cobre y zinc, maleato de cobre y zinc, aspartato de cobre y zinc, glutamato de cobre y zinc, glutarato de cobre y zinc, fumarato de cobre y zinc, glucarato de cobre y zinc, ácido poliacrílico de cobre y zinc, adipato de cobre y zinc, pimelato de cobre y zinc, suberato de cobre y zinc, azealato de cobre y zinc, sebacato de cobre y zinc, dodecanoato de cobre y zinc, o combinaciones de los mismos. En una realización preferida, el promotor de la tropoelastina se selecciona a partir de extractos de mora, extractos de cotinus, extractos de matricaria, y combinaciones de los mismos. En una realización particularmente preferida, el promotor de tropoelastina se selecciona a partir de extractos de mora, extractos de matricaria, y combinaciones de los mismos.

[0081] Por "extracto de mora," se quiere decir una mezcla de compuestos aislados de la planta del género *Rubus,* y preferiblemente *Rubus fruticosus.* En una realización, los compuestos se aíslan de las flores de la planta. En una realización adicional, los compuestos se aíslan de las flores secas de la planta. Dichos compuestos pueden aislarse a partir de una o más partes de la planta (por ejemplo, la totalidad de la planta, flor, semilla, raíz, rizoma, tallo, fruta y/o la hoja de la planta). En una realización preferida, el extracto de mora es un extracto de hojas de mora. Un extracto de mora particularmente adecuado se produce mediante la extracción de las hojas de *Rubus fruticosus* con una mezcla de agua y etanol agravado a una actividad de aproximadamente 5% a aproximadamente 10%, con una matriz de maltodextrina, disponible comercialmente de Symrise Inc. de Teterboro, NJ, y se vende con el nombre SYMMATRIX.

[0082] Las composiciones de la presente invención pueden incluir una cantidad cosméticamente eficaz de uno o más promotores de tropoelastina tales como los descritos anteriormente. Las composiciones incluyen preferiblemente, sobre una base activa, de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 10% de los promotores de tropoelastina, más preferiblemente de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 5% de los promotores de tropoelastina, y lo más preferiblemente de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 2% de la promotores de tropoelastina.

[0083] "Promotor de colágeno", como se usa aquí, se refiere a compuestos que poseen la actividad biológica de la mejora de la producción de colágeno. "Promotores de colágeno no retinoides" de acuerdo con la presente invención incluyen todos los compuestos naturales o sintéticos que no son los retinoides, o derivados de los retinoides, y son capaces de mejorar la producción de colágeno en el cuerpo humano.

[0084] Ejemplos de promotores de colágeno adecuados incluyen, pero no se limitan a los siguientes: los retinoides, incluyendo retinol, retinaldehído, y el ácido retinoico, los extractos de matricaria (*Tanacetum parthenium)*, los extractos de *Centella asiatica,* y los extractos de *Siegesbeckia orientalis*; extractos de soja; péptidos de promoción de colágeno; ácido ursólico; y asiaticósido.
Centella asiática, también conocido como *Violette marronne* en la Isla de la Reunión, centella asiática o centella asiática en la India, *Centella repanda* en América del Norte, y Talapetraka en Madagascar, es una hierba polimorfa y pertenece a la familia de *Umbelliferae* (*Apiaceae)*, en particular a la subfamilia de *Hidrocotyle*. Crece de modo silvestre en las regiones tropicales y prefiere regiones húmedas y sombreadas a una altitud de alrededor de 600 a 1.200 metros sobre el nivel del mar. *Centella asiática* tiene tres variedades: Typica, Abyssinica y Floridana. La hierba es conocida y utilizada por su curación, sedante, analgésico, antidepresivo, antiviral y propiedades antimicrobianas. La actividad biológica de la hierba parece ser debida a la presencia de moléculas de triterpeno en la hierba. Un extracto adecuado de *Centella asiatica* está disponible como TECA de Bayer Consumer HealthCare de Basilea, Suiza.

[0085] Por "extractos de *Siegesbeckia orientalis,"* se entiende cualquiera de los diversos extractos de la planta *Siegesbeckia orientalis,* incluyendo Darutósido disponible de Croda (Croda International Group de Edison, NJ).

[0086] Péptidos de colágeno promotores adecuados incluyen los siguientes péptidos de matrikinas, (*es decir,* un péptido derivado de la degradación de proteínas de la matriz extracelular - colágeno, elastina, o proteoglicano) que incluyen pentapéptidos de palmitoilo, tales como MATRIXYL de Sederma (Croda International Group de Edison, NJ); péptido de cobre de GHK disponible como PROCYTE de Photomedex de Montgomeryville, PA; péptido de palmitoílo de GHK disponible como Biopoeptide CL de Sederma (Croda International Group de Edison, NJ); Tetrapéptidos biomiméticos, tales como los disponibles como tri péptido de cronolina de Unipex de Quebec, Canadá; y tri-péptido de palmitoílo, disponible como Syn-Coll de DSM de Basilea, Suiza.

[0087] El ácido ursólico también se conoce como ácido de triterpeno pentacíclico, Prunol, Malol, Urson, ácido beta-ursólico y ácido 3-Beta-Hidroxi-Urs-12-En-28-Oico. Está disponible comercialmente, por ejemplo de Sigma-Aldrich de St. Louis, MO.

[0088] Asiaticósido, también conocido químicamente como: [6-[[3,4-dihidroxi-6-(hidroximetilo)-5-(3,4,5-trihidroxi-6-metiloxano-2-ilo)oxioxan-2-ilo]oximetilo]-3,4,5-trihidroxioxano-2-ilo] 10,11-dihidroxi-9-(hidroximetilo)-1,2,6a,6b,9,12a-hexametilo-2,3,4,5,6,6a,7,8,8a,10,11,12,13,14b-tetradecahidro-1H-piceno-4a-carboxilato) está disponible comercialmente por ejemplo de Bayer Santé Familiale Division Serdex, 69, Boulevard Victor Hugo 93400 SAINT-OUEN Francia.

[0089] Las composiciones de la presente invención pueden incluir una cantidad cosméticamente eficaz de uno o más promotores de colágeno. Las composiciones incluyen preferiblemente, sobre una base activa, de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 10% de los promotores de colágeno, más preferiblemente de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 5% de los promotores de colágeno, y lo más preferiblemente de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 2% de los promotores de colágeno.

[0090] Las composiciones de la presente invención pueden comprender adicionalmente al menos un agente activo de aclaramiento de la piel. Ejemplos de agentes activos de aligeramiento de la piel adecuados incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de la tirosinasa, agentes de degradación de melanina, agentes inhibidores de transferencia de melanosomas incluyendo antagonistas de PAR-2, exfoliantes, protectores solares, retinoides, antioxidantes, ácido tranexámico, éster de clorhidrato cetílico de ácido tranexámico, agentes blanqueantes de la piel, ácido linoleico, sal disódica de monofosfato de adenosina, extracto de Chamomilla, alantoína, opacificantes, talcos y sílices, sales de zinc, y similares, y otros agentes como se describe en Solano et al. Pigment Cell Res. 19 (550-571) y Ando et al. Int J Mol Sci 11 (2566-2575).

[0091] Los ejemplos de inhibidores de la tirosinasa adecuados incluyen, pero no se limitan a, la vitamina C y sus derivados, la vitamina E y sus derivados, ácido kójico, arbutina, resorcinoles, hidroquinona, flavonas por ejemplo flavonoides de regaliz, extracto de raíz de regaliz, extracto de raíz de morera, extracto de raíz de Dioscorea Coposita, extracto de Saxifraga y similares, ácido elágico, salicilatos y derivados, glucosamina y derivados, fullereno, hinokitiol, ácido dioico, glucosamina de acetilo, 5,5-dipropilo-bifenilo-2,2'-diol (Magnolignan), 4-(4-hidroxifenilo)-2-butanol (4-HPB), combinaciones de dos o más de los mismos, y similares. Ejemplos de derivados de la vitamina C incluyen, pero no se limitan a, ácido ascórbico y sales, ácido ascórbico-2-glucósido, fosfato de ascorbilo de sodio, fosfato de ascorbilo de magnesio, y extracto natural enriquecido en vitamina C. Los ejemplos de derivados de la vitamina E incluyen, pero no se limitan a, alfa-tocoferol, beta, tocoferol, gamma-tocoferol, delta-tocoferol, alfa-tocotrienol, beta-tocotrienol, gamma-tocotrienol, delta-tocotrienol y mezclas de los mismos, acetato de tocoferol, fosfato de tocoferol y extractos naturales enriquecidas en derivados de la vitamina E. Ejemplos de derivados de resorcinol incluyen, pero no están limitados a, resorcinol, resorcinoles 4-sustituidos como 4-alquilresorcinoles, tales como 4-butiresorcinol (rucinol), 4-hexilresorcinol (Synovea HR, Sytheon), resorcinol de feniletilo (Symwhite, Symrise), 1-(2,4-dihidroxifenilo)-3-(2,4-dimetoxi-3-metilfenilo)propano (nivitol, Unigen) y similares y los extractos naturales enriquecidos en resorcinoles. Los ejemplos de salicilatos incluyen, pero no se limitan a, salicilato de 4-metoxi de potasio, ácido salicílico, ácido acetilsalicílico, ácido 4-metoxisalicílico y sus sales. En ciertas realizaciones preferidas, los inhibidores de la tirosinasa incluyen un resorcinol 4-sustituido, un derivado de vitamina C, o un derivado de la vitamina E. En realizaciones más preferidas, el inhibidor de la tirosinasa comprende resorcinol de feniletilo, resorcinol de 4-hexilo, o ascorbilo-2-glucósido.

[0092] Ejemplos de agentes de melanina de degradación adecuados incluyen, pero no se limitan a, peróxidos y enzimas tales como peroxidasas y ligninasas. En ciertas realizaciones preferidas, los agentes de inhibición de melanina incluyen un peróxido o una ligninasa.

[0093] Ejemplos de agentes inhibidores de transferencia de melanosomas adecuados incluyendo antagonistas de PAR-2 tales como inhibidor de tripsina de soja o Inhibidor de Bowman-Birk, vitamina B3 y derivados tales como niacinamida, soja esencial, soja entera, extracto de soja. En ciertas realizaciones preferidas, agentes inhibidores de transferencia de melanosomas incluyen un extracto de soja o niacinamida.

[0094] Ejemplos de exfoliantes incluyen, pero no se limitan a ácidos alfa-hidroxi tales como ácido láctico, ácido

glicólico, ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico, o cualquier combinación de cualquiera de los anteriores, los beta-hidroxiácidos tales como ácido salicílico, ácidos polihidroxi tales como el ácido lactobiónico y ácido glucónico, y exfoliación mecánica tal como la microdermoabrasión. En ciertas realizaciones preferidas, los exfoliantes incluyen el ácido glicólico o ácido salicílico.

[0095] Los ejemplos de retinoides incluyen, pero no se limitan a, retinol (alcohol de Vitamina A), retinal (aldehído de Vitamina A), acetato de retinilo, propionato de retinilo, linoleato de retinilo, ácido retinoico, palmitato de retinilo, isotretinoína, tazaroteno, bexaroteno, adapaleno, combinaciones de dos o más de los mismos y similares. En ciertas realizaciones preferidas, el retinoide se selecciona del grupo que consiste en retinol, retinal, acetato de retinilo, propionato de retinilo, linoleato de retinilo, y combinaciones de dos o más de los mismos. En ciertas realizaciones más preferidas, el retinoide es retinol.

[0096] Los ejemplos de antioxidantes incluyen, pero no se limitan a, antioxidantes solubles en agua tales como compuestos de sulfhidrilo y sus derivados (por ejemplo, metabisulfito de sodio y N-acetilcisteína, glutatión), ácido lipoico y ácido dihidrolipoico, estilbenoides como el resveratrol y derivados, lactoferrina, hierro y quelantes de cobre y ácido ascórbico y derivados del ácido ascórbico (por ejemplo, ascobilo-2-glucósido, palmitato de ascorbilo y polipéptido de ascorbilo). Antioxidantes solubles en aceite adecuados para uso en las composiciones de esta invención incluyen, pero no se limitan a, hidroxitolueno butilado, retinoides (por ejemplo, retinol y palmitato de retinilo), tocoferoles (por ejemplo, acetato de tocoferol), tocotrienoles, y ubiquinona. Los extractos naturales que contienen antioxidantes adecuados para su uso en las composiciones de esta invención, incluyen, pero no se limitan a, extractos que contienen flavonoides e isoflavonoides y sus derivados (por ejemplo, genisteína y diadzeína), extractos que contienen resveratrol y similares. Ejemplos de tales extractos naturales incluyen semilla de uva, té verde, té negro, té blanco, corteza de pino, matricaria, matricaria libre de partenolida, extractos de avena, extracto de mora, extracto de cotinus, extracto de soja, extracto de pomelo, extracto de germen de trigo, hesperedina, extracto de uva, extracto de Portulaca, Licocalcón, chalcona, chalcona 2,2'-dihidroxi, extracto de Primula, propóleos, y similares.

[0097] El agente cosméticamente activo adicional puede estar presente en una composición en cualquier cantidad adecuada, por ejemplo, en una cantidad de aproximadamente 0,0001% a aproximadamente 20% en peso de la composición, por ejemplo, aproximadamente 0,001% a aproximadamente 10%, tal como de aproximadamente 0,01% a aproximadamente 5%. En ciertas realizaciones preferidas, en una cantidad de 0,1% a 5% y en otras realizaciones preferidas de 1% a 2%.

[0098] Las composiciones de la presente invención pueden incluir una cantidad cosméticamente eficaz de uno o más compuestos anti-inflamatorios.

[0099] Ejemplos de agentes anti-inflamatorios adecuados incluyen resorcinoles sustituidos, (E)-3-(4-metilfenilsulfonilo)-2-propenonitrilo (como "Bay 11-7082", disponible comercialmente de Sigma-Aldrich de St. Louis, Missouri), tetrahidro-curcuminoides (tales como Tetrahydrocurcuminoid CG, disponible de Sabinsa Corporation de Piscataway, NJ), extractos y materiales derivados de los siguientes: extracto de corteza de *Phellodendron amurense* (PCE), soja no desnaturalizada (*Glycine max)*, matricaria (*Tanacetum parthenium)*, jengibre (*Zingiber officinale)*, Ginko (*Ginkgo biloba)*, Madecasósida (extracto de ingrediente *Centella asiatica*), Cotinus (*Cotinus coggygria)*, extracto de petasita (*Petasites hybridus)*, Baya de Goji (*Lycium barbarum)*, extracto de cardo de leche (*Silybum marianum)*, madreselva (*Lonicera japonica)*, Basalm del Perú (*Myroxilon pereirae)*, Salvia (*Salvia officinalis)*, extracto de arándano (*Vaccinium oxicoccos)*, Aceite de Amaranto (*Amaranthus cruentus)*, Granada (*Punica granatum)*, yerbe mate (Extracto de hoja *Ilex paraguariensis*), extracto de flor del lirio blanco (*Lilium candidum)*, extracto de hoja de olivo (*Olea europaea)*, Floretina (extracto de manzana), harina de avena (*Aveena sativa)*, Lifenol (Lúpulo: *Humulus lupulus)*, Extracto de Bugrane P (*Ononis spinosa)*, Licocalcón (regaliz: extracto de ingrediente *Glycyrrhiza inflate*), Symrelief (extracto de Bisabolol y jengibre), combinaciones de dos o más de los mismos, y similares.

[0100] En una realización, el agente anti-inflamatorio es un resorcinol. Resorcinoles sustituidos particularmente adecuados incluyen resorcinol 4-hexilo y 4-octylresorcinol, particularmente resorcinol 4-hexilo. Resorcinol 4-hexilo está disponible comercialmente como SYNOVEA HR de Sytheon de Lincoln Park, NJ. 4-Octilresorcinol está disponible comercialmente de City Chemical LLC de West Haven, Connecticut.

[0101] Por "extractos de matricaria," se quiere decir extractos de la planta "*de Tanacetum parthenium*," tal como pueden producirse de acuerdo con los datos indicados para la Publicación de la Solicitud de Patente de Estados Unidos Nº 2007/0196523, titulada "PARTHENOLIDE FREE BIOACTIVE INGREDIENTS FROM FEVERFEW (TANACETUM PARTHENIUM) AND PROCESSES FOR THEIR PRODUCTION". Un extracto de matricaria particularmente adecuado está disponible comercialmente como aproximadamente la matricaria activa al 20%, de Integrated Botanical Tecnologies de Ossining, NY.

[0102] En la composición de cuidado de la piel de la invención, puede variarse la relación de las cantidades de los extractos combinados de *Pichia anomala* y raíz de achicoria al compuesto anti-inflamatorio. Por ejemplo, el extracto y el compuesto anti-inflamatorio pueden estar presentes en una relación en peso (que se determina dividiendo la cantidad en peso del extracto seco por la cantidad en peso del compuesto anti-inflamatorio) de aproximadamente

0,001 a aproximadamente 100, preferiblemente de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10, más preferiblemente de aproximadamente 0,25 a aproximadamente 2.

[0103] Una variedad de otros materiales también puede estar presente en las composiciones de la presente invención. En ciertas realizaciones preferidas, la composición comprende uno o más ingredientes tópicos seleccionados del grupo que consiste en: surfactantes, agentes quelantes, emolientes, humectantes, acondicionadores, conservantes, opacificantes, fragancias y similares.

[0104] Lo que se entiende por un emoliente es un compuesto que ayuda a mantener el aspecto suave, liso y flexible de la piel (por ejemplo, porque queda en la superficie de la piel o en el estrato córneo para actuar como un lubricante). Ejemplos de emolientes adecuados incluyen los que se encuentran en el Capítulo 35, páginas 399-415 (agentes libres de piel, por G Zocchi) en Handbook of Cosmetic Science and Technology (editado por A. Barel, M. Paye y H. Maibach, publicado en 2001 por Marcel Dekker, Inc New York, NY), e incluyen, pero no se limitan a, vaselina, estearato de hexildecilo y plantas, nueces y aceites vegetales tales como aceite de nuez de macadamia, aceite de salvado de arroz, aceite de semilla de uva, aceite de palma, aceite de rosa, hidrogenados de aceite de cacahuete, y aceite de aguacate.

[0105] Lo que se entiende por un humectante es un compuesto destinado a aumentar el contenido de agua de las capas superiores de la piel (por ejemplo, compuestos higroscópicos). Los ejemplos de humectantes adecuados incluyen los que se encuentran en el Capítulo 35, páginas 399 a 415 (Skin Feel Agents, por G Zocchi) en Handbook of Cosmetic Science and Tecnology (editado por A. Barel, M. Paye y H. Maibach, publicado en 2001 por Marcel Dekker, Inc New York, NY) e incluyen, pero no se limitan a, glicerina, sorbitol o trehalosa (por ejemplo, α,α-trehalosa, β,β-trehalosa, α,β-trehalosa) o una sal o éster de la misma (por ejemplo, trehalosa-6-fosfato).

[0106] En una realización, la composición contiene glicerina. Por ejemplo, la composición contiene al menos 10% en peso de glicerina. La composición puede contener al menos 12% en peso de glicerina.

[0107] En otra realización, la composición tiene un pH de 6,5 o menos. Por ejemplo, la composición puede tener un pH de 5,5 o menos.

[0108] En una realización particular, la composición contiene al menos 10% en peso de glicerina y tiene un pH o 6,5 o menos. Tal composición proporciona un aumento sustancial de la producción de ácido hialurónico cuando se utiliza para tratar la piel de acuerdo con la invención.

[0109] Lo que se entiende por un agente tensioactivo es un agente activo de superficie destinada a limpiar o emulsionar. Ejemplos de tensioactivos adecuados incluyen los que se encuentran en el Capítulo 37, páginas 431-450 (Classification of surfactants, por L. Oldenhove de Guertechin) en Handbook of Cosmetic Science and Tecnology (editado por A. Barel, M. Paye y H. Maibach, Publicado en 2001 por Marcel Dekker, Inc New York, NY) e incluyen, pero no se limitan a tensioactivos aniónicos tales como sulfatos, tensioactivos catiónicos tales como betaínas, tensioactivos anfóteros tales como glicinato de coco sódico, tensioactivos noiónicos tales como poliglucósidos de alquilo.

[0110] Ejemplos de agentes quelantes adecuados incluyen aquellos que son capaces de proteger y preservar las composiciones de esta invención. Preferiblemente, el agente quelante es ácido tetraacético de etilendiamina ("EDTA"), y más preferiblemente es tetrasodio EDTA, disponible comercialmente de Dow Chemical Company de Midland, Michigan bajo el nombre comercial VERSENE 100XL.

[0111] Los conservantes adecuados incluyen, por ejemplo, parabenos, especies de amonio cuaternario, fenoxietanol, benzoatos, hidantoína de DMDM, ácidos orgánicos y están presentes en la composición en una cantidad, basada en el peso total de la composición, de aproximadamente 0 a aproximadamente 1 por ciento o de aproximadamente 0,05 por ciento a aproximadamente 0,5 por ciento.

[0112] Cualquiera de una variedad de acondicionadores que imparten atributos adicionales, tales como brillo al cabello, son adecuados para uso en esta invención. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, agente acondicionador de silicona volátil que tiene un punto de ebullición a presión atmosférica de menos de aproximadamente 220°C. Los ejemplos de siliconas volátiles adecuadas incluyen de manera no exclusiva polidimetilsiloxano, polidimetilciclosiloxano, hexametildisiloxano, fluidos de ciclometicona tales como polidimetilciclosiloxano disponible comercialmente de Dow Corning Corporation de Midland, Michigan bajo el nombre comercial "DC-345" y mezclas de los mismos, y preferiblemente incluyen fluidos de ciclometicona. Otros acondicionadores adecuados incluyen polímeros catiónicos, incluyendo polyquarternium, guar catiónico, y similares.

[0113] Cualquiera de una variedad de brillo perlino o agentes opacificantes disponibles comercialmente son adecuados para su uso en la composición. Ejemplos de nacarado adecuado o agentes opacificantes incluyen, pero no se limitan a, mono o diésteres de (a) ácidos grasos que tienen de aproximadamente 16 a aproximadamente 22 átomos de carbono y (b) o bien etileno o glicol de propileno; mono o diésteres de (a) ácidos grasos que tienen de aproximadamente 16 a aproximadamente 22 átomos de carbono (b) un polialquilenglicol de la fórmula: $HO-(JO)_a-H$,

en la que J es un grupo alquileno que tiene de aproximadamente 2 a aproximadamente 3 átomos de carbón; y a es 2 o 3; alcoholes grasos que contienen de aproximadamente 16 a aproximadamente 22 átomos de carbono; ésteres grasos de la fórmula: $KCOOCH_2L$, en el que K y L contienen independientemente entre aproximadamente 15 a aproximadamente 21 átomos de carbono; sólidos inorgánicos insolubles en la composición de champú, y sus mezclas.

[0114] Cualesquiera composiciones de fragancia adecuadas para su uso sobre la piel se pueden usar de acuerdo con la presente invención.

[0115] En ciertas realizaciones preferidas, la presente invención es en forma de un sustrato que comprende una composición de la presente invención. Cualquier sustrato adecuado puede ser utilizado. Ejemplos de sustratos y materiales de sustrato adecuados se describen, por ejemplo, en la solicitud publicada de Estados Unidos Nos 2005/0226834 y 2009/0241242.

[0116] En ciertas realizaciones preferidas, el sustrato es un guante de limpiar, o una máscara facial. Preferiblemente, dichas formas de realización comprenden un sustrato insoluble en agua como tal se define en las referencias citadas anteriormente. Para ciertas realizaciones, el sustrato insoluble en agua puede tener un tamaño y forma tal que cubre la cara de un usuario humano para facilitar la colocación del sustrato insoluble en agua sobre la cara del usuario como un sustrato de máscara. Por ejemplo, el sustrato de máscara insoluble en agua puede tener aberturas para una boca, la nariz, y/o los ojos del usuario. Alternativamente, el sustrato insoluble en agua puede no tener tales aberturas. Tal configuración sin aberturas puede ser útil para realizaciones de la invención en la que está destinado el sustrato insoluble en agua para cubrirse sobre una extensión no facial de la piel o si el sustrato insoluble en agua es destinado a ser utilizado como toallita. El sustrato insoluble en agua puede tener varias formas, tales como una forma angular (por ejemplo, rectangular) o una forma arqueada como circular u ovalada. Para ciertas realizaciones, el sustrato es un guante tal como se describe en la Solicitud de Publicación Nº 2006/0141014. En una realización de la invención, el producto incluye una pluralidad de sustratos insolubles en agua de diferentes formas.

[0117] La presente invención comprende, además, un método cosmético, o no terapéutico de mejorar la función de barrera e hidratación de la piel mediante la aplicación a la piel en necesidad de mejorar la función de barrera de la piel y humectación de un extracto de combinado *Pichia anomala* y extractos de raíz de achicoria. El método comprende, por ejemplo, la aplicación tópica de una composición de la presente invención que comprende combinado *Pichia anomala* y extractos de raíz de achicoria a la piel en la necesidad de mejorar la función de barrera de la piel y humectación. Tal aplicación tópica puede ser de cualquier piel en necesidad de tratamiento en el cuerpo, por ejemplo la piel de la cara, labios, cuello, pecho, espalda, brazos, axilas, manos, pies y/o piernas. Los extractos combinados de *Pichia anomala* y de raíz de achicoria se aplican preferiblemente en una cantidad eficaz que resulta en la consecución de la mejora deseada de la función de barrera de la piel.

[0118] La presente invención comprende, además, un método cosmético, o no terapéutico de mejorar la apariencia de al menos un signo de envejecimiento de la piel mediante la aplicación a la piel en necesidad de mejorar la apariencia de al menos un signo de envejecimiento de la piel de extractos combinados de *Pichia anomala* y de raíz de achicoria. El método comprende, por ejemplo, la aplicación tópica de una composición de la presente invención que comprende extractos combinados de *Pichia anomala* y raíz de achicoria a la piel en necesidad de tratamiento de al menos un signo de envejecimiento de la piel. Tal aplicación tópica puede ser de cualquier piel en necesidad de tratamiento en el cuerpo, por ejemplo la piel de la cara, labios, cuello, pecho, espalda, brazos, axilas, manos, pies y/o piernas. Los extractos combinados de *Pichia anomala* y raíz de achicoria se aplican preferiblemente en una cantidad eficaz que resulta en la consecución de la mejora deseada en la aparición de al menos un signo de envejecimiento de la piel.

[0119] Puede ser utilizado cualquier método adecuado de aplicación de la composición a la piel en necesidad. Por ejemplo, la composición se puede aplicar directamente a partir de un paquete a la piel en necesidad, a mano a la piel en necesidad, o puede ser transferida desde un sustrato tal como una toallita o máscara, o una combinación de dos o más de los mismos. En otras realizaciones, la composición se puede aplicar a través de un cuentagotas, tubo, rodillo, rociado, y el parche o añadido a un baño o de otra manera al agua que debe aplicarse a la piel, y similares. La composición se puede aplicar en una variedad de maneras/formas, incluyendo, sin limitación, como una crema de actuación retardada, máscara, y/o suero.

[0120] En ciertas realizaciones, los métodos de la presente invención comprenden la aplicación de al menos dos composiciones diferentes o productos que comprenden extractos de *Pichia anomala* o de raíz de achicoria a la piel. Por ejemplo, los métodos pueden comprender la aplicación de una primera composición que comprende un extracto de *Pichia anomala,* seguido por la aplicación de una segunda composición que comprende un extracto de raíz de achicoria que es diferente de la primera composición, a la piel en necesidad de tratamiento.

[0121] En ciertas realizaciones preferidas, la primera y segunda composición pueden seleccionarse independientemente del grupo que consiste en lociones, limpiadores, máscaras, toallitas, cremas, sueros, geles, y similares. En ciertas realizaciones preferidas, al menos una de las primera y segunda composiciones es un producto de limpieza, loción, crema, esencia, o suero, y la otra es una máscara facial o toallita. En ciertas otras realizaciones

preferidas, al menos una de las primera y segunda composiciones es un producto de limpieza y la otra es una loción o crema.

[0122] La composición y formulaciones y productos que contienen tales composiciones de la presente invención se pueden preparar utilizando una metodología que es bien conocida por un experto en la materia. Estas composiciones pueden ser útiles en el tratamiento de pieles de envejecimiento tales como arrugas, pérdida de elasticidad, piel desigualada incluyendo la reducción de manchas. La composición se puede utilizar de forma rutinaria y está sustancialmente libre de irritantes de la piel.

[0123] Los siguientes ejemplos no limitativos ilustran adicionalmente la presente invención.

Ejemplo 1

[0124] Producción de ácido hialurónico en los fibroblastos dérmicos humanos después de tratar las células con extractos de *Pichia anomala* y/o la raíz de achicoria se determinó mediante la prueba de la secreción de ácido hialurónico (HA) descrito anteriormente. Los resultados se muestran en las Tablas 1 y 2, en las que los valores representan la media de los estudios independientes.

[0125] Los extractos de *Pichia anomala* fueron suministrados en forma líquida tratados como solución madre al 100%, y se añade directamente al medio de cultivo en la cantidad apropiada para alcanzar las concentraciones ensayadas finales.

[0126] El extracto de raíz de achicoria era un polvo que contiene aproximadamente glucosamina al 12% en peso preparado como se describe en la Patente de Estados Unidos Nº 8652532. Se resuspendió en solución salina de tampón de fosfato (PBS) para hacer una solución madre al 10% (peso/volumen). Después, esta solución madre se diluyó adicionalmente en el medio de cultivo celular para llegar a las concentraciones ensayadas finales.

[0127] Los dos extractos se añadieron al medio de cultivo solo o junto a las dosis descritas y se utilizaron sus efectos resultantes sobre la secreción de HA para determinar el cambio de veces de la producción de HA en comparación con los no tratados.

Tabla 1

Extracto *Pichia anomala** (% en peso)	Cambio de veces de la producción de HA sobre no tratado		
	+ Extracto de raíz de achicoria ** (% en peso)		
	0,0%	0,05%	0,2%
0,0	1,00 (sin tratar)	0,9	1,06
1	1,13	2,68	1,97
2,5	1,02	2,59	3,47
* *Pichia anomala* obtenida a partir de la planta Kiwi ** Extracto de raíz de achicoria preparado como se describe en el documento US 8.652.532.			

Tabla 2

Pichia anomala extracto * (% en peso)	Cambio de veces de la producción de HA sobre no tratado		
	+ Extracto de raíz de achicoria ** (% en peso)		
	0,0%	0,05%	0,2%
0,0	1,00 (sin tratar)	0,9	1,06
1	0,84	2,38	2,74
2,5	1,06	2,36	NT
* *Pichia anomala* obtenida a partir de caña de azúcar ** Extracto de raíz de achicoria preparado como se describe en el documento US 8.652.532 NT = No ensayado			

[0128] Estos datos indican que el tratamiento de fibroblastos dérmicos humanos con una combinación de extractos de raíz de achicoria y de Pichia anomala resultaron en una estimulación sinérgica inesperada de la producción de HA.

[0129] Puede observarse que las células tratadas con extracto de 2,5% de Pichia anomala de kiwi y 0,2% de extracto de raíz de achicoria proporcionan un cambio de veces de 3,47 en la producción de HA sobre no tratado, que ascendió a un cambio de 1,67 sobre cambios de veces de aditivos.

Ejemplo 2

[0130] Para estudiar adicionalmente los efectos sobre una gama más amplia de concentraciones, los extractos de *Pichia anomala* fueron seleccionados de planta Kiwi y el extracto de raíz de achicoria preparado como se describe en la Patente de Estados Unidos Nº 8.652.532. Siguiendo los mismos protocolos del Ejemplo 1, se añadieron los dos extractos a los medios de cultivo, ya sea solos o juntos a las dosis descritas y se utilizaron sus efectos resultantes sobre la secreción de HA para determinar el cambio de veces de la producción de HA en comparación con no tratados. Los resultados se muestran en la Tabla 3. Se usaron los cambios de veces de la Tabla 3 para determinar los efectos de sinergia sobre efectos aditivos para cada combinación usando la fórmula indicada anteriormente. Los efectos de sinergia más efectos aditivos se presentan en la Tabla 4.

Tabla 3

Extracto de *Pichia anomala** (% en peso)	Cambio de veces de la producción de HA sobre no tratado				
	+ Extracto de raíz de achicoria** (% en peso)				
	0,0	0,01%	0,02%	0,05%	0,2%
0,0	1,00 (sin tratar)	0,83	0,87	0,77	0,7
0,5	0,79	0,66	0,77	0,84	1,65
1	0,81	0,77	1,0	1,32	4,36
5	2,32	10,26	16,09	79,66	25,7
* *Pichia anomala* obtenido a partir de la planta Kiwi ** Extracto de raíz de achicoria preparado como se describe en la patente US 8,652,532,					

Tabla 4

Extracto de *Pichia anomala** (% en peso)	Cambio de veces de producción de HA sobre aditivo (extracto de P.anomala + extracto de raíz de achicoria)			
	+ Extracto de raíz de achicoria** (% en peso)			
	0,01%	0,02%	0,05%	0,2%
0,5	<1,00	<1,00	<1,00	1,1
1	<1,00	<1,00	<1,00	2,87
5	3,26	5,04	25,77	8,48
* *Pichia anomala* obtenido a partir de la planta Kiwi ** Extracto de raíz de achicoria preparado como se describe en la patente de EE.UU nº 8,652,532,				

[0131] Los resultados de la Tabla 3 y 4 muestran claramente tratamiento de fibroblastos dérmicos humanos con una combinación de extractos de *Pichia anomala* y la raíz de achicoria resultó en una estimulación inesperada y sinérgica de la producción de HA. Se observaron los efectos de una manera dependiente de la dosis a dosis de 0,5-5% en peso de extracto de *Pichia anomala* en combinación con dosis de extracto de raíz de achicoria comprendidas entre 0,01 y 0,2% en peso produciendo un efecto de sinergia que van desde 1,1 hasta 25,77 veces. Por lo tanto, se espera que el uso de la combinación de *Pichia anomala* y extractos de raíz de achicoria en ciertas proporciones proporcionaría actividad anti-envejecimiento superior.

[0132] Los datos presentados en las Tablas 1-4 tomados juntos sugieren que se observaron efectos de sinergia significativos sobre efectos aditivos cuando el extracto de *Pichia anomala* se utilizó en una cantidad de >2% en combinación con extracto de raíz de achicoria. Más importante aún las combinaciones observadas eficaces son 5% de extracto de *Pichia anomala* con 0,01-0,2% de extracto de raíz de achicoria que resulta en un efecto de sinergia en el rango de 3,26-25,77 veces (Tabla 4). El uso de 1 o 2,5% de extracto de *Pichia anomala* con 0,2% de extracto de raíz de achicoria también produce efectos significativos de sinergia (Tablas 1 y 4).

Ejemplo 3

[0133] Una combinación de: 1) un ingrediente que comprende un extracto de *Pichia Pastoris* y resveratrol (METABIOTICS disponible comercialmente de Lonza Personal Care) con 2) el extracto de raíz de achicoria descrito en el Ejemplo 1 se ensayó para la producción de HA en la prueba de secreción de ácido hialurónico (HA).

[0134] Los resultados se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5

	Producción de veces de HA en no tratado	Efectos sinérgicos sobre efectos aditivos: >1,00
Sin tratamiento 0%	1,00	N/A
Pichia Pastoris/resveratrol 1%	0,75	N/A
Pichia Pastoris/resveratrol 2,5%	0,60	N/A
Pichia Pastoris/resveratrol 1% de extracto de raíz de achicoria + 0,05%	1,50	<1,00
Pichia Pastoris/resveratrol 2,5% de extracto de raíz de achicoria + 0,05%	0,83	<1,00
Pichia Pastoris/resveratrol 1% de extracto de raíz de achicoria + 0,2%	0,86	<1,00
Pichia Pastoris/resveratrol 2,5% de extracto de raíz de achicoria + 0,2%	1,28	<1,00

[0135] El uso de un extracto de Pichia pastoris en combinación con extracto de raíz de achicoria no proporcionó producción sinérgica de HA en fibroblastos dérmicos humanos. Esto indica que no todos los extractos de Pichia son los mismos.

Ejemplo 4

[0136] Una combinación de: 1) *Pichia anomala* descrita en el Ejemplo 1, y 2) VEDERINE® SP, un extracto de la raíz de achicoria comercialmente disponible de Silab-France, se ensayó para la producción de HA en el Ensayo de secreción de ácido hialurónico (HA).

[0137] Los resultados se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6

	Producción de veces de HA sobre no tratado	Efectos sinérgicos sobre efectos aditivos: >1,00
Sin tratamiento 0%	1,00	N/A
VEDERINE 0,2%	0,79	N/A
VEDERINE 2%	0,79	N/A
Pichia anomala 1% + VEDERINE 0,2%	0,80	<1,00
Pichia anomala 5% + VEDERINE 0,2%	0,73	<1,00
Pichia anomala 1% + VEDERINE 2%	1,07	1
Pichia anomala 5% + VEDERINE 2%	0,58	<1,00

[0138] El uso de la Pichia anomala en combinación con VEDERINE® SP no logró proporcionar una producción sinérgica de HA en fibroblastos dérmicos humanos. Por lo tanto se indica que todos los extractos de raíz de achicoria son iguales.

Ejemplo 5

[0139] Las cuatro composiciones para el cuidado de la piel siguientes se realizan de acuerdo con la invención.

Tabla 7

Nombre INCI	% en peso
Agua	66,59
Cloruro de sodio	0,01
Extracto de *Pichia anomala*	5,00
Extracto de raíz de achicoria	0,05
Petrolato	4,00
Dodecilhexadecanol	2,50
Dimeticona	1,25
Palmitato de isopropilo	3,00
Cloruro de diestearildimonio	5,00
Glicerina	12,00
Alcohol de bencilo	0,60

[0140] La composición que se muestra en la Tabla 7 anterior se puede preparar del siguiente modo: Se añade agua a un recipiente de proceso. La mezcla se inicia y se añade la sal y se mezcla hasta que se disuelva. Se aplica calor y se continua mezclando hasta que se alcanza 85°C. A continuación se añade la glicerina mientras que se continúa la mezcla y la temperatura se mantiene a 85°C. Se añade cloruro de diestearildimonio, como es vaselina y dodecilhexadecanol, dimeticona, y palmitato de isopropilo. La composición se mezcla a 85°C durante otros 10-15 minutos. La composición se retira entonces del calor y se continúa la mezcla y se enfria. A 40°C, el extracto de raíz de achicoria, extracto de *Pichia anomala,* se añaden y alcohol bencílico, q.s. con agua y continúan mezclándose y se enfrían a 30-35°C. La composición se llena entonces en envases.

Tabla 8

Nombre INCI	% en peso
Agua	65,35
Petrolato	4,00
Dodecilhexadecanol	2,50
Dimeticona	1,25
BHT	0,10
Palmitato de isopropilo	3,00
Cloruro de diestearildimonio	5,00
Extracto de *Pichia anomala*	5,00
Extracto de raíz de achicoria	0,2
Glicerina	12,00
Soja de Glicina (soja) Aceite y Retinol	1,00
Alcohol de bencilo	0,60

[0141] La composición que se muestra en la Tabla 8 anterior puede prepararse del siguiente modo: Se añade agua a un recipiente de proceso y la temperatura se ajusta a 85°C. La mezcla se inicia y se añade glicerina y se mezcla hasta que se disuelva. Cloruro de diestearildimonio y vaselina se añaden junto con dodecilhexadecanol, dimeticona y palmitato de isopropilo. La composición se mezcla a 85°C durante otros 10-15 minutos. La composición se retira del calor y se añaden entonces Aceite de Soja de Glicina (soja) y Retinol, extracto de raíz de achicoria, y extracto de *Pichia anomala* se añaden a la mezcla y se enfría. A 40°C, se añade alcohol de bencilo, q.s. con agua y continúa mezclándose y se enfría a 30-35°C. La composición se llena entonces en envases.

Tabla 9

Nombre INCI	% en peso
Agua desionizada	77,49
Glicol de pentileno	5,00
Extracto de *Pichia anomala*	0,5
Extracto de raíz de achicoria	0,01
Oleosoma de Carthamus tinctorius	10,00
Benzoato de alquilo C12-15	4,00
copolímero de acriloildimetilo-taurato de amonio/VP	2,00
Jugo de hoja/flor/tallo de Chrysanthemum Parthenium (Matricaria)	1,00

[0142] La composición que se muestra en la Tabla 9 anterior puede prepararse del siguiente modo: extracto de raíz de achicoria y Extracto de *Pichia anomala* se miden y se disuelven en pentilenglicol y agua desionizada se añade para formar la Fase A. Oleosoma de Carthamus tinctorius y benzoato de alquilo C12-15 se mezclan para formar la Fase B. La Fase B se añade a la fase a muy lentamente bajo mezclado continuo. Se continúa la mezcla durante 15 minutos hasta que se forma una emulsión uniforme. Copolímero de acriloildimetilo-taurato de amonio/VP se añade a la emulsión bajo mezclado continuo a alta velocidad para obtener una formulación de espesor, suave y homogénea.

Tabla 10

Nombre INCI	% en peso
Agua	66,95
Ácido poliacrílico reticulado	0,60
EDTA disódico	0,20
Steareth-2	0,75
Steareth-21	1,50
Benzoato de alquilo C12-15	2,00
Dimeticona	5,00
Phenonip XB	1,00
Peucedanum graveolens (10% activo)	10,00
Maltodextrina, *Rubus fruticosus* (mora) Extracto de hoja (10% activo)	10,00
Extracto de *Pichia anomala*	0,5
Extracto de raíz de achicoria	0,2
Glicerina	1,00

[0143] La composición que se muestra en la Tabla 7 anterior se puede preparar del siguiente modo: una fase de aceite se prepara añadiendo benzoato de alquilo C12-15 a un vaso de precipitados de vidrio limpio. La agitación se inicia y el recipiente se calienta a 55-60°C. Cuando la fase de aceite alcanza 55°C o superior, se añaden Brij 72 y Brij 721. Cuando la fase de aceite llegue a 55-60°C, se mantiene a esa temperatura y se mezcla durante 15 minutos (o hasta estar uniforme). La temperatura se mantiene a 55-60°C con mezcla hasta la adición a la fase de agua. Una fase de agua se prepara añadiendo agua a un vaso de precipitados de vidrio limpio. La agitación se inicia y el recipiente se calienta a 55-60°C. Se añaden EDTA disódico y Ultrez 10. A 55-60°C, los ingredientes se mezclan durante 15 minutos o hasta homogeneidad. La temperatura se mantiene a 55-60°C con mezcla para eliminación. La fase de aceite se añade a la fase de agua con aumento de la agitación y después se mezcla a alta velocidad durante 10-20 min. A 50°C o inferior, se añade dimeticona. A 40°C, o inferior, se añade Phenonip XB. Las fases se mezclan a continuación durante 10 minutos o hasta estar uniformes. Se añade el hidróxido de sodio (el pH objetivo es 5,4). La composición se mezcló a continuación durante 10 minutos o hasta estar uniforme. *Peucedanum graveolens* (10% activo) y Maltodextrina, Extracto de hoja de *Rubus fruticosus* (mora) (10% activo) se añaden a continuación. Extracto de raíz de achicoria y extracto de *Pichia anomala* se miden y se disuelven en glicerina y se añaden a la mezcla. Esto se mezcla hasta estar uniforme. Después se añade agua a QS y la composición se mezcla a continuación durante 10 minutos.

Ejemplo 6

[0144] Una composición de cuidado de la piel según la invención se realizó y se ensayó para la producción de ácido hialurónico en explantes normales de la piel humana medida por inmunohistofluorescencia. La composición se

compara con un placebo (que no contiene ni extracto de *Pichia anomala* ni extracto de raíz de achicoria).

[0145] El ensayo se realizó del siguiente modo. Punzones de diámetro de 8 mm fueron cortados de plastias humanos y se mantuvieron en condiciones de supervivencia en medio de cultivo. Los explantes fueron tratados por vía tópica cada día con las fórmulas de ensayo. Los explantes se recuperaron, se fijaron, se deshidrataron y se incluyeron en parafina. Secciones de 4 µM fueron entonces preparadas con un microtomo Leica RM2125RT.

[0146] La visualización se llevó a cabo con un microscopio de IX 70 acoplado a un sistema de análisis de imagen. La intensidad de fluorescencia (verde) es proporcional a la síntesis de ácido hialurónico. Se realizó un análisis cuantitativo de imágenes con el software.

[0147] Los resultados se expresan como la intensidad de fluorescencia basada en la superficie total de la dermis (en unidades arbitrarias (AU)).

[0148] Los ingredientes de la composición y los resultados se muestran en la Tabla 11.

Tabla 11

% Regulación hacia arriba de ácido hialurónico frente a placebo	**34**
Síntesis de ácido hialurónico (AU)	**42,97**
Nombre del ingrediente	**% p/p**
Agua purificada	69,59
Avena coloidal	1,00
Cloruro de sodio	0,01
Cloruro de diestearildimonio	5,00
Alcohol cetílico	2,50
Dimeticona (50 cst)	1,25
Petrolato	4,00
Palmitato de isopropilo	3,00
Glicerina	12,00
Alcohol de bencilo	0,60
Extracto de *Pichia anomala*	1,00
Extracto de raíz de achicoria	0,05
Total	100,00
pH diana	5,5

[0149] Esta composición, que contiene glicerina al 12% en peso, y que tiene un pH de 5,5, demostró un excelente aumento en la producción de ácido hialurónico.

Reivindicaciones

1. Una composición tópica que comprende un extracto de *Pichia anomala* y un extracto de raíz de achicoria (*Cichorium intybus)*, en la que el extracto de raíz de achicoria contiene hasta 20% en peso de glucosamina y en la que la composición comprende más de 2 por ciento en peso del extracto de *Pichia anomala.*

2. La composición tópica de la reivindicación 1, en la que el extracto de *Pichia anomala* se prepara a partir de una cepa de *Pichia anomala* presente en fruta/hojas de kiwi.

3. La composición tópica de la reivindicación 1, en la que el extracto de *Pichia anomala* se prepara a partir de una cepa de *Pichia anomala* presente en la caña de azúcar.

4. La composición tópica de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en la que el extracto de raíz de achicoria contiene inherentemente hasta un 12% en peso de glucosamina.

5. La composición tópica de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende más que 2 a 20 por ciento en peso del extracto de *Pichia anomala.*

6. La composición tópica de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende más que 2 a 5 por ciento en peso del extracto de *Pichia anomala.*

7. La composición tópica de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende 0,01 a 0,2 por ciento en peso del extracto de la raíz de achicoria.

8. La composición tópica de cualquiera de las reivindicaciones anteriores que comprende además al menos 10% en peso de glicerina.

9. La composición tópica de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que tiene un pH de 6,5 o menos.

10. Un método cosmético, o no terapéutico de tratamiento de una señal de envejecimiento de la piel, que comprende aplicar tópicamente a la piel en necesidad de tratamiento para el envejecimiento de la piel una composición tópica que comprende un extracto de *Pichia anomala* y un extracto de raíz de achicoria (*Cichorium intybus)*, en el que el extracto de raíz de achicoria contiene hasta 20% en peso de glucosamina y en el que la composición comprende más de 2 por ciento en peso del extracto de *Pichia anomala.*

11. Un método cosmético, o no terapéutico de mejora de la función de barrera de la piel e hidratación, que comprende la aplicación tópica a la piel en la necesidad de mejorar la función de barrera de la piel y humectación de una composición tópica que comprende un extracto de *Pichia anomala* y un extracto de raíz de achicoria (*Cichorium intybus)*, en el que el extracto de raíz de achicoria contiene hasta 20% en peso de glucosamina y en el que la composición comprende más que 2 por ciento del extracto de *Pichia anomala*.