

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 683 871**

51 Int. Cl.:

A61K 8/9789	(2007.01)	A61Q 7/00	(2006.01)
A61Q 19/00	(2006.01)	A61Q 17/00	(2006.01)
A61K 36/48	(2006.01)	A61Q 17/04	(2006.01)
A23L 2/52	(2006.01)	A61Q 19/02	(2006.01)
A23L 2/66	(2006.01)	A61Q 19/04	(2006.01)
A23L 33/105	(2006.01)	A61Q 19/08	(2006.01)
A23L 33/18	(2006.01)		
A23L 33/185	(2006.01)		
A61Q 3/02	(2006.01)		
A61Q 5/00	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.11.2010 PCT/EP2010/068573**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **03.06.2011 WO11064401**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.11.2010 E 10795960 (3)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.06.2018 EP 2506724**

54 Título: **Extracto de semillas de Vigna unguiculata y composiciones que lo comprenden**

30 Prioridad:

30.11.2009 FR 0958529

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

28.09.2018

73 Titular/es:

**LABORATOIRES EXPANSCIENCE (100.0%)
1, Place des Saisons
92048 Paris La Défense Cedex, FR**

72 Inventor/es:

**MSIKA, PHILIPPE;
SAUNOIS, ALEX;
LECLERE-BIENFAIT, SOPHIE y
BAUDOIN, CAROLINE**

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 683 871 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

Extracto de semillas de *Vigna unguiculata* y composiciones que lo comprenden.

5 La invención se refiere a una composición que comprende un extracto de semillas de *Vigna unguiculata*. El extracto es un extracto peptídico y osídico de semillas de *Vigna unguiculata*. La composición es ventajosamente cosmética, farmacéutica, dermatológica o nutracéutica. La invención tiene asimismo por objeto un procedimiento de extracción de un extracto de semillas de *Vigna unguiculata*, así como el extracto susceptible de ser obtenido mediante dicho procedimiento. La invención se refiere también a una composición de este tipo o a un extracto de este tipo para su utilización en la prevención o el tratamiento de los trastornos o patologías de la piel, de las mucosas o de los faneros, para su utilización en la prevención o el tratamiento de los trastornos vasculares, o también para su utilización en la prevención o el tratamiento de las alteraciones del tejido adiposo. La invención se refiere finalmente a un procedimiento de cuidado cosmético de la piel, de los faneros o de las mucosas, con vistas a mejorar su estado o su aspecto, que comprende la administración o que consiste en administrar una composición de este tipo o un extracto de este tipo.

20 *Vigna unguiculata* es una leguminosa tropical de la cual varias subespecies son muy cultivadas con fines alimenticios por sus semillas. Los cultivos de esta planta que se remontarían a 5 o 6000 años pertenecen a las más antiguas conocidas practicadas en África con el sorgo y el mijo. Cabe señalar a partir de ahora posibles confusiones que aparecen en documentos y obras entre nombres vernáculos de subespecies.

La planta *Vigna unguiculata*

25 De nombre botánico *Vigna unguiculata* (L.) Walp., *Vigna unguiculata*, que pertenece al orden de las Fabales y a la familia botánica de las Fabáceas, presenta unos órganos todos muy característicos de las leguminosas. Sin embargo, existen unas diferencias morfológicas de un cultivo a otro. Los nombres habituales de planta son Niebé, guisante de vaca, carilla, judías de ojo negro, judía indígena y el término inglés "cowpea" designan la especie *V. unguiculata* así como todas sus subespecies.

30 *V. unguiculata* es una planta herbácea alargada, recta o trepadora, que mide como media 30 a 60 cm (extremos: 15-80 cm) de altura. Las hojas son alternas, trifoliadas, con un peciolo de 5 a 25 cm de largo. Los folíolos laterales son opuestos y asimétricos mientras que el folíolo central es simétrico, oval, y frecuentemente más grande. Sus tamaños y formas varían. Son lisas, mates o brillantes, raramente pubescentes.

35 La inflorescencia es ramosa con largos pedúnculos terminados por unas flores de color blanco, crema, amarillo, malva o púrpura.

40 Las flores, clásicas de leguminosas, contienen un néctar que contribuye a atraer a los insectos. Las vainas, reunidas por 2 o 3, incluso más en cada pedúnculo floral, son duras y firmes, cilíndricas, apretadas entre las semillas, rectas a ligeramente arqueadas, y miden de 10 a 25 cm de largo. Contienen de 10 a 15 semillas. Cuando las semillas maduran, el color de las vainas puede diferir: comúnmente verdes, amarillas o púrpuras. Cuando las semillas se secan, las vainas se vuelven marrón-rojizas o marrones.

45 *V. unguiculata* se cultiva en las regiones ecuatoriales, tropicales y subtropicales situadas entre los paralelos 35° norte y 30° sur. Se trata de un cultivo de temporada caliente bien adaptado a numerosas regiones de los trópicos húmedos. Es poco exigente a nivel del suelo.

Características de la semilla

50 Las semillas tienen unos tamaños y formas variables más o menos oblongas relacionadas con la compresión ejercida por la vaina: en forma de riñón en caso de vainas sueltas, más globular en caso de compresión. Sus colores son muy variados: blanco, marfil, verde, gamuza, rojo, marrón o negro. Puede ser muy manchadas o moteadas por un color diferente y presentan la particularidad de una mancha negra alrededor del hilio (dando como resultado algunas denominaciones vernáculos: por ejemplo judías de ojo negro).

55 La cutícula de la semilla puede ser lisa o arrugada. El tamaño de las semillas varía de 6 a 10 mm de longitud sobre 4 a 7 mm de anchura. Cien semillas pesan de 11 a 26 gramos (Henshaw, 2008).

60 Los contenidos en proteínas que aparecen en la bibliografía consultada son elevados. Se sitúan entre 19,5 y 27,3% m/m. A nivel de los aminoácidos, las semillas de *V. unguiculata* estaban consideradas en 1959 como bastante equilibradas en aminoácidos esenciales (Busson *et al.*, 1959). Sin embargo, según los datos más recientes, y es el caso de todas las leguminosas, resultan deficitarias en aminoácidos azufrados (metionina y cistina) comparadas con las proteínas animales y según las recomendaciones de la FAO/WHO (Olivera-Castillo *et al.*, 2007; Maia *et al.*, 2000; Hussain MA, Basahy, 1998). Estos dos aminoácidos esenciales y azufrados aparecen para esta semilla como los primeros factores limitantes en los niños de 2 a 5 años (Maia *et al.*, 2000).

En 1980, se ha distinguido una globulina mayoritaria, heterogénea, de un peso molecular de 170000 (Khan *et al.*, 1980). Las globulinas constituyen más del 51% de las proteínas de la semilla y las albuminas aproximadamente el 45%. Por electroforesis o cromatografía aniónica, las globulinas se reparten en 3 componentes principales, α -, β - y γ -vignina (Freitas *et al.*, 2004). Freitas *et al.*, 2004 dan otras precisiones a propósito de las propiedades de estas proteínas (características químicas, coeficiente de sedimentación, análisis inmunológico, hemaglutinación).

Los contenidos en glúcidos de las semillas de niebé se han publicado menos que los de las proteínas ya que son mucho más corrientes para unas semillas vegetales.

10 Azúcares simples (monómeros o dímeros):

- fructosa, glucosa, manitol, inositol (Hussain y Basahy, 1998).
- sacarosa (0,7-4,6%) sobre 10 muestras de Nigeria (Nwinuka *et al.*, 1997).

15 Oligosacáridos:

- estaquiosa (2,4-4,1%) y rafinosa (1,2-6,8%) sobre 10 muestras de Nigeria (Nwinuka *et al.*, 1997; Onigbinde y Akinyele, 1983).
- verbascosa (Hussain y Basahy, 1998).

Los contenidos en lípidos de las semillas son bajos, no superando 3,5%.

25 Otros constituyentes de las semillas:

- Fibras alimenticias: 1,7-4,5% (6 variedades de Nigeria - Onwuliri y Obu, 2002) 2,6% (muestra de Méjico - Rivas-Vega *et al.*, 2006) 15,8%; de las cuales 13,1% insolubles 2,7% solubles (Kahlon y Shao, 2004).
- Taninos: 0-0,2% (6 variedades de Nigeria - Onwuliri *et al.*, 2002) 0,12-0,14% (variedades de Nigeria - Ene-Obong, 1995).
- Oxalato: 0,8-1,71% (6 variedades de Nigeria - Onwuliri y Obu, 2002)
- Fitatos: 0,24-1,41% (6 variedades de Nigeria - Onwuliri y Obu, 2002) 0,84-0,99% (variedades de Nigeria - Ene-Obong, 1995)
- Minerales: 3,3-4,2% (Henshaw, 2008)

Contenidos corrientes de los diferentes minerales. Se citan unos contenidos notorios en hierro que van de 5,6 a 15 mg/100 g (Singh *et al.*, 2002) y 5 a 15 mg/100 g (Oluwatosin, 1998) en las semillas secas; pero no para todos: 1,6 mg/100 g para una muestra Turca (Kabas *et al.*, 2007).

- Ureidos:

Según un estudio, la alantoína y el ácido alantoico representan las fracciones principales del pool nitrogenado soluble de los nódulos sobre raíces de *Vigna unguiculata* [L.] Walp. cv. Caloona durante el crecimiento vegetativo y la reproducción. El tallo y los pecíolos han aparecido como los principales sitios de la acumulación de estos ureidos, particularmente al principio de la fructificación (contenidos no explícitos). En otras leguminosas, los ureidos predominarían en las semillas (por ejemplo *Phaseolus mungo* L., *Dolichos spp.*, *Glycine max* [L.] M).

Unos análisis nutricionales, realizados por la solicitante, sobre semillas de diferentes orígenes muestran que pueden contener, por ejemplo:

- 22% de fibras
- 22% de proteínas
- 1% de lípidos
- 3,4% de sacarosa

60 **Técnica anterior**

Usos tradicionales

La utilización con fines alimenticios constituye el uso tradicional principal de las semillas de niebé en el mundo.

65

Alimentación humana (Singh *et al.*, 2002)

La semilla de *V. unguiculata* es un alimento nutricional importante para una parte de las poblaciones que viven en un clima tropical. A título de ejemplo, cada nigeriano come niebé y el consumo por habitante es de aproximadamente 25 a 30 kg por año. En Brasil, el consumo sería de 20 kg/habitante/año.

En los USA, después de la limpieza y del acondicionamiento, las semillas de cowpeas y purpleeye se venden habitualmente al público como alimentos. En este país, se encuentran también en forma de conservas, de sopas o bien mezcladas con otras legumbres.

En África, la semilla seca se muele y se consume comúnmente en varios platos tradicionales africanos, como la papilla, el pan, el alimento de destete para niños o también transformada en buñuelos. Esta utilización tradicional está perfectamente descrita en informes de M. Quétian Bognounou, oficial y caballero de la orden nacional, caballero de las palmas académicas, encargado de estudio de flora y etnobotánica del INERA del Burkina Faso co-escritos con M. Marc Olivier, consultor en etnobotánica.

Cabe señalar que las hojas jóvenes y las vainas inmaduras se utilizan también como legumbres en países tropicales.

Alimentación animal (Singh *et al.*, 2002)

En muchas regiones tropicales, la planta de por si es el único forraje de alta calidad disponible para alimentar al ganado. Las partes verdes de la planta como las marchitadas después de la recogida de las semillas, pueden ser utilizadas para la alimentación de los conejos.

Son fuente de proteínas (17-30% / MS), de fibras (18-29% de celulosa bruta / MS). Las vainas vacías obtenidas después de la trilla de las semillas forman también una fuente interesante de fibras (32-35% de celulosa bruta / MS), pero son más pobres en proteínas (12-14% / MS). (Djago *et al.*, 2007).

Usos en medicina tradicional

En China, las semillas no parecen ser utilizadas como profármaco al contrario de las vainas sin semillas y de la planta (Duke y Ayensu, 1985).

En África, y más particularmente en Burkina Faso, las hojas pueden ser utilizadas en cataplasmas contra algunas dermatosis e hinchazones.

El documento EP 0 238 946 divulga un aislado de proteínas, que contiene preferentemente por lo menos 83% en peso de proteínas, que tiene un peso molecular superior a 20000 Dalton. No se trata así de péptidos extraídos de *Vigna*, sino de proteínas. En el procedimiento según el documento EP 238 946, se utilizan unas enzimas proteolíticas para favorecer la coagulación de las proteínas en el aislado de proteínas favoreciendo la escisión de los enlaces peptídicos. Las enzimas proteolíticas utilizadas se seleccionan en particular de entre el cuajo estándar, el cuajo microbiano, la renina, la quimosina, la pepsina y la papaína.

El documento EP 0 532 465 describe unas fracciones proteicas de semillas de leguminosas. Se cita la planta *Vigna*, pero no la especie específica *Vigna unguiculata*.

El documento WO 2005/105123 se refiere a un medicamento que comprende un extracto peptídico de aguacate y que puede comprender también una composición que contiene D-manoheptulosa y/o perseitol.

Además, los documentos XP 003032289 (Vrddha Talakesvararasa), XP 003032291 (Bhrngarajatailam) y XP 003032292 (Dvitiyakulitha Gudah) se refieren a unas decocciones a partir de *Vigna Unguiculata*.

Descripción de la invención

La solicitante ha descubierto que unos extractos de semillas de *Vigna unguiculata* tales como unos extractos peptídicos y osídicos, presentan unas propiedades cosméticas y dermatológicas jamás descritas hasta ahora. En particular, es la primera vez que se utilizan unos extractos peptídicos y osídicos de *Vigna unguiculata* como tales, por sus propiedades específicas.

La invención tiene por objeto una composición que comprende un extracto de semillas de *Vigna unguiculata*, comprendiendo dicho extracto de semillas una mezcla de péptidos y de azúcares, tal como un extracto peptídico y osídico de semillas de *Vigna unguiculata*, eventualmente en asociación con un excipiente apropiado.

La composición es ventajosamente cosmética, farmacéutica, dermatológica o nutracéutica. Dicha composición está preferentemente formulada para ser administrada por vía tópica externa u oral.

El extracto de semillas de *Vigna unguiculata* según la invención es un extracto peptídico y osídico.

5 Por "extracto peptídico y osídico" se entiende un extracto que comprende mayoritaria o esencialmente unos péptidos y unas osas (azúcares).

Ventajosamente, el extracto de semillas de *Vigna unguiculata* está constituido esencialmente por una mezcla de péptidos y de azúcares.

10 El extracto de semillas de *Vigna unguiculata* según la invención está sustancialmente exento de cualquier proteína nativa residual, ya que estas proteínas pueden provocar unas reacciones alérgicas que se desea evitar.

Típicamente, el extracto de semillas de *Vigna unguiculata* está exento sustancialmente de aminoácidos.

15 El extracto según la presente invención comprende de 10 a 90% en peso de péptidos y de 10 a 90% en peso de azúcares totales, estando los porcentajes expresados con respecto al peso total de dicho extracto.

20 En un modo de realización particular de la presente invención, el extracto comprende de 10 a 50%, ventajosamente de 20 a 45%, típicamente de 20 a 40%, en particular de 30 a 40% en peso de péptidos.

En otro modo de realización particular de la presente invención, el extracto comprende de 20 a 80%, ventajosamente de 30 a 70%, típicamente de 50 a 60%, en peso de azúcares.

25 Según un aspecto preferido de la invención, el extracto peptídico y osídico comprende 30% a 40%, por ejemplo 30% en peso de péptidos y 50 a 60%, por ejemplo 60%, en peso de azúcares. Los porcentajes están expresados típicamente con respecto al peso total de materia activa de dicho extracto antes de la adición, por ejemplo, de un eventual soporte de secado.

30 Según una característica particular de la presente invención, la relación péptidos/azúcares del extracto es inferior o igual a 1, y está comprendida ventajosamente entre 0,5 y 1.

Según una variante ventajosa de la invención, la composición contiene 0,001 a 10%, típicamente 0,01 a 5%, en peso de extracto, expresado en porcentaje de extracto seco.

35 La invención tiene asimismo por objeto un procedimiento de preparación de un extracto peptídico y osídico de semillas de *Vigna unguiculata*.

40 Ventajosamente, según la invención, el procedimiento de preparación de un extracto peptídico y osídico de semillas de *Vigna unguiculata* comprende las etapas sucesivas siguientes:

- triturar semillas de *Vigna unguiculata*,
- dispersar las semillas de *Vigna unguiculata* trituradas en agua o en fase acuosa, ventajosamente a un pH comprendido entre 3,0 y 9,0 y a una temperatura comprendida entre 20 y 90°C,
- 45 - hidrolizar enzimáticamente dicha dispersión, y
- recuperar el extracto peptídico y osídico.

50 Tras la dispersión en fase acuosa, se realiza una hidrólisis enzimática.

55 La hidrólisis enzimática se realiza mediante una o unas enzimas adaptadas en las condiciones óptimas de pH y de temperatura, conocidas por el experto en la materia, por ejemplo a un pH comprendido entre 3,0 y 9,0, y típicamente a una temperatura comprendida entre 20 y 90°C, mediante una mezcla de proteasas y de carbohidrasas, tales como pectinasas, celulasas, arabanasas, hemicelulasas, xilanasas y β -glucanasas, y después se recupera el extracto peptídico y osídico.

60 La hidrólisis enzimática de la dispersión puede estar seguida, si fuese necesario, de un tratamiento térmico con el fin de desnaturalizar las enzimas, típicamente entre 80 y 100°C.

65 La etapa de hidrólisis del procedimiento según la invención es muy importante, ya que permite transformar o "recortar" las proteínas nativas presentes en las semillas de *Vigna* en péptidos. Esta etapa permite también ventajosamente transformar o "recortar" los polisacáridos presentes en las semillas de *Vigna* en oligosacáridos o monosacáridos.

De manera particularmente ventajosa según la invención, el procedimiento comprende una etapa de hidrólisis

enzimática, y después una etapa de ultrafiltración, por ejemplo a un umbral de corte comprendido entre 10000 Dalton y 15000 Dalton, para eliminar las proteínas residuales que son potencialmente alergénicas y eventualmente las enzimas.

5 En un modo de realización particular según la invención, el procedimiento comprende también una etapa de nanofiltración con, por ejemplo, un umbral de corte comprendido entre 100 Dalton y 300 Dalton, ventajosamente entre 130 y 300 Dalton, típicamente entre 200 Dalton y 300 Dalton, para eliminar los aminoácidos libres o las sales minerales, tras la etapa de ultrafiltración.

10 Según una variante ventajosa de la invención, tras la hidrólisis de la dispersión y previamente a la recuperación del extracto peptídico y osídico, se procede a una filtración o a una centrifugación, eventualmente seguida de una ultrafiltración, diafiltración y/o nanofiltración.

15 Preferentemente, a título de ejemplo, el extracto peptídico y osídico se puede obtener según el procedimiento siguiente:

- a) poner en solución unas semillas trituradas al 10% de materia seca en agua;
- 20 b) hidrolizar enzimáticamente unos carbohidratos por acción combinada de una amilasa (Amylyve AN30 de la compañía Lyven por ejemplo) y otra mezcla de carbohidrasas con actividades complementarias, tales como arabanasa, β glucanasa, hemicelulasa, xilanasa (Viscozyme L de la compañía Novozymes por ejemplo) en las condiciones de pH y temperatura óptimas para la actividad de estas enzimas;
- 25 c) seguido de una hidrólisis por una proteasa alcalina (por ejemplo la Prollyve 1000 de la compañía Lyven);
- d) tratamiento térmico con el fin de desnaturalizar las enzimas;
- e) centrifugación, ultrafiltración y/o diafiltración sobre membranas 15 kDa con el fin de eliminar las proteínas residuales potencialmente alergénicas;
- 30 f) nanofiltración sobre membrana 200 Da con el fin de eliminar unas sales minerales o unos aminoácidos libres, por ejemplo.

35 Ventajosamente, según la invención, tras la recuperación del extracto peptídico y osídico, se procede por lo menos a una de las etapas siguientes:

- decoloración del extracto así obtenido, por ejemplo en presencia de carbón activo o mediante cualquier otro medio conocido por el experto en la materia, y
- 40 - secado del extracto obtenido sobre un soporte o sin soporte.

45 Ventajosamente, el extracto peptídico y osídico puede ser secado según unos procedimientos conocidos por el experto en la materia en presencia o no de un soporte de tipo, por ejemplo, maltodextrinas o fibras de acacia (Fibregum[®] compañía CNI); típicamente según una relación que puede variar de 0% a 80% de soporte con respecto al porcentaje de materia seca obtenida en la forma líquida del extracto y preferentemente secado por liofilización con el fin de obtener en el polvo final, 50% de materia seca procedente del extracto y 50% de soporte de liofilización.

50 **Ejemplo de extracto peptídico y osídico líquido así obtenido:**

1 - Análisis psico-químico (%/materia seca total)

Extracto seco (2h, 105°C, estufa ventilada)	:	8,9%
pH	:	4,0
Nitrógeno α -aminado (OPA, equivalente leucina)	:	13%
Péptidos (Kjeldahl, N x 6,25)	:	28%
Azúcares solubles (HPLC)	:	60%
Cenizas totales	:	7%

55 2 - Perfil de las reparticiones de las masas molares de los péptidos solubles

Inferior a 130 Da	:	24%
Entre 130 - 300 Da	:	14%
Entre 300 - 1200 Da	:	48%
Entre 1200 - 3500 Da	:	13%

Superior a 3500 Da	:	≤1%
--------------------	---	-----

3 - Dosificación de oligosacáridos específicos (%/materia seca total)

- 5 Rafinosa: 5,9%
Estaquiosa: 2,4%
Verbascosa: 3,15%

10 La presente invención tiene asimismo por objeto un extracto de semillas de *Vigna unguiculata* susceptible de ser obtenido mediante el procedimiento mencionado anteriormente. Un extracto de este tipo contiene de 10 a 90% en peso de péptidos y de 10 a 90% en peso de azúcares.

En un modo de realización particular de la presente invención, el extracto comprende de 10 a 50%, ventajosamente de 20 a 45%, típicamente de 20 a 40%, en particular de 30 a 40% en peso de péptidos.

15 En otro modo de realización particular de la presente invención, el extracto comprende de 20 a 80%, ventajosamente de 30 a 70%, típicamente de 50 a 60%, en peso de azúcares.

20 Según un aspecto preferido de la invención, el extracto peptídico y osídico comprende 30% a 40%, por ejemplo 30%, en peso de péptidos y 50 a 60%, por ejemplo 60%, en peso de azúcares.

Según una característica particular de la presente invención, la relación péptidos/azúcares del extracto es inferior o igual a 1, y está comprendida ventajosamente entre 0,5 y 1.

25 Típicamente, los azúcares del extracto son unos monosacáridos u oligosacáridos, tales como rafinosa, estaquiosa, y verbascosa, o sus mezclas. En particular, los azúcares del extracto están compuestos principalmente por una mezcla de rafinosa, de estaquiosa, y de verbascosa.

30 Ventajosamente, según la invención, los péptidos del extracto presentan una masa molecular inferior o igual a 3500 Dalton. En particular, los péptidos del extracto presentan principalmente una masa molecular inferior o igual a 1200 Dalton, típicamente entre 300 y 1200 Dalton.

El extracto peptídico y osídico según la invención no contiene sustancialmente proteínas residuales que son potencialmente alergénicas.

35 En un modo de realización particular, el extracto peptídico y osídico según la invención no contiene sustancialmente aminoácidos libres.

Según otro aspecto de la invención, la composición puede comprender además por lo menos otro compuesto activo además del extracto de semillas de *Vigna unguiculata*.

40 Este otro compuesto se puede seleccionar de entre todos los compuestos y sus equivalentes funcionales, enunciados anteriormente.

45 Este otro compuesto se puede seleccionar en particular de entre unos activos utilizados clásicamente en dermatología o cosmética tales como los emolientes, los activos hidratantes, los keratorreguladores, los keratolíticos, los agentes que reestructuran la barrera cutánea, unos agonistas PPAR (Peroxisome Proliferator Activated Receptor), los agonistas RXR o LXR, los agonistas de los receptores a la vitamina D o a los corticoides, los activadores de la diferenciación de los queratinocitos (retinoides, calcinodé®, el calcio), los agentes seborreguladores, los agentes antiirritantes, los agentes calmantes, los agentes antiinflamatorios, los agentes antioxidantes y los agentes antiedad.

50 Este otro compuesto se puede seleccionar también de entre unos principios activos que tienen una acción terapéutica o cosmética complementaria, tales como los antibióticos, los pre y probióticos, los agentes antibacterianos, los compuestos antifúngicos, los agentes antivirales, los conservantes, los inmunomoduladores (tacrolimus o pimecrolimus), las oxazolininas, los factores de crecimiento, los agentes cicatrizantes o las moléculas eutróficas, los medicamentos, los agentes pigmentantes o hipopigmentantes, los agentes lipolíticos o inhibidores de la lipogénesis o también los agentes anticelulitis o adelgazantes, los filtros y pantallas solares minerales u orgánicos (pigmentarios o ultrafinos), unos alimentos clásicos o funcionales: híper o hipoglicemiantes, unos nutrientes anti-grasa o anticelulitis, anti-colesterol, antioxidante, energizante, reconstituyente, o que tiene un impacto sobre los signos secundarios de la menopausia.

55 Este otro compuesto se puede seleccionar también de entre unos extractos naturales de planta (partes de vegetales extraíbles en fase acuosa u oleosa: polifenoles, flavonoides, otros péptidos y azúcares, etc.), unos compuestos que contienen unos insaponificables de aceites vegetales, unos insaponificables esterólicos o unos productos que pueden contenerlos (insaponificables de aceites vegetales, en particular insaponificables de aceite

- de soja, insaponificables de mantecas vegetales o de materias butirosas y sus mezclas, insaponificables de ceras naturales, insaponificables de extractos oleosos, insaponificables de co-productos oleosos industriales, insaponificables de extractos de cuerpos grasos de origen animal, insaponificables de aceites marinos, insaponificables de extractos de la materia grasa láctica, insaponificables de lípidos extraídos de organismos unicelulares, insaponificables de lípidos extraídos de algas y organismos marinos, etc.), unos esteroides, unos estanoles, unos fitoesteroides, unos fitoestanoles, unos tocoferoles, unos concentrados de aceites de girasol, de colza y/o de palma, unos oligoelementos, unas vitaminas, unos ácidos grasos en omega 3, 6 o 9, unas plantas hipoglicemiantes o hiperglicemiantes o endulzantes.
- Los activos hidratantes/emolientes más utilizados son la glicerina o sus derivados, la urea, el ácido pirrolidona carboxílico y sus derivados, el ácido hialurónico de cualquier peso molecular, los glicosaminoglicanos y cualquier otro polisacárido de origen marino, vegetal o biotecnológico como, por ejemplo, la goma xantana, el fucogel[®], algunos ácidos grasos como el ácido láurico, el ácido mirístico, los ácidos grasos poli- y mono-insaturados de tipo omega 3, 6 y 7, 9 como el ácido linoleico y el ácido palmítico, el oleodestilado de girasol, los péptidos de aguacate, la manteca de Cupuaçu. Los moduladores de la diferenciación epidérmica, proteínas clave del *stratum corneum* o *granulosum*, que pueden ser utilizados en asociación son ventajosamente los retinoides, los péptidos de lupino, los azúcares de aguacate, o un extracto peptídico de quínoa.
- Los agentes más clásicos antiinflamatorios/antiirritantes, calmantes, son el ácido glicirretínico (los derivados de regaliz) con sus sales y ésteres, el ácido lipoico, el beta-caroteno, la vitamina B3 (niacinamida, nicotinamida), la vitamina E, la vitamina C, la vitamina B12, los flavonoides (té verde, quercetina, etc.), el licopeno o la luteína, los azúcares de aguacate, el oleodestilado de aguacate, el arabinogalactano, los péptidos de lupino, un extracto total de lupino, un extracto peptídico de quínoa, el Cyclocéramide[®] (derivado de oxazolina), las isoflavonas como, por ejemplo, la genisteína/genistina, daidzeína/daidzina, las aguas de manantial o termales (agua de Avène, agua de la Roche Posay, agua de Saint Gervais, agua de Uriage, agua de Gamarde), los extractos de Goji (*Lycium barbarum*), los péptidos o complejos de aminoácidos vegetales o también la disulona tópica, o los medicamentos antiinflamatorios esteroideos (AIS), tales como los corticoides, o no esteroideos (AINS).
- Entre los agentes keratorreguladores/keratolíticos más utilizados se encuentran: los ácidos de frutas alfa hidroxiácido - AHA (ácido cítrico, ácido glicólico, ácido málico, ácido láctico, etc.), los ésteres de AHA, las asociaciones de AHA con otras moléculas como la asociación ácido málico y proteínas de almendras (Keratolite[®]), la asociación ácido glicólico o ácido láctico con arginina o también la asociación de hidroxiácido con moléculas lipídicas como el LHA[®] por lipo-hidroxi-ácido, los complejos de hidroxiácido anfóteros - AHCare, el ácido azelaico y sus sales y ésteres, la corteza de sauce (*Salix alba* bark extract), el ácido salicílico (beta hidroxiácido - BHA), y sus derivados como el ácido capriloilsalicílico o en asociación con otras moléculas como la asociación ácido salicílico y polisacárido, el tazaroteno, el adapaleno, así como las moléculas de la familia de los retinoides tales como: tretinoína, retinaldehído, isotretinoína, o retinol.
- Los agentes seborreguladores que pueden ser utilizados en asociación se seleccionan ventajosamente de entre el grupo constituido por los inhibidores de 5-alfa reductasa como por ejemplo el activo 5-alfa Avocuta[®]. El zinc (y sus sales gluconato, salicilato y ácido piroglutámico) presenta también una actividad sebosupresora. Se puede citar también la espirolactona, anti-andrógeno y antagonista de la aldosterona, que genera una reducción significativa de la tasa de secreción de sebo. Otras moléculas tales como, por ejemplo, *Curcubita pepo*, extraída de semillas de calabaza, y el aceite de pepitas de calabacín, el sabal, limitan la producción de sebo por inhibición de la 5 α -reductasa. Otros seborreguladores de origen lipídico que actúan sobre la calidad del sebo, como el ácido linoleico presentan un interés.
- Los factores de crecimiento que pueden ser utilizados en asociación son ventajosamente la becaplermina y el TGF-beta, el EGF, el NGF, el VEGF.
- Se entiende por agente antioxidante una molécula que disminuye o impide la oxidación de otras sustancias químicas. Los antioxidantes que pueden ser utilizados en asociación se seleccionan ventajosamente de entre el grupo constituido por los tioles y los fenoles, por los derivados de regaliz como el ácido glicirretínico con sus sales y ésteres, el alfa bisabobol, el extracto de ginkgo biloba, de caléndula, el Cyclocéramide[®] (derivado de oxazolina), los péptidos de aguacate, los oligoelementos como el cobre, el zinc, y el selenio, el ácido lipoico, la vitamina B12, la vitamina B3 (niacinamida, nicotinamida), las vitaminas C, las vitaminas E, la coenzima Q10, el krill, el glutatión, el BHT por butilhidroxitolueno, el BHA por butilhidroxianisol, el licopeno o la luteína, el beta-caroteno, la gran familia de los polifenoles como los taninos, los ácidos fenólicos, los antocianos, los flavonoides con, por ejemplo, los extractos de té verde, de frutos rojos, de cacao, de uva, de *Passiflora incarnata*, de *Citrus*, o también las isoflavonas como, por ejemplo, la genisteína/genistina, la daidzenia/daidzina. En el grupo de los antioxidantes, se encuentran también las sustancias antiglicación tales como la carnosina o algunos péptidos, la n-acetil-cisteína, así como las enzimas antioxidantes o antiradicalarias como la SOD (superóxido dismutasa), la catalasa, la glutatión peroxidasa, la tioredoxina reductasa y sus agonistas.
- Los agentes cicatrizantes y reestructurantes de la barrera cutánea, que permiten estimular la síntesis de los

5 lípidos clave de la epidermis, y que pueden ser utilizados en asociación son ventajosamente la vitamina A, el pantenol (vitamina B5), los azúcares de aguacate, el Lupéol, el extracto peptídico de Maca, un extracto peptídico de quínoa, el arabinogalactano, el óxido de zinc, el magnesio, el silicio, el ácido madecásico o asiático, el sulfato de dextrano, la coenzima Q10, la glucosamina y sus derivados, la condroitina sulfato y globalmente los glucosaminoglicanos o GAG, el sulfato de dextrano, las ceramidas, el colesterol, el escualano, los fotolípidos, los péptidos de soja fermentada o no, los péptidos vegetales, los polisacáridos marinos, vegetales o biotecnológicos como los extractos de algas o el extracto de helecho, los oligoelementos, los extractos de plantas con tanino como los taninos que se derivan del ácido gálico denominados taninos gálicos o también hidrolizables, inicialmente encontrados en la agalla, y los taninos catéquicos que resultan de la polimerización de unidades flavánicas cuyo modelo está proporcionado por el cachú (*Acacia catechu*). Los oligoelementos que pueden ser utilizados se seleccionan ventajosamente de entre el grupo constituido por el cobre, el magnesio, el manganeso, el cromo, el selenio, el silicio, el zinc y sus mezclas. Se pueden utilizar también unos concentrados de girasol, más ventajosamente unos concentrados de girasol linoleicos, tales como el activo comercializado por los laboratorios Expanscience, Soline[®], unos insaponificables de aceite vegetal, tal como el Avocadofurane[®], o unos agonistas PPAR (rosiglitazona, pioglitazona), RXR, LRX.

10 Los agentes antiedad que pueden actuar sobre los sujetos de edad madura son unos agentes antioxidantes y en particular la vitamina C, o también la vitamina A, el retinol, el retinal, el ácido hialurónico de cualquier peso molecular, el Avocadofurane[®], los péptidos de lupino, el extracto peptídico de Maca.

20 Los compuestos antifúngicos que pueden ser utilizados en asociación son ventajosamente el econazol y el ketoconazol.

25 Los conservantes antisépticos que pueden ser utilizados en asociación son, por ejemplo, el triclosán, la clorohexidina, los amonios cuaternarios.

30 Los antibióticos que pueden ser utilizados en asociación son ventajosamente el ácido fucídico, la penicilina, las tetraciclinas, la pristinamicina, la eritromicina, la clindamicina, la mupirocina, la minociclina, la doxiciclina. Los agentes antivirales que pueden ser utilizados en asociación son ventajosamente el aciclovir y el valaciclovir. Los conservantes que pueden ser utilizados en asociación son, por ejemplo, los utilizados generalmente en cosmética o en nutracéutica, las moléculas con actividad antibacteriana (pseudo-conservantes) tales como los derivados caprílicos como, por ejemplo, el capriiloilglicina y el glicerilcaprilato, tales como hexanodiol, y el sodio levulinato, los derivados de zinc y de cobre (gluconato y PCA), la fitoesfingosina y sus derivados, el peróxido de benzoilo, la piroctona olamina, la piritona de zinc, el sulfuro de selenio.

35 Los activos protectores solares que pueden ser utilizados en asociación son ventajosamente unos filtros o pantallas solares UVB y/o UVA; tales como las pantallas o filtros minerales y/u orgánicos conocidos por el experto en la materia que adaptará su elección y sus concentraciones en función del grado de protección buscado.

40 A título de ejemplo de activo protector solar, se pueden citar en particular el dióxido de titanio, el óxido de zinc, el metileno bis-benzotriazolil tetrametilbutilfenol (nombre comercial: TINOSORB M) y la bis-etilhexiloxifenol metoxifenil triazina (nombre comercial: TINOSORB S), el octocrileno, el metoxidibenzoilmetano de butilo, el ácido tereftalilideno dialcanfor sulfónico, el 4-metilbenzilideno de alcanfor, la benzofenona, el etilhexilmetoxicinamato, el etilhexildimetil PABA, la dietilhexilbutamido triazona.

45 Los agentes adelgazantes que pueden ser utilizados en asociación son ventajosamente la cafeína, el fucus, los extractos vegetales como, por ejemplo: el extracto de hiedra, de cacao, de guaraná, de rusco, de té verde, de maté, de pimienta de Sichuan, de castaño, la *Centella asiática*, la carnitina, la glaucosina, la escina, el extracto de rusco (*Ruscus esculentus*), las isoflavonas como por ejemplo la genisteína, el ginko biloba, la forskolina, el retinol y otros retinoides, la floridzina, el cristo marino puede también ser utilizados en asociación.

50 Los agentes anticáida de cabellos y/o fortificantes para el cabello y las uñas son ventajosamente los fitoesteroles, las isoflavonas, como por ejemplo las isoflavonas de soja, el RTH16[®], el aminexil[®], el monoxidil[®], el retinol, el zinc y sus derivados, la neoruscina, la vitamina E, la vitamina B2, la vitamina B3, la vitamina B6, la vitamina PP, la vitamina B5 (pantenol, bepanteno), la vitamina B8 (vitamina H o biotina), la vitamina B9 (ácido fólico), el alfa hidroxilácido, la quinina, algunos aminoácidos como la cisteína, la cistina, la metionina. Los inhibidores de 5-alfa reductasa tales como, por ejemplo, la finasterida, la dutasterida, *Serenoa serrulata* o *repens*, el extracto de *Curcubita pepo* o también algunos fitoesteroles, pueden también ser utilizados en asociación. La queratina, los oligoelementos o las sales minerales pueden también ser utilizados en asociación. Algunos extractos proteicos o lipídicos vegetales como, por ejemplo, los extractos de pfaña, de salvia, de limón, de ginseng, de quínoa, de jojoba, de castaña, de miel, de trigo, de ortiga, de equinea, de coco pueden también ser utilizados en asociación.

65 Los agentes anticaspa (cuero cabelludo) son ventajosamente el extracto de capuchina, la vitamina F, el timol, la arcilla, la piritona de zinc, el zinc-PCA, el gluconato de zinc, el sulfato de zinc, el alcanfor, el extracto de mirto, el

ácido salicílico, la vitamina B5, el climbazol, el ictiol, el selenio y sus derivados, el extracto de curcúbia, el extracto de cártamo, el extracto de aceite de melaleuca, el aceite de borraja y de *Mimosa tenuiflora*, el propóleo, kertiol, el ácido glicólico, la keluamida, la ciclopiroxolamina, la piroctona olamina, la capriloil glicina, la 5-alfa-avocuta.

5 Los medicamentos o agentes cosméticos que pueden ser utilizados en asociación son ventajosamente los medicamentos o los agentes cosméticos apropiados para una administración por vía tópica u oral, en particular para la prevención y/o el tratamiento de la atopia/eccema (los corticoesteroides como la hidrocortisona, la desonida, la acetona de fluocinolona, el propionato de fiticasona, los inmunomoduladores tópicos inhibidores de calcineurina como el tacrolimus y el pimecrolimus, la ciclosporina, la azatioprina, el metotrexato, la vitamina B12, las moléculas antimicrobianas, los antihistamínicos como la hidroxizina y el difenhidramina, los antibióticos, los pre- y pro-bióticos, la naltrexona, los agonistas de PPAR alfa tales como el oleodestilado de girasol, los emolientes que contienen unas ceramidas u otros lípidos claves epidérmicos), del acné (los antibióticos, el peróxido de benzoilo, los retinoides, el ácido azelaico, la vitamina PP, la vitamina B3, el zinc, las ciclinas), de la rosácea (el permetol, la genisteína, el esculósido, el sulfato de dextrano, la hesperidina metilchalcona, los retinoides, la licochalcona, la oximetazolina, la quinolina, el extracto de regaliz, los polifenoles, los flavonoides, los procianidoles (té verde, etc.), la vitamina P like, el extracto de rusco, la *Sophora japonica*, el extracto de Hamamelis, los antibióticos tales como la doxiciclina) o de la psoriasis (los corticoides, el calcipotriol, el calcitriol, el tazaroteno, el aceite de cada, la acitretina, la terapia PUVA).

20 Los inmunomoduladores que pueden ser utilizados en asociación son ventajosamente el tacrolimus, el pimecrolimus y las oxazolinas. Las oxazolinas que pueden ser utilizadas en asociación son ventajosamente unas oxazolinas seleccionadas de entre el grupo constituido por la 2-undecil-4-hidroxi-metil-4-metil-1,3-oxazolina, la 2-undecil-4,4-dimetil-1,3-oxazolina, la (E)-4,4-dimetil-2-heptadec-8-enil-1,3-oxazolina, la 4-hidroxi-metil-4-metil-2-heptadecil-1,3-oxazolina, la (E)-4-hidroxi-metil-4-metil-2-heptadec-8-enil-1,3-oxazolina, la 2-undecil-4-etil-4-hidroxi-metil-1,3-oxazolina. De manera aún más ventajosa, dicha oxazolina es la 2-undecil-4,4-dimetil-1,3-oxazolina, denominada OX-100 o Cyclocéramide®.

Los agentes hipopigmentantes o despigmentantes que pueden ser utilizados en asociación son la hidroquinona y sus derivados, la arbutina, el ácido retinoico, el retinol, el retinaldehído, la tretinoína, la hidroquinona, los corticoides, el ácido kójico, el ácido azelaico, el ácido elágico, el ácido pirúvico, el ácido glicólico, la vitamina B3 (niacinamida) o PP, la vitamina C, la Cyclocéramide®, los derivados del resorcinol, el resveratrol, unos extractos de regaliz o de morera blanca, el ácido alfa-lipoico, el ácido linoleico, la indometacina, unos quelantes de cationes tales como el EDTA (ácido etileno diamina tetra acético), los extractos de soja tales como la genisteína. Se puede citar también el Sepiwhite® (N-undecilenoil-L-fenilalanina) comercializado por la compañía Seppic, que es un agente cosmético despigmentante.

Los agentes pigmentantes que pueden ser utilizados en asociación son, por ejemplo, unos agentes que colorean la piel como la dihidroxiacetona y las melaninas; unos agentes que estimulan el procedimiento de pigmentación natural como los psolareños que tienen unas propiedades terapéuticas en dermatología (el 8-metoxipsolareno, el 5-metoxipsolareno, el 4,5',8-trimetilpsolareno o unos extractos vegetales de *Psorelea corylifolia* y de *Ammi majus*), los carotenoides (el licopeno, la cantaxantina), los agentes que estimulan la vía del AMP cíclico (1. los análogos del AMPc, tales como el 8-bromo-AMPc o el dibutilil-AMPc, 2. la forskolina, 3. la isobutil-metil-xantina o la teofilina), los activadores de las proteínas quinasa C (los diacilgliceroles, en particular el oleil-acetil-glicerol), los dioles alifáticos o cíclicos (el 1,2-propanodiol, el 5-norbomano-2,2-dimetanol, el norbomano-2,2-dimetano), los dioles bicíclicos monoterpeneo, los derivados de tirosina (la L-tirosina, la L-DOPA), el dimetilsulfóxido, los agentes lisotrópicos, los dinucleótidos timidina, los fragmentos de ADN, los análogos de la hormona que estimula los melanocitos, la 3-isobutil-1-metilxantina, los donantes de ácido nítrico (Brown, Journal of photochemistry and photobiology B: biology 63 (2001) 148-161); o también unos extractos vegetales como los péptidos de arroz, y las algas, que demuestran una actividad promelanógena: *Laminaria digitata* (Thalitan® de Codif).

Una asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto peptídico y osídico de semillas de *Vigna unguiculata* y unos insaponificables vegetales y animales como, por ejemplo, los insaponificables de aguacate y de soja, y unos concentrados de aceite vegetal o animal en insaponificable como, por ejemplo, el concentrado de aceite de girasol o de aceite de palma, o también unos aceites vegetales que contienen unos insaponificables como, por ejemplo, los aceites de soja y de colza, y los derivados de insaponificables como los furanos de aguacate, los insaponificables esterólicos, los ésteres de esteroides y los derivados vitamínicos. Los insaponificables "esterólicos" son unos insaponificables cuyo contenido en esteroides, en metilesteroides, y en alcoholes triterpénicos está comprendido entre 20 y 95% en peso, preferentemente 45-65% en peso, con respecto al peso total del insaponificable.

Una asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto de semillas de *Vigna unguiculata* y de los azúcares de aguacate (véase la solicitud WO 2005/115421). Esta composición está particularmente adaptada para el tratamiento de la reparación de la barrera cutánea y de la inflamación.

Una asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto de

semillas de *Vigna unguiculata* y unos péptidos de aguacate (véase la solicitud internacional WO 2005/105123). Esta composición está particularmente adaptada para el tratamiento de la irritación y de la inflamación.

5 Otra asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto de semillas de *Vigna unguiculata* y un aceite de aguacate (véanse las solicitudes internaciones WO 2004/012496, WO 2004/012752, WO 2004/016106, WO 2007/057439).

10 Otra asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto de semillas de *Vigna unguiculata* y el Avocadofurane[®] (furanos de aguacate, que pueden ser obtenidos mediante el procedimiento descrito en la solicitud internacional WO 01/21605). Esta composición está particularmente adaptada para el tratamiento de la inflamación, para favorecer la cicatrización, y para sus propiedades antiedad.

15 Otra asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto de semillas de *Vigna unguiculata* y el 5 alpha Avocuta[®] (avocado de butilo). Esta composición está particularmente adaptada para inhibir la 5 alfa reductasa (véanse los documentos WO 01/52837 y WO 02/06205) y regular la secreción sebórea que se encuentra aumentada en el acné o la caspa.

20 Otra asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto de semillas de *Vigna unguiculata* y los insaponificables de aguacate y de soja. Los insaponificables de aguacate y de soja que pueden ser utilizados en asociación son ventajosamente una mezcla de insaponificables de aguacate furánicos y de insaponificables de soja, en una relación respectiva de aproximadamente 1/3-2/3. Los insaponificables de aguacate y de soja son aún más ventajosamente el producto Piasclédine[®], comercializado por los laboratorios Expanscience.

25 Otra asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto de semillas de *Vigna unguiculata* y un oleodestilado de girasol, aún más ventajosamente con unos concentrados de girasol linoleicos, tales como el activo comercializado por los Laboratoires Expanscience, Soline[®] (véase la solicitud internacional WO 01/21150). Esta composición está particularmente adaptada para el tratamiento de la inflamación y para la reparación de la barrera cutánea.

30 Otra asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto de semillas de *Vigna unguiculata* y un insaponificable de soja, tal como el obtenido según el procedimiento descrito en la solicitud internacional WO 01/51596.

35 Otra asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto de semillas de *Vigna unguiculata* y Lupeol (FR 2 822 821, FR 2 857 596). Esta composición está particularmente adaptada para favorecer la cicatrización.

40 Otra asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto de semillas de *Vigna unguiculata* y unos péptidos de lupino tales como los obtenidos según el procedimiento descrito en la solicitud WO 2005/102259. Esta composición está particularmente adaptada para el tratamiento de la inflamación y se utiliza por sus propiedades antiedad.

45 Otra asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto de semillas de *Vigna unguiculata* y un extracto total de lupino (véase la solicitud internacional WO 2005/102259). Esta composición está particularmente adaptada para el tratamiento de las irritaciones.

50 Otra asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto de semillas de *Vigna unguiculata* y un aceite de lupino, ventajosamente un aceite de lupino blanco suave, tal como el descrito en la solicitud internacional WO 98/47479.

55 Otra asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto de semillas de *Vigna unguiculata* y un extracto peptídico de Maca (véase la solicitud internacional WO 2004/112742). Esta composición es particularmente apreciada por sus propiedades cicatrizantes y antiedad.

60 Una asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto de semillas peptídico y osídico de *Vigna unguiculata* y unos péptidos de arroz (véase la solicitud internacional WO 2008/009709). Esta composición es particularmente apreciada por sus propiedades de estimulación de la melanogénesis y de la transferencia de la melanina.

65 Otra asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto de semillas de *Vigna unguiculata* y Cyclocéramide[®] (derivado de oxazolina) tal como se describe en las solicitudes internacionales WO 2004050052, WO 2004050079, y WO 2004112741. Esta composición está particularmente adaptada para el tratamiento de las reacciones inflamatorias.

Otra asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto de

semillas de *Vigna unguiculata* y un extracto de quínoa, en particular un extracto peptídico (véase la solicitud internacional WO 2008/080974). Esta composición está particularmente adaptada para el tratamiento de las condiciones inflamatorias y de la reparación de la barrera cutánea.

5 Otra asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto de semillas de *Vigna unguiculata* y una manteca de Cupuaçu. Esta composición es particularmente apreciada por sus propiedades hidratantes.

10 Otra asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto de semillas de *Vigna unguiculata* y un concentrado de colza.

Otra asociación ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto de semillas de *Vigna unguiculata* y un concentrado de maíz.

15 Otra asociación ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto de semillas de *Vigna unguiculata* y un extracto de fruta de *Schizandra sphenanthera* (véanse las solicitudes francesas FR 0 955 343 y FR 0 955 344).

20 Otra asociación ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto de semillas de *Vigna unguiculata* y un extracto de semillas de *Acacia macrostachya*.

Todas estas asociaciones comprenden por lo menos otro compuesto activo, además del extracto de semillas de *Vigna unguiculata*, y pueden comprender dos, tres, cuatro o más compuestos activos tales como se han descrito anteriormente.

25 La composición según la invención puede ser formulada en forma de diferentes preparaciones adaptadas a una administración tópica, a una administración oral, rectal, vaginal, nasal, auricular o bronquial, así como a una administración parenteral.

30 Según una primera variante, las diferentes preparaciones están adaptadas a la administración tópica e incluyen en particular las cremas, las emulsiones, las leches, las pomadas, las lociones, los aceites, las soluciones acuosas o hidroalcohólicas o glicólicas, los polvos, los parches, los espráis, los champús, los esmaltes o cualquier otro producto para aplicación externa.

35 Según una segunda variante, las diferentes preparaciones están adaptadas a una administración oral; pudiendo el extracto de semillas de *Vigna unguiculata* entrar o bien en un complemento alimenticio, o bien en una composición nutracéutica. El complemento alimenticio puede presentarse en forma del extracto de semillas de *Vigna unguiculata* como tal o bien en forma de cápsulas duras o de cápsulas blandas de gelatina o vegetales en el marco de la presente invención. Dicho complemento alimenticio puede entonces contener de 10 a 100% en peso del extracto de semillas de *Vigna unguiculata*.

45 Los modos de administración, las posologías y las formas galénicas óptimas de los compuestos y composiciones según la invención pueden ser determinados según los criterios tenidos en cuenta generalmente en el establecimiento de un tratamiento farmacéutico, en particular dermatológico, cosmético o veterinario adaptado a un paciente o a un animal como, por ejemplo, la edad o el peso corporal del paciente o del animal, la gravedad de su estado general, la tolerancia al tratamiento, los efectos secundarios constatados, el tipo de piel. En función del tipo de administración deseado, la composición y/o los compuestos activos según la invención pueden comprender además por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, en particular dermatológicamente aceptable, o un excipiente cosméticamente aceptable. Según la primera variante, se utiliza un excipiente adaptado para una administración por vía tópica externa. La composición según la presente invención puede comprender además por lo menos un adyuvante farmacéutico o cosmético conocido por el experto en la materia, seleccionado de entre los espesantes, los conservantes, los perfumes, los colorantes, unos filtros químicos o minerales, los agentes hidratantes, las aguas termales, etc.

55 La composición que comprende un extracto de semillas de *Vigna unguiculata* que tiene las especificaciones indicadas está destinada particularmente a una utilización cosmética, farmacéutica, dermatológica o nutracéutica.

60 En el marco de una utilización cosmética, farmacéutica o dermatológica, la composición estará ventajosamente formulada en forma de una preparación adaptada a una administración tópica. La composición que comprende un extracto peptídico y osídico está particularmente destinada a una utilización cosmética, farmacéutica o dermatológica.

65 En el marco de una utilización con fines nutracéuticos o cosméticos ("cosmet-food"), la composición estará ventajosamente formulada en forma de una preparación adaptada a una administración oral.

La invención tiene también por objeto la utilización de un extracto de semillas de *Vigna unguiculata* para la

fabricación de una composición cosmética, farmacéutica, dermatológica o de una composición nutracéutica.

Ventajosamente, la composición o el extracto según la presente invención se utiliza en la prevención y/o el tratamiento de los trastornos o patologías de la piel y/o de las mucosas y/o de los faneros. De manera particularmente ventajosa, el extracto o la composición según la invención se utiliza en aplicaciones cosméticas, ventajosamente por vía tópica, en particular para el cuidado o la higiene de la piel y/o de las mucosas y/o de los faneros tales como el cabello, o también para la prevención y/o el tratamiento de los trastornos de la piel y/o de las mucosas y/o de los faneros tales como el cabello.

La composición o el extracto según la presente invención también puede ser utilizada ventajosamente en la prevención y/o el tratamiento de los trastornos vasculares.

La composición o el extracto según la presente invención también puede ser utilizada ventajosamente en la prevención y/o el tratamiento de las alteraciones del tejido adiposo.

En particular, la composición o el extracto según la invención está destinada a la prevención y/o al tratamiento de las reacciones o patologías alérgicas, inflamatorias, irritativas o de los trastornos de la barrera o de la homeostasia de la piel, de los faneros (cabello y uñas) y/o de las mucosas (encías, periodontos, mucosas genitales) inmadura(s), normal(es) o madura(s)/envejecida(s).

Ventajosamente, la composición o el extracto según la invención se puede utilizar para la prevención y/o el tratamiento de las reacciones, trastornos o patologías:

- de la piel, tales como el acné, la rosácea o eritrocuperosis, la psoriasis, los trastornos vasculares, la dermatitis de las nalgas, la dermatitis atópica, el eccema, la dermatitis de contacto, la dermatitis irritativa, la dermatitis alérgica, la dermatitis seborreica (corteza láctea), la psoriasis, la piel sensible, la piel reactiva, la piel seca (xerosis), la piel deshidratada, la piel con rojeces, el eritema cutáneo, la piel envejecida o fotoenvejecida, la piel fotosensibilizada, la piel pigmentada (melasma, pigmentación post-inflamatoria, etc.), la piel despigmentada (vitiligo), la piel con celulitis, la piel suelta, la piel con estrías, los herpes, las grietas, las picaduras, las fisuras, en particular de los senos, las quemaduras de Sol, las inflamaciones debidas a los rayos de cualquier tipo, las irritaciones por agentes químicos, físicos (por ejemplo fuerza de tensión para las mujeres embarazadas), bacteriológicos, fúngicos o virales, parasitarios (piojos, sama, tiña, ácaros, dermatofitos), radiológicos o por déficit de inmunidad innata (péptidos antimicrobianos) o adquirida (celular, humorales, citoquinas), y/o
- de las mucosas tales como las encías y periodontos que pueden presentar unas gingivitis (encías sensibles de los recién nacidos, problemas de higiene, debidos al tabaquismo u otros), de las periodontopatías, o de las mucosas genitales que pueden presentar unas irritaciones de las esferas genitales machos o hembras externas o internas y/o
- de los faneros tales como las uñas (uñas quebradizas, frágiles, etc.) y del cabello (alopecia, caspa, hirsutismos, dermatitis seborreicas, foliculitis), inmaduros, normales o maduros, que presentan en particular unos trastornos del cuero cabelludo tales como las alopecias (o calvicie) androgenéticas, agudas, localizadas, cicatriciales, congénitas, occipitales del lactante, aerata, debidas a la quimioterapia/radioterapia o también el efluvio telógeno, el efluvio anágeno, la distrofia pilar, la tricotilomanía, la tiña o la caspa grasa o seca.

Ventajosamente, la composición o el extracto según la invención se puede utilizar para la prevención y/o el tratamiento de las inflamaciones.

La invención se refiere también a un procedimiento de cuidado cosmético de la piel y/o de los faneros y/o de las mucosas, con vistas a mejorar su estado y/o su aspecto, que comprende la administración o que consiste en administrar una composición o un extracto según la presente invención.

De manera particularmente ventajosa, la presente invención se refiere a la utilización cosmética de la composición o del extracto para restaurar los trastornos o desórdenes de la barrera cutánea, para aumentar la síntesis de los lípidos epidérmicos, para reforzar la función de barrera de la piel, en particular para luchar contra el estrés o las agresiones del entorno o las agresiones o irritaciones químicas provocadas por ejemplo por los medicamentos, o también las agresiones por unos microorganismos, sobre la piel, las mucosas o los faneros, en particular el cabello.

En particular, la composición o el extracto se utiliza ventajosamente en aplicaciones cosméticas, para hidratar la piel o las mucosas, para tratar las pieles secas, las pieles atópicas, las pieles acnéicas, las pieles irritadas/inflamadas, las pieles alérgicas, las pieles con rojeces, las pieles con dermatitis seborreica, las pieles agredidas, las pieles sensibles, las pieles reactivas, las pieles fotosensibilizadas, las pieles envejecidas o fotoenvejecidas, de manera general como agentes antienvjecimiento de la piel (envejecimiento intrínseco o

extrínseco), en particular como agentes de fotoenvejecimiento o agentes anti-UV, como agentes pigmentantes, para cicatrizar la piel, como agentes antioxidantes y antimicrobianos, o también para el cuidado del cabello, de las uñas o de las mucosas.

5 Ejemplos

Ejemplo 1: Composiciones para aplicación por vía tópica

10 Se presentan a continuación varias composiciones para aplicación por vía tópica. El extracto peptídico y osídico de *Vigna unguiculata* puede ser incorporado a diversos productos cosméticos tales como aguas de limpieza, emulsiones aceite en agua, emulsiones agua en aceite, aceites, leches, lociones, champús, productos espumantes y espráis, cuyas composiciones se presentan a continuación a título de ejemplos.

15 AGUA DE LIMPIEZA PARA PIEL SENSIBLE

Materia prima / Nombre comercial o nombre INCI	%
CAPRYLOIL GLICINA	De 0 a 1%
DETERGENTE SOSA	De 0 a 1%
SECUESTRANTE	De 0 a 1%
BUTILENGLICOL	De 1 a 5%
BETA CAROTENO	De 0 a 2%
EXTRACTO DE VIGNA UNGUICULATA	De 0,001 a 10%
CONSERVANTES	De 0 a 1%
PEG-32	De 1 a 5%
PEG-7 PALMCOCOATO	De 1 a 5%
GLUCONATO ZINC	De 0 a 1%
ÁCIDO CÍTRICO	De 0 a 1%
AGUA PURIFICADA	CSP 100%
PERFUME	De 0 a 1%
POLOXAMER 184	De 1 a 5%

EMULSIÓN ANTI-EDAD

Materia prima / Nombre comercial o nombre INCI	%
ISOPARAFINA LÍQUIDA	De 5 a 20%
ESTEARATO DE ISOCETILO	De 5 a 20%
HIDROXIESTEARATO AL - MG	De 5 a 20%
ABIL WE 09	De 1 a 5%
GLICEROL	De 1 a 5%
ACEITE VASELINA	De 1 a 5%
ÓXIDO DE ZINC MICRONIZADO	De 1 a 5%
BUTILENGLICOL	De 1 a 5%
RETINOL	De 0 a 1%
VITAMINA C	De 0 a 5%
EXTRACTO DE VIGNA UNGUICULATA	De 0,01 a 10%
ISONONANOATO DE ISONONILO	De 1 a 5%
CERA DE ABEJA	De 1 a 5%
TARTRATO DE SODIO	De 1 a 5%
CLORURO DE SODIO	De 0 a 5%
GLICINA	De 1 a 5%
CONSERVANTES	De 0 a 1%
COLESTEROL	De 0 a 1%
FITOTESFINGOSINA	De 0 a 1%
ÁCIDO TÁRTRICO	De 0 a 1%
AGUA PURIFICADA	CSP 100%

20 LECHE PARA PIEL SECA, ATÓPICA

Materia prima / Nombre comercial o nombre INCI	%
ACEITE DE ALMENDRA DULCE	De 1 a 5%
ACEITE DE MAÍZ	De 1 a 5%
ÁCIDO ESTEÁRICO	De 1 a 5%
ALCOHOL CETÍLICO C16 C18	De 0 a 1%
ANTIESPUMA 70414	De 0 a 1%

Materia prima / Nombre comercial o nombre INCI	%
ALCOHOL LAURICO 110E	De 1 a 5%
MONOLAURATO PEG 300	De 0 a 1%
MONOLEATO DE GLICEROL	De 0 a 1%
MONOESTEARATO DE GLICEROL	De 1 a 5%
VITAMINA B12	De 0 a 5%
EXTRACTO DE VIGNA UNGUICULATA	De 0,1 a 10%
CONSERVANTES	De 0 a 1%
ÁCIDO CÍTRICO	De 0 a 1%
CITRATO TRISÓDICO	De 0 a 1%
AGUA PURIFICADA	CSP 100%
PERFUME	De 0 a 1%
ACEITE DE CACAHUETE	De 1 a 5%
ACEITE PALMISTE HIDROGENADO	De 1 a 5%

ESPRAY CALMANTE

Materia prima / Nombre comercial o nombre INCI	%
AGUA PURIFICADA	CSP 100%
TRILAURETH-4 FOSFATO	De 1 a 5%
CARBONATO DE DICAPRILILO	De 1 a 5%
BUTILENGLICOL	De 1 a 5%
ÉSTER ERITRITILLO	De 1 a 5%
ACEITE VASELINA FLUIDA	De 1 a 5%
MANTECA DE KARITÉ	De 0 a 1%
ACEITE VEGETAL	De 0 a 1%
CONSERVANTES	De 0 a 1%
LICOPENO	De 0 a 5%
EXTRACTO DE VIGNA UNGUICULATA	De 0,01 a 10%
DETERGENTE SOSA	De 0 a 1%
PERFUME	De 0 a 1%
GOMA XANTANA	De 0 a 1%
CARBOPOL	De 0 a 1%
SECUESTRANTE	De 0 a 1%
ÁCIDO CÍTRICO	De 0 a 1%

5 EMULSIÓN ANTI-ACNÉ

Materia prima / Nombre comercial o nombre INCI	%
PEG 40 ESTEARATO	De 1 a 5%
PEG 5 GLICERIL ESTEARATO	De 1 a 5%
CERESINA WAX	De 1 a 5%
MONOESTEARATO DE GLICEROL	De 1 a 5%
ESTEARATO DE SORBITÁN	De 0 a 2%
ALCOHOL CETÍLICO	De 0 a 2%
ALCOHOL DI-MALATO	De 5 a 20%
VITAMINA E	De 0 a 1%
VITAMINA B3	De 0 a 5%
ÁCIDO LINOLEICO	De 0 a 1%
EXTRACTO DE VIGNA UNGUICULATA	De 0,01 a 10%
BUTILENGLICOL	De 1 a 5%
PIROCTOLAMINA	De 0 a 1%
CONSERVANTES	De 0 a 1%
GLICEROL	De 1 a 10%
GOMA XANTANA	De 0 a 1%
ZINC PCA	De 0 a 2%
ALMIDÓN DE ARROZ	De 1 a 5%
NYLON 6	De 0 a 2%
GEL DE POLIACRILAMIDA	De 1 a 5%
VITAMINA B6	De 0 a 1%
PERFUME	De 0 a 1%
AGUA PURIFICADA	CSP 100%

EMULSIÓN ANTI-ROJECES

Materia prima / Nombre comercial o nombre INCI	%
PEG 40 ESTEARATO	De 1 a 5%
PEG 5 GLICERIL ESTEARATO	De 1 a 5%
CERESINA WAX	De 1 a 5%
MONOESTEARATO DE GLICEROL	De 1 a 5%
ESTEARATO DE SORBITAN	De 0 a 2%
ALCOHOL CETILICO	De 0 a 2%
ALCOHOL DI-MALATO	De 5 a 20%
ESCULÓSIDO	De 0 a 2%
SOPHORA JAPONICA	De 0 a 5%
VITAMINA E	De 0 a 1%
EXTRACTO DE VIGNA UNGUICULATA	De 0,01 a 10%
BUTILENGLICOL	De 1 a 5%
PIROCTOLAMINA	De 0 a 1%
CONSERVANTES	De 0 a 1%
GLICEROL	De 1 a 10%
GOMA XANTANA	De 0 a 1%
ZINC PCA	De 0 a 2%
ALMIDÓN DE ARROZ	De 1 a 5%
NYLON 6	De 0 a 2%
GEL DE POLIACRILAMIDA	De 1 a 5%
VITAMINA B6	De 0 a 1%
PERFUME	De 0 a 1%
AGUA PURIFICADA	CSP 100%

CHAMPÚ ANTICASPA

5

Materia prima / Nombre comercial o nombre INCI	%
AGUA PURIFICADA	CSP 100%
LAUROAMFOACETATO	De 5 a 20%
COCOGLUCÓSIDO	De 5 a 20%
DIESTEARATO DE PEG 6000	De 1 a 5%
CONSERVANTES	De 0 a 2%
VITAMINA F	De 0 a 5%
PIROCTONA OLAMINA	De 0 a 2%
EXTRACTO DE VIGNA UNGUICULATA	De 0,01 a 10%
ZINC PIRITIONA	De 0 a 1%
AJUSTADOR DE pH	De 0 a 1%
SECUESTRANTE	De 0 a 1%
PERFUME	De 0 a 1%

ESPRAY SOLAR SPF 50+

Materia prima / Nombre comercial o nombre INCI	%
CAPRILCAPRATO DE GLICEROL	De 5 a 20%
CICLOPENTASILOXANO	De 10 a 20%
DICAPRILIL CARBONATO	De 5 a 20%
TINOSORB S	De 1 a 10%
ÓXIDO DE TITANIO 100	De 10 a 20%
HECTORITA	De 0 a 5%
ALFA TOCOFEROL	De 0 a 2%
LAURILGLUCÓSIDO-GLIESTEARATO	De 0 a 10%
AGUA PURIFICADA B4	CSP 100%
ÁCIDO CÍTRICO	De 0 a 2%
PENTILENGLICOL	De 0 a 5%
GLICEROL	De 0 a 5%
GOMA XANTANA	De 0 a 2%
EXTRACTO DE VIGNA UNGUICULATA	De 0,01 a 10%
ALOE VERA	De 0 a 1%
GLUCONATO ZINC	De 0 a 1%
CONSERVANTES	De 0 a 2%

Materia prima / Nombre comercial o nombre INCI	%
TINOSORB M	De 1 a 10%

Ejemplo 2: Composiciones para administración por vía oral

5 Los extractos de *Vigna unguiculata* pueden ser integrados ventajosamente a composiciones orales, típicamente en composiciones que permiten la administración de 50 mg a 200 mg de extracto de *Vigna unguiculata* por día.

1/ Composición antiestrías en forma de cápsulas blandas

10	- EXTRACTO DE VIGNA UNGUICULATA	30 mg
	- Aceite de Awara	60 mg
	- Aceite de colza rico en insaponificable	300 mg
	- Vitamina del grupo B (B1, B2, B3, B5, B6, B9, B12),	CSP 100% de las CDR
	- Tocotrienoles	CSP 50% CDR
	- Vitamina E	
15	- Cera de abeja	
	- Lecitina de soja	
	- Gelatina alimenticia	
	- Glicerina CSP 1 cápsula blanda	

20 Esta composición se administra de 4 a 6 cápsulas de 500 mg por día.

2/ Comprimidos anticaída de cabellos

25	- EXTRACTO DE VIGNA UNGUICULATA	25 mg
	- Extractos de cereales (trigo, alforfón, mijo, espelta) rico en aminoácidos azufrados	200 mg
	- Vitamina C	CSP 50% de las CDR
	- Glicosaminoglicanos procedentes de cartílagos de pescados	200 mg
	- Glucidex IT 19 (agente de compresión)	CSP 1 comprimido de 800 mg.

30 Esta composición se administra de 5 a 8 comprimidos por día.

3/ Ejemplos en barra de polvo adelgazante

35	- EXTRACTO DE VIGNA UNGUICULATA	100 mg
	- Extracto de té rico en polifenoles	100 mg
	- Extracto de uva rico en OPC	50 mg
	- Betaglucanos de origen vegetal	100 mg
	- Goma xantana	1 mg
40	- Ascorbato de sodio	0,3 mg
	- Maltodextrina	CSP 5 g.

Esta composición se administra 2 veces por día.

4/ Ejemplo en barra de polvo antiedad

45	- EXTRACTO DE VIGNA UNGUICULATA	100 mg
	- Extracto de <i>Centella asiática</i>	100 mg
	- Magnesio, selenio, manganeso	CSP 100% de las CDR.
	- Goma xantana	1 mg
50	- Ascorbato de sodio	0,3 mg
	- Maltodextrina	CSP 5 g.

Esta composición se administra 2 veces por día.

55 Ejemplo 3: Ensayos de actividades biológicas del extracto según la invención

El extracto peptídico y osídico de *Vigna unguiculata*, que es un extracto preparado por hidrólisis enzimática, se denomina a continuación en este ejemplo hidrolizado de Vigna.

60 A. Estudio preliminar de actividad sobre epidermis reconstruidas

Las actividades biológicas del hidrolizado de Vigna se han evaluado mediante un ensayo de modulación de expresión de genes sobre epidermis reconstruidas. Así, la expresión de 64 genes de interés principales en fisiología cutánea y en cosmética se estudió por PCR-array sobre unas epidermis reconstruidas en curso de

diferenciación.

a. Material y métodos:

5 El hidrolizado de Vigna (0,05% y 0,1%, p/v) se añadió en el medio de cultivo de epidermis reconstruidas el D5. Estas se incubaron entonces durante 48 horas.

La expresión de los marcadores seleccionados se evaluó por RT-PCR cuantitativa (PCR-array).

10 La variación de expresión de los marcadores estudiados con respecto al control se expresó en porcentaje (control: 100%).

b. Resultados:

15 Los resultados más significativos se presentan en la tabla siguiente y tienden a demostrar que el hidrolizado de Vigna, haciendo variar la expresión génica de algunos marcadores, tiene un interés particular, en particular en las actividades siguientes:

- 20 - La hidratación: ã Claudina 1, CD44, cornulina.
- La diferenciación epidérmica y la función barrera: ã calmodulina, catenina, desmogleína 1, queratina 1, queratina 10, filagrina, loricrina, sulfotransferasa, cornulina, pequeñas proteínas ricas en prolina.
- La síntesis de lípidos epidérmicos: ã sintasa de ácido grado, glucocerebrosidasa
- 25 - La cicatrización: ã calmodulina, MMP9, S 100A7.
- Las defensas antimicrobianas: ã Beta-defensina, Inhibidor 3 de la peptidasa, ARNasa 7, S100A7, catelicidina.
- 30 - Las defensas antioxidantes: ã hemo-oxigenasa 1, HSP27.

Variaciones de la expresión de genes de interés en epidermis reconstruidas

	Hidrolizado de Vigna 0,05%	Hidrolizado de Vigna 0,1%
	% control	
De tipo Calmodulina 5	106	219
Catelicidina péptido antimicrobiano	139	122
Molécula CD44 (Grupo sanguíneo indio)	100	120
Claudina 1	100	144
Colágeno, tipo VII, alfa 1	86	135
Comulina	87	138
Catenina	141	197
Defensina, beta 4	295	114
Desmogleina 1	131	206
Sintasa de ácido graso	104	135
Filagrina	111	139
Glucosidasa,	115	135
Hemo oxigenasa (desciclado) 1	152	223
Proteína 1 de 2 7kDa de respuesta al choque térmico	148	263
Queratina 1	99	154
Queratina 10	103	135
Queratina 6ANM_005554	169	257
Loricrina	117	149
Matriz metalopeptidasa 9 (gelatinasa B, 92 kDa gelatinasa, 92kDa tipo IV collagenasa)	122	112
Inhibidor de la peptidasa 3, derivado cutáneo	145	153
Ribonucleasa, familia de ARNasa A, 7	134	168
S100 proteína de unión al calcio A7	164	123
Pequeña proteína rica en prolina 1A	113	142
Pequeña proteína rica en prolina 1B (comifina)	129	171
Pequeña proteína rica en prolina 2A	197	139

	Hidrolizado de Vigna 0,05%	Hidrolizado de Vigna 0,1%
	% control	
Familia de la sulfotransferasa, citosólica, 2B, elemento 1	121	174

Leyendas:

Aumento > +20%	Aumento > +100%
----------------	-----------------

5 c. Conclusión:

Así, al final de este estudio, la actividad del hidrolizado de Vigna se evaluó en los dos grandes ejes siguientes: defensas (frente al estrés oxidante, al estrés inflamatorio, a los UV), y reparación cutánea (redensificación de la dermis, cicatrización, relipidación).

10

B. Evaluación de la actividad antiinflamatoria

a. Introducción:

15 A nivel de la piel, los queratinocitos son las primeras células en ser activadas cuando tiene lugar una agresión del entorno. El queratinocito “agredido” iniciará entonces la reacción inflamatoria liberando citoquinas primarias (como la interleucina 1 α o IL1 α) que estimularán a continuación la producción de mediadores secundarios (como la interleucina 8 o IL8).

20 El efecto antiinflamatorio del hidrolizado de Vigna se evaluó mediante la medición de las citoquinas (IL1 α , IL8), producidas por unos queratinocitos en respuesta a una estimulación por el PMA.

b. Material y métodos:

25 Unos queratinocitos (línea NCTC2544) se preincubaron durante 24 horas por el hidrolizado de Vigna al 0,05% (p/v) o la molécula de referencia (dexametasona a 10⁻⁷ M). Las células se trataron después por PMA a 0,1 tg/ml, todavía en presencia de hidrolizado de Vigna o de dexametasona, durante 24 horas. Las cantidades de IL1 α y de IL8 liberadas en el medio de cultivo se evaluaron por dosificación ELISA. Los resultados se analizaron estadísticamente por un análisis de variancia (ANOVA) con un factor seguido de un ensayo de Tuckey:

30

- ns p>0,05: no significativo
- * 0,01<p<0,05: significativo
- ** 0,001<p<0,01: muy significativo
- ***p<0,001: altamente significativo

35

Se ha calculado el porcentaje de inhibición con respecto al control estimulado (PMA).

c. Resultados:

40 El hidrolizado de Vigna al 0,05% ha inhibido significativamente la liberación por unos queratinocitos de las citoquinas inflamatorias IL1 α e IL8 inducida por una estimulación con PMA.

Liberación de citoquinas por queratinocitos.

	IL1 α (pg/ml)		IL8 (ng/ml)
Control	7,8 \pm 0,0		0,1 \pm 0,0
Control estimulado (PMA)	42,3 \pm 4,5	(***)	30,6 \pm 1,9 (***)
Referencia (Dexametasona 10 ⁻⁷ M)	14,0 \pm 3,5	(-82% ***)	6,0 \pm 0,2 (-81% ***)
Hidrolizado de Vigna 0,05%	25,3 \pm 4,6	(-49% *)	23,9 \pm 1,0 (-22% *)

45

C. Evaluación del efecto protector frente al estrés oxidativo

a. Introducción:

50 Diferentes factores exógenos, como por ejemplo, las radiaciones UV, pueden inducir un estrés oxidativo que es susceptible de conducir a daños celulares, a un desequilibrio del estatuto redox o también a una pérdida de funciones moleculares.

Para protegerse contra este estrés oxidativo, la célula dispone de diferentes mecanismos de defensas de las

cuales forma parte la enzima microsomal hemo-oxigenasa o las HSP (Heat Shock Proteins o proteínas de choque térmico), como la HSP27, que ejerce también un papel protector en los queratinocitos regulando la producción de mediadores proinflamatorios.

5 Se ha utilizado un modelo de fibroblastos irradiados por los UVA con el fin de buscar un efecto protector del hidrolizado de Vigna frente a estos mecanismos de defensa de la célula contra el estrés oxidante.

b. Material y métodos:

10 Se han pretratado unos fibroblastos humanos normales durante 24 horas mediante el hidrolizado de Vigna al 0,05% (p/v). Las células se irradiaron después por 50 kJ/m² de UVA, después se reincubaron en presencia de hidrolizado de Vigna durante 6 horas. La expresión génica de la hemo-oxigenasa 1 y de la HSP27 se analizó por RT-PCR cuantitativa en tiempo real.

15 Los resultados se analizaron estadísticamente mediante un análisis de variancia (ANOVA) con un factor, seguida de un ensayo de Tukey:

- ns p>0,05: no significativo
- * 0,01<p<0,05: significativo
- ** 0,001<p<0,01: muy significativo
- ***p<0,001: altamente significativo

20 El nivel de expresión génica se expresó en cantidad relativa (QR) y el efecto protector se evaluó mediante el porcentaje de inhibición con respecto al control estimulado (UVA).

c. Resultados:

25 El hidrolizado de Vigna inhibió significativamente la expresión de los marcadores 20 del estrés oxidante hemo-oxigenasa 1 y HSP27 inducidos por la irradiación con UVA de fibroblastos.

30 Así, el hidrolizado de Vigna protege las células del estrés inducido por los UVA.

Expresión génica de la hemo-oxigenasa 1 y de la HSP27 por unos fibroblastos:

	HEMO OXIGENASA 1	HSP27
Células de control	1	1,00
Control UVA 50 kJ/m ²	156 (***)	4,84 (***)
Hidrolizado de Vigna 0,05% + UVA	62 (-60% *)	2,38 (-51% *)

D. Evaluación del efecto sobre la melanogénesis

a. Introducción:

40 La producción de melanina por los melanocitos en respuesta a una exposición a los UV constituye un sistema de defensa adaptativo de la piel. En efecto, situado en la capa basal de la epidermis, cada melanocito protege aproximadamente 36 queratinocitos.

45 Se evaluó el efecto del hidrolizado de Vigna sobre la producción de melanina por unos melanocitos humanos normales.

b. Material y métodos:

50 Se trataron unos melanocitos epidérmicos normales durante 240 horas por un análogo estable de α -MSH (NDP-MSH) en presencia, o no (control), del hidrolizado de Vigna al 0,01% (p/v). se evaluó la cantidad de melanina en los melanocitos por lectura de densidad óptica.

55 Los resultados se analizaron estadísticamente mediante un análisis de variancia (ANOVA) con un factor seguida de un ensayo de Dunnett:

- ns p>0,05: no significativo
- * 0,01<p<0,05: significativo
- ** 0,001<p<0,01: muy significativo
- ***p<0,001: altamente significativo

60 Se ha calculado el porcentaje de estimulación con respecto al control o al control estimulado.

c. Resultados:

El hidrolizado de Vigna presenta un efecto pro-pigmentante que contribuye a reforzar la fotoprotección. En efecto, el activo ha potenciado el efecto de NDP-MSH sobre la melanogénesis estimulando significativamente la producción de melanina por unos melanocitos humanos normales cultivados en presencia de NDP-MSH.

Producción de melanina por unos melanocitos humanos normales

	Melanina (µg/ml)	Estimulación con respecto al control	Estimulación con respecto al control estimulado
Control	37,0 ± 0,3		
Control estimulado (NDP-MSH)	45,5 ± 2,0	+23% **	
Hidrolizado de Vigna 0,01%	53,6 ± 1,3	+45%***	+18% *

10 E. Evaluación del efecto sobre la expresión de las proteínas de la matriz dérmicaa. Introducción:

Las modificaciones de la piel con la edad resultan de modificaciones de las funciones celulares y de modificaciones progresivas de la composición y de la estructura de la matriz-extracelular dérmica. En efecto, la dermis sufre una pérdida gradual de su grosor con una disminución de macromoléculas esenciales, como el colágeno y la elastina. Se puede atribuir esta disminución a una disminución de su síntesis y/o a un aumento de su degradación por las MMP (metaloproteinasas matriciales) por ejemplo.

El efecto del hidrolizado de Vigna sobre la modulación de la matriz extracelular de la dermis se evaluó sobre un modelo de fibroblastos dérmicos sobre los cuales se ha estudiado la expresión génica de la elastina y de la MMP1.

b. Material y métodos:

Se han tratado unos fibroblastos humanos normales durante 24 horas por el hidrolizado de Vigna al 0,01% y 0,05% (p/v) o por el TGFβ1 a 5 ng/ml (referencia). Se ha analizado la expresión génica de la elastina y de la MMP1 mediante RT-PCR cuantitativa en tiempo real.

Los resultados se analizaron estadísticamente mediante un análisis de variancia (ANOVA) con un factor, seguida de un ensayo de Dunnett:

- ns p>0,05: no significativo
 * 0,01<p<0,05: significativo
 ** 0,001<p<0,01: muy significativo
 ***p<0,001: altamente significativo

El nivel de expresión génica se expresó en cantidad relativa (QR) y el efecto del tratamiento con respecto a las células de control en porcentaje de aumento o de inhibición.

c. Resultados:

El hidrolizado de Vigna ha estimulado significativamente la expresión génica de la elastina y ha inhibido significativamente la expresión génica de la MMP1.

Estos efectos están a favor de una redensificación de la matriz dérmica y de una limitación de su degradación durante los procesos de reparación cutánea o del envejecimiento.

Expresión génica de marcadores de la matriz dérmica por unos fibroblastos.

	ELASTINA	MMP1
Células de control	1,00	1,00
Referencia (TGFβ1)	6,59 (+559% ***)	0,12 (-88% ***)
Hidrolizado de Vigna 0,01%	1,69 (+69% **)	0,77 (-23% **)
Hidrolizado de Vigna 0,05%	1,67 (+67% **)	0,59 (-41% ***)

F. Evaluación del efecto sobre la función barrera1. Introducción

La implementación de la función barrera está relacionada con la diferenciación epidérmica que desemboca en la formación del estrato córneo (SC). Diferentes estructuras permiten que el SC asegure su función de barrera: los lípidos intercelulares, la envuelta cornificada, los corneodesmosomas.

5 Se ha estudiado el efecto del hidrolizado de Vigna sobre la diferenciación epidérmica y el refuerzo de la función barrera evaluando la expresión génica de marcadores de la diferenciación epidérmica en unos queratinocitos por un lado, y por otro lado, evaluando la neosíntesis de los lípidos en un modelo de epidermis reconstruido.

10 2. Evaluación de la expresión génica de marcadores de la diferenciación epidérmica

10 a. Material y métodos:

15 Se trataron unos queratinocitos epidérmicos humanos normales durante 24 horas mediante el hidrolizado de Vigna al 0,01 y 0,05% (p/v); en paralelo, se cultivaron unos queratinocitos de control en condiciones favorables para la diferenciación (medio suplementado en calcio "High Ca"). La expresión génica de los marcadores de interés seleccionados se analizó mediante RT-PCR cuantitativa en tiempo real.

20 Los resultados se analizaron estadísticamente mediante un análisis de variancia (ANOVA) con un factor, seguida de un ensayo de Dunnett:

- ns p>0,05: no significativo
- * 0,01<p<0,05: significativo
- ** 0,001<p<0,01: muy significativo
- ***p<0,001: altamente significativo

25 El nivel de expresión génica se expresó en cantidad relativa (QR) y el efecto del tratamiento con respecto a las células de control en porcentaje de aumento.

30 b. Resultados:

El hidrolizado de Vigna ha aumentado significativamente la expresión génica de la involucrina y de la transglutaminasa 1 por los queratinocitos. El hidrolizado de Vigna tiene por lo tanto un efecto favorable a la diferenciación epidérmica y a la formación de la envuelta córnea.

35 Expresión génica de marcadores de la diferenciación por unos queratinocitos.

	INVOLUCRINA	TRANSGLUTAMINASA 1
Células de control	1,00	1,00
Hidrolizado de Vigna 0,01%	2,14(+114% ***)	1,95(+95% **)
Hidrolizado de Vigna 0,05%	1,61 (+61% **)	1,58 (+58% *)
Control High Ca	1,49 (+49% **)	2,25 (+125% ***)

40 3. Evaluación del efecto sobre la neosíntesis de los lípidos epidérmicos

40 a. Material y métodos:

45 Se han colocado unas epidermis reconstruidas de 3 días en medio de diferenciación que contiene o no (control) el hidrolizado de Vigna al 0,01% y 0,05% (p/v) y suplementado con [14C]-acetato. Las epidermis se incubaron después durante 48 horas. Después de la incubación, las epidermis se trataron de manera idéntica en ausencia de acetato y después se incubaron durante 48 horas suplementarias.

Al final de la incubación, la neosíntesis de los lípidos se estudió por medición de los fosfolípidos y lípidos neutros neoformados después de la cromatografía en capa delgada.

50 b. resultados:

El hidrolizado de Vigna ha estimulado la síntesis de colesterol y de ácidos grasos libres mediante las epidermis reconstruidas.

55 Análisis cuantitativo perfil lipídico de los lípidos neutros y ácidos grasos (% del control)

	Colesterol	Ácidos grasos libres
Control	100	100
Hidrolizado de Vigna 0,01%	125	123
Hidrolizado de Vigna 0,05%	130	130

G. Conclusión

Los resultados presentados en este informe han permitido demostrar la actividad del extracto (hidrolizado) de Vigna según la invención en dos ejes distintos, pero no obstante complementarios:

↳ **Refuerzo de las defensas cutáneas:**

- **Defensa antimicrobiana:** estimulación de la expresión génica de péptidos antimicrobianos (β -defensivas, ARNasa7, catelicidina, etc.) por unas epidermis reconstruidas [*Estudio preliminar de actividad*].
- **Defensas anti-oxidantes:** estimulación de la expresión génica de la HSP27 y hemo-oxigenasa 1 en unas epidermis reconstruidas en condiciones basales [*Estudio preliminar de actividad*]; protección contra un estrés inducido por UV sobre fibroblastos (modulación de la sobreexpresión inducida por UV de la HSP27 y de la hemo oxigenasa 1).
- **Protección anti-UV:** efecto potenciador de la melanogénesis sobre unos melanocitos.

↳ **Estimulación de los procesos de reparaciones cutáneas:**

- **Acción en profundidad:** estimulación de la elastina, inhibición de la MMP1 sobre fibroblastos dérmicos para una redensificación de la matriz dérmica.
- **Cicatrización:** estimulación de la expresión génica de marcadores implicados en la cicatrización epidérmica (calmodulina, MMP9, S100A7) en unas epidermis reconstruidas [*Estudio preliminar de actividad*].
- **Reconstrucción de la epidermis e implementación de la función barrera:**
 - ⇒ Acción sobre la diferenciación epidérmica: estimulación de la expresión génica de marcadores de la diferenciación y de la barrera (involucrina, transglutaminasa 1) sobre queratinocitos humanos normales y sobre epidermis reconstruidas [*Estudio preliminar de actividad*].
 - ⇒ Relipidación en superficie: estimulación de la expresión génica de las enzimas implicadas en la síntesis de los lípidos epidérmicos (sintasa de ácidos grasos, glucocerebrosidasa) sobre epidermis reconstruidas [*Estudio preliminar de actividad*]; estimulación de la neosíntesis de los lípidos epidérmicos (ácidos grasos libres, colesterol) sobre epidermis reconstruidas.

Estas diversas acciones están también reforzadas por una actividad antiinflamatoria del extracto (hidrolizado) de Vigna según la invención: modulación de la liberación de citoquinas inflamatorias (IL1 α , IL8) sobre queratinocitos frente a un estrés químico; inducción de la expresión génica de la HSP27 (papel protector) en unas epidermis reconstruidas [*Estudio preliminar de actividad*].

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición que comprende un extracto peptídico y osídico de semillas de *Vigna unguiculata* sustancialmente liberado de cualquier proteína nativa residual y, llegado el caso, un excipiente apropiado, caracterizada por que el extracto peptídico y osídico comprende del 10 al 90% en peso de péptidos y del 10 al 90% en peso de azúcares, estando los porcentajes expresados con respecto al peso total de dicho extracto peptídico y osídico.
- 10 2. Composición según la reivindicación 1, caracterizada por que el extracto peptídico y osídico comprende del 10 al 50%, ventajosamente del 20 al 45%, típicamente del 30% al 40%, en peso de péptidos.
3. Composición según la reivindicación 1 o 2, caracterizada por que el extracto peptídico y osídico comprende del 20 al 80%, ventajosamente del 30 al 70%, típicamente del 50 al 60%, en peso de azúcares.
- 15 4. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende por lo menos otro compuesto activo además del extracto de semillas de *Vigna unguiculata*.
5. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que se trata de una composición cosmética, farmacéutica, dermatológica o nutracéutica.
- 20 6. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que está formulada para ser administrada por vía tópica u oral.
- 25 7. Procedimiento de preparación de un extracto peptídico y osídico de semillas de *Vigna unguiculata* sustancialmente liberado de cualquier proteína nativa residual que comprende las etapas sucesivas siguientes:
- dispersión en fase acuosa de las semillas trituradas, ventajosamente a un pH comprendido entre 3,0 y 9,0 y a una temperatura comprendida entre 20 y 90°C,
 - 30 - hidrólisis enzimática de dicha dispersión, realizada mediante una mezcla enzimática de proteasas y de carbohidrasas, tales como pectinasas, celulasas, arabanasas, hemicelulasas, y β -glucanasas, y
 - recuperación del extracto peptídico y osídico.
- 35 8. Procedimiento según la reivindicación 7, caracterizado por que, tras la hidrólisis de dicha dispersión, y previamente a la recuperación del extracto peptídico y osídico, se procede a una etapa de ultrafiltración, por ejemplo, a un umbral de corte comprendido entre 10000 y 15000 Dalton.
- 40 9. Extracto de semillas de *Vigna unguiculata* sustancialmente liberado de cualquier proteína nativa residual susceptible de ser obtenido mediante el procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 8, que contiene del 10 al 90% en peso de péptido y del 10 al 90% en peso de azúcares.
10. Extracto según la reivindicación 9, que contiene del 10 al 50%, ventajosamente del 20 al 45%, típicamente del 30% al 40%, en peso de péptidos.
- 45 11. Extracto según la reivindicación 9 o 10, que contiene del 20 al 80%, ventajosamente del 30 a 70%, típicamente del 50 al 60%, en peso de azúcares.
- 50 12. Extracto según una de las reivindicaciones 9 a 11 o composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para su utilización en la prevención y/o el tratamiento de los trastornos o patologías de la piel y/o de las mucosas y/o de los faneros.
- 55 13. Utilización no terapéutica cosmética de un extracto según una de las reivindicaciones 9 a 11 o de una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para la prevención y/o el tratamiento de las alteraciones del tejido adiposo.
- 60 14. Extracto según una de las reivindicaciones 9 a 11 o composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para su utilización para cicatrizar la piel.
15. Procedimiento de cuidado no terapéutico cosmético de la piel y/o de los faneros y/o de las mucosas, con vistas a mejorar su estado y/o su aspecto, que comprende la administración de una composición tal como la definida según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o un extracto tal como el definido según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11.