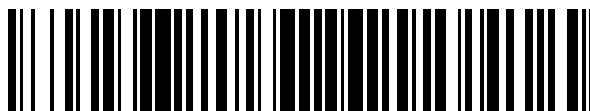


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 694 236**

51 Int. Cl.:

A61K 8/9789 (2007.01)

A61Q 19/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.02.2010** **E 10250300 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.09.2018** **EP 2246042**

54 Título: **Composiciones para tratar signos de envejecimiento de piel**

30 Prioridad:

20.02.2009 US 390102

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

19.12.2018

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**KIZOULIS, MENAS G.;
SOUTHALL, MICHAEL y
TUCKER-SAMARAS, SAMANTHA D.**

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 694 236 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

Composiciones para tratar signos de envejecimiento de piel

5 Campo de la invención

La invención se refiere a composiciones para tratar el envejecimiento de la piel. Más específicamente, la invención se refiere a composiciones para (i) estimular la producción de tropoelastina y (ii) entrecruzar tropoelastina al mismo tiempo.

10 Antecedentes de la invención

Puede entenderse que el envejecimiento de la piel está influenciado por factores intrínsecos y factores extrínsecos. Los factores intrínsecos incluyen cambios naturales en la piel, que están regulados por constitución genética. Los factores extrínsecos incluyen influencias exógenas como daño por UV, factores medioambientales y similares.

El envejecimiento de la piel puede afectar de manera negativa a la elasticidad y fuerza de la piel por medio de cambios en los dos constituyentes principales de la matriz extracelular dérmica, el colágeno proteico fibroso y la elastina. Por ejemplo, la elastina es una proteína fibrosa grande formada por el entrecruzamiento de moléculas de proteína precursoras de elastina (por ejemplo, tropoelastina) en filamentos espirales. Los filamentos espirales consisten en cadenas peptídicas que son capaces de extenderse y después reanudar su forma original.

Los fibroblastos de los tejidos conectivos dérmicos secretan elastina a la matriz extracelular. Sin embargo, la biosíntesis de elastina típicamente cesa en algún momento durante la edad adulta. Además, durante los procesos intrínsecos y extrínsecos de envejecimiento, la elastina sufre cambios estructurales y composicionales, por ejemplo, las fibras de elastina progresivamente degeneran y se separan en fragmentos. Los cambios pueden manifestarse por sí solos mediante signos de envejecimiento, tales como líneas, arrugas, pérdida de elasticidad, flacidez, sequedad e irregularidad en la piel, manchas solares y manchas de la edad.

Ciertos agentes son conocidos por su efecto beneficioso para inhibir la degradación de elastina entrecruzada. Por ejemplo, se conoce que metaloproteinasas de matriz (MPM), un grupo de enzimas que son capaces de romper macromoléculas en la matriz extracelular, juegan un papel importante en la degradación de elastina. Se ha descubierto que el contenido de MPM es notablemente más alto en piel vieja que en piel joven. MPM también juegan un papel crítico en el envejecimiento prematura de la piel causado por factores exógenos. Un nivel incluso superior de MPM se detectó en piel envejecida por la luz en comparación de piel envejecida protegida de la luz. J. H. Chung et al., J. Invest. Dermatol. (2001) 117, 1218-1224. Los estudios han mostrado que los niveles de una serie de metaloproteinasas de matriz (MPM-1, -3, -9 y -13) son significativamente más altos en pacientes con inflamación. T. Kuboto et al., Arch. Oral. Biol. (1996) 41, 253-262; A. L. Ejeil et al., J. Periodontol. (2003) 74, 188-195. Además, MPM-2 y MPM-9 resultaron ser las proteasas que degradan elastina. Cosmetic & Toiletries (2000) 115 (11, 75-82).

Se han descrito un número de extractos de plantas como inhibidores de varias MPM. Por ejemplo, J. L. Lamaison describe la inhibición de elastasa (elastasa pancreática porcina) con extractos de plantas seleccionadas del grupo de rosáceas y atribuye la inhibición a los taninos que contienen. Ann. Pharmaceutiques Francaises (1990) 48, 335-340.

M. Herrmann et al. desvela que SymMatrix, un extracto de hoja de zarzamora hidroalcohólico, muestra la actividad inhibidora de MPM-1, MPM-2 y MPM-9. SOFW Journal (2006) 132(4), 42-46.

Además, ciertos compuestos naturales o sintéticos son conocidos por su efecto beneficioso para promover la producción de precursor de elastina. Por ejemplo, los retinoides aumentan la producción de elastina en fibroblastos. Liu B, Harvey CS, McGowan SE. Am. J. Physiol. (1993 Nov) 265 (5 Pt 1): L430-437.

Además, también se ha observado que ciertos agentes influyen positivamente el entrecruzamiento de tropoelastina. Por ejemplo, lisil oxidasa sirve como enzima de entrecruzamiento y un elemento del andamiaje para asegurar la deposición de elastina definida espacialmente. Liu Xiaoqing et al., Nature Genetics (2004), 36(2), 178-182. Valerie et al., desvela un extracto de eneldo que induce la expresión genética de lisil oxidasa (LOX), que es responsable del entrecruzamiento de elastina en adultos, Experimental Dermatology (2006), 15(8), 574-81. Además, grosella, cardamomo, rábano negro, acebo japonés, goma de asafétida, hexeonato de etilo, butirato de metilo y decadienoato de etilo se desvelan como promotores de expresión genética de LOX, GB 2.438.999.

Así, se han propuesto numerosas vías y agentes para influenciar positivamente en la elastina y en las propiedades relacionadas de la piel. Sin embargo, los inventores han reconocido que se obtiene una eficacia sinérgica sorprendentemente beneficiosa al aplicar tópicamente una composición que incluye tanto un promotor de tropoelastina como un entrecruzante de tropoelastina.

Resumen de la invención

La presente invención se refiere a composiciones para tratar signos de envejecimiento de la piel. De acuerdo con la invención, se proporciona una composición como la expuesta en la reivindicación 1.

La composición de la invención puede usarse en un método para tratar un signo de envejecimiento de la piel que comprende aplicar tópicamente a la piel que lo necesite una cantidad cosméticamente efectiva de composición que comprende al menos un promotor de tropoelastina y al menos un entrecruzante de tropoelastina.

Otras características y ventajas de la presente invención serán aparentes a partir de la descripción detallada de la invención y de sus reivindicaciones.

Descripción detallada de realizaciones preferentes

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos aquí usados tienen el mismo significado que comúnmente entiende un experto en la técnica a la que la invención pertenece. A menos que se indique lo contrario, un porcentaje se refiere a un porcentaje por peso (esto es, %(P/P)).

Como aquí se usa, "signos de envejecimiento de la piel" incluyen la presencia de líneas y arrugas, pérdida de elasticidad, piel irregular, manchas solares y manchas de la edad.

Como aquí se usa, "tratar" se refiere a mitigar, reducir, prevenir, mejorar o eliminar la presencia o aparición de una condición o enfermedad.

Como aquí se usa, "arruga" incluye líneas finas, arrugas finas o arrugas gruesas. Ejemplos de arrugas incluyen, aunque no se limitan a, las líneas finas alrededor de los ojos (por ejemplo, "patas de gallo"), arrugas en la frente y mejillas, líneas al fruncir el ceño y líneas de expresión alrededor de la boca.

Como aquí se usa, "pérdida de elasticidad" incluye pérdida de elasticidad o integridad estructural de la piel o tejido, incluyendo, aunque sin limitar a, tejido flácido, laxo y flojo. La pérdida de elasticidad o integridad estructural de tejido puede ser el resultado de un número de factores, incluyendo, aunque sin limitar a, enfermedad, envejecimiento, cambios hormonales, trauma mecánico, daño medioambiental o el resultado de aplicación de productos, como cosméticos o medicamentos, al tejido.

Como aquí se usa, "piel irregular" significa una condición de la piel asociada con pigmentación dispersa o moteada, que puede clasificarse como hiperpigmentación, por ejemplo hiperpigmentación post-inflamatoria.

Como aquí se usa, "enrojecimiento" significa una condición de la piel asociada con rojeces o eritema.

Como aquí se usa, "manchas de la edad" significan una condición de la piel asociada con pigmentación discreta, por ejemplo, pequeñas áreas de pigmentación más oscura que pueden desarrollarse en la cara y en las manos.

Como aquí se usa, "cosmética" se refiere a una sustancia o preparación embellecedora que conserva, restablece, confiere, simula o mejora la apariencia de belleza corporal o parece mejorar la belleza o juventud, específicamente cuando se refiere a la apariencia de tejido o piel.

Como aquí se usa, "cantidad cosméticamente efectiva" significa una cantidad de un compuesto o composición fisiológicamente activa suficiente para tratar uno o más signos de envejecimiento de la piel, pero suficientemente baja para evitar efectos secundarios serios. La cantidad cosméticamente efectiva del compuesto o composición variará con la condición particular que se está tratando, la edad y condición física del usuario final, la severidad de la condición que se está tratando/previendo, la duración del tratamiento, la naturaleza de otros tratamientos, el compuesto o producto/composición específica empleada, el transportador particular cosméticamente aceptable utilizado y otros factores.

Se cree que un experto en la técnica, en base a la descripción aquí dada, utiliza la presente invención al máximo. Las siguientes realizaciones específicas se interpretarán como meramente ilustrativas, y no limitativas del resto de la divulgación de ninguna manera en absoluto.

Promotor de tropoelastina

El "promotor de tropoelastina", como aquí se usa, se refiere a una clase de compuestos que poseen la actividad biológica de mejorar la producción de tropoelastina. Los promotores de tropoelastina, de acuerdo con la invención, incluyen todos los compuestos naturales o sintéticos que son capaces de mejorar la producción de tropoelastina en el cuerpo humano.

Los promotores de tropoelastina adecuados pueden determinarse, por ejemplo, usando el "Ensayo de Promotor de Tropoelastina" de la siguiente manera.

5 Una línea celular de cardiomioblasto, H9c2 (2×10^4 células/pocillo) se cultiva en una placa con 48 pocillos durante 24 horas para alcanzar 80-90% de confluencia. Al siguiente día, las células se transfectan temporalmente con la construcción reportera de luciferasa pGL2-Elastin2.2 en una concentración de $0,45 \mu\text{g}$ ADN total en la proporción de 6:1 pGL:pRL, usando Lipofectamina 2000, siguiendo las instrucciones del fabricante (Invitrogen Corporation, Carlsbad, California). Se incluye una construcción con gen reportero de luciferasa de renilla (pRL-TK) como un control interno en todas las transfecciones. Un día después de la transfección, las células se tratan con la dosis indicada de la muestra de prueba durante 24 horas antes de que se lisen para análisis. Los ensayos de luciferasa se realizan usando Dual-Luciferase Reporter Assay System de Promega, siguiendo el protocolo del fabricante. La ratio de actividades de luciferasa de luciérnaga y renilla (RLU) se usa para evaluar la actividad de promotor de luciferasa de las muestras de la prueba. Específicamente, la ratio de actividades de luciferasa de luciérnaga y renilla (RLU) para la muestra se divide por la RLU medida para el control vehículo para llevar a la actividad de promotor de tropoelastina para a la muestra de la prueba.

Preferentemente, el promotor de tropoelastina tiene una actividad de promotor de tropoelastina de al menos 1,2, preferentemente al menos 1,25, más preferentemente al menos 1,3 y más preferentemente al menos 1,5; cuando se prueba en una o más concentraciones en un rango de 0,5 microgramos/milímetro a 2,5 miligramos por milímetro (en una base de activos), preferentemente cuando se prueba en una concentración en el rango de 1,0 microgramos/milímetro a 2,5 miligramos por milímetro (en una base de activos).

La composición de la presente invención comprende un promotor de tropoelastina donde el promotor de tropoelastina comprende un extracto de zarzamora.

Por "extracto de zarzamora" se entiende un extracto de una planta del género *Rubus*, y preferentemente *Rubus fruticosus*. El extracto de zarzamora es un extracto de hoja de zarzamora.

El proceso de extracción puede incluir retirar físicamente una parte de tal planta, y, por ejemplo, triturarla. También pueden aislarse compuestos adecuados de la planta usando procedimientos de extracción bien conocidos en la técnica, por ejemplo, el uso de disolventes orgánicos como alcoholes $\text{C}_1\text{-C}_8$ bajos, polioles de alquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$, cetonas de alquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$, éteres de alquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$, ésteres de alquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$ de ácido acético, y cloroformo y/o disolventes orgánicos como agua, ácidos inorgánicos como ácido hidrocórico, y bases inorgánicas como hidróxido de sodio.

Por ejemplo, un extracto de zarzamora puede prepararse mediante extracción con agua, alcoholes como etanol, o combinación de los mismos. Es preferente usar un extractante que incluya etanol y agua.

Las partes de la planta de zarzamora preferentemente se secan antes de la extracción. La presente invención usa solamente las hojas de la planta de la zarzamora y no otras partes de la planta como el fruto (bayas) de la zarzamora, sus ramas o raíces.

En una realización, el extracto de hoja de zarzamora se prepara de la siguiente manera: a) un extractante que contiene un alcohol seleccionado del grupo consistente en metanol, etanol, n-propanol e isopropanol se añade a las hojas de zarzamora, y b) las hojas de zarzamora se ponen en contacto con un extractante hasta 72 horas.

La ratio masa de extractante con sólidos de hoja se establece preferentemente de tal manera que se obtenga al menos una masa 10 veces de extractante en relación con los sólidos de hoja, pero preferentemente no más de un masa 50 veces de extractante en relación con los sólidos de hoja, preferentemente una masa 10-20 veces. Una masa de 14 a 18 veces de extractante en relación con los sólidos de hoja es particularmente preferente. Se consiguieron buenos resultados con una masa 16 veces de un disolvente que contenía etanol (en relación con los sólidos de hoja).

El tiempo para realizar la etapa de extracción b) es como máximo 72 horas, pero puede ser también más corta. Con tiempos de extracción particularmente cortos solamente se obtiene un extracto muy diluido en la etapa b). Por lo tanto, es preferente extraer las hojas de zarzamora en la etapa b) durante al menos 1 hora, en particular durante al menos 2 horas. El tiempo necesario de extracción se elige en base a la calidad de las hojas de zarzamora que se extraen, particularmente su edad, y otras condiciones de extracción, particularmente la temperatura de extracción. A elevadas temperaturas de extracción, en particular a una temperatura de extracción en el rango de 60 a 100°C , preferentemente en el rango de 80 a 100°C , el tiempo de extracción es preferentemente de 1 hora a 6 horas, particularmente de 2 horas a 4 horas.

Además, es particularmente preferente realizar la extracción en la etapa b) mediante reflujo del extractante, particularmente a temperaturas hasta aproximadamente 100°C , preferentemente en el rango de 80 a 100°C . En este caso, el tiempo de extracción es preferentemente no superior a 24 horas.

La temperatura de extracción se establece en base al extractante que se usa. Si se usa un disolvente que contiene etanol, es preferente una temperatura en el rango de 60°C a 100°C, en particular en el rango de 90°C a 100°C, particularmente si se usa una mezcla de etanol y agua como el extractante como se describe abajo.

Es preferente que el extractante contenga un alcohol, particularmente etanol, en una cantidad de al menos 20% peso en relación con el peso total del extractante. Es de la misma manera preferente que el extractante contenga agua en una cantidad de al menos 15% peso en relación con el peso total del extractante. Es particularmente preferente que el extractante contenga simultáneamente 20% peso de un alcohol (preferentemente etanol) y al menos 15% peso de agua en relación con el peso total del extractante.

Los extractos de hoja de zarzamora particularmente preferentes se obtienen con un extractante que consiste en etanol y agua en una ratio de peso de 2:8 (2 partes por peso de etanol mezcladas con 8 partes por peso de agua) a 8:2, preferentemente en una ratio de peso de 3:7 a 7:3, particularmente preferentemente en una ratio de peso de 3:7 a 1:1.

Los procedimientos detallados para preparar extracto de hoja de zarzamora adecuado se desvelan en la solicitud de patente de Estados Unidos publicada N° 2008/0095719.

El extracto de zarzamora de la presente invención es un extracto de hoja de zarzamora, esto es, el extracto se produce a partir de las hojas de la planta de zarzamora. En una realización preferente, el extracto de zarzamora se produce a partir de las hojas de *Rubus fruticosus*. En una realización más particularmente preferente, el extracto de zarzamora se produce extrayendo las hojas de *Rubus fruticosus* con una mezcla de agua y alcohol bajo tal como etanol.

Un extracto de zarzamora particularmente adecuado producido extrayendo las hojas de *Rubus fruticosus* con una mezcla de agua y etanol es el material comercialmente disponible "SymMatrix" de Symrise, Inc. de Teterboro, NJ, que está compuesto por aproximadamente 5 a 10% por peso de una matriz de maltodextrina.

Las composiciones incluyen, en una base activa, de 0,5% a 5% por peso de promotor de tropoelastina, y más preferentemente de 0,5% a 2% por peso de promotor de tropoelastina.

Entrecruzante de tropoelastina

Las composiciones de la presente invención incluyen un entrecruzante de tropoelastina que comprende extracto de eneldo. Por "entrecruzante de tropoelastina" se entiende una clase de compuestos que poseen la actividad biológica para mejorar el entrecruzamiento con base enzimática de precursores de elastina tales como tropoelastina, fibrilina y similares entre sí o en otros precursores de elastina en fibras elásticas existentes.

En una realización, el entrecruzante de tropoelastina es adecuado para promover la actividad de una isoforma de lisil oxidasa (como LOX, isoforma del tipo de lisil oxidasa) como se describe en la solicitud de patente publicada GB2402676 de Colectica.

Por "extracto de eneldo" se entiende un extracto de una planta del género *Peucedanum*, y preferentemente *Peucedanum graveolens*. El extracto puede ser uno de la planta entera, flor, semilla, raíz, rizoma, tallo, fruto y/u hoja de la planta, y puede prepararse mediante trituración o extracción química. En una realización preferente, el extracto de eneldo es un extracto del fruto del eneldo, preferentemente de *Peucedanum graveolens*.

Tales compuestos pueden también aislarse de la planta usando procedimientos de extracción bien conocidos en la técnica, por ejemplo, el uso de disolventes orgánicos como alcoholes C₁-C₈ bajos, polioles de alquilo C₁-C₈, cetonas de alquilo C₁-C₈, éteres de alquilo C₁-C₈, ésteres de alquilo C₁-C₈ de ácido acético, y cloroformo y/o disolventes orgánicos como agua, ácidos inorgánicos como ácido hidrocórico, y bases inorgánicas como hidróxido de sodio.

Un extracto de eneldo particularmente adecuado es un "fruto de eneldo", 5%-10% en agua, comercialmente disponible en BASF de Paripnay, NJ, como Lys'lastin.

La composición incluye, en una base de activos, de 0,5% a 5% por peso de entrecruzante de tropoelastina, y más preferentemente de 0,5% a 2% por peso de entrecruzante de tropoelastina.

De acuerdo con la invención, se consiguen efectos sorprendentes y sinérgicos al tratar uno o más signos del envejecimiento de la piel usando la composición de la invención. En particular, la aplicación tópica de la composición de la invención mejora las propiedades de la piel, por ejemplo, disminuye la líneas y arruga, aumenta la elasticidad y reduce el tono irregular de la piel, las manchas de sol y las manchas de la edad.

Transportadores cosméticamente aceptables

Uno o más transportadores cosméticamente aceptables pueden estar presentes en la composición cosmética de esta invención.

5 Como aquí se usa, “cosméticamente aceptable” significa adecuado para su uso en contacto con tejidos (humanos) (por ejemplo, la piel) sin excesiva toxicidad, incompatibilidad, inestabilidad, irritación, respuesta alérgica y similares, proporcional a una ratio razonable beneficio/riesgo.

10 Los transportadores adecuados de esta invención incluyen, aunque no se limitan a, agua, etanol, isopropanol, 1,2-propanodiol, glicerina, alcohol bencílico, dimetil isosorbida, triacetina, éteres de glicol, glicol de propileno y glicol de polietileno (PEG). Los disolventes particularmente preferentes incluyen PEG que tienen un peso molecular medio de entre aproximadamente 200 y aproximadamente 400, aceite de ricino, triacetina, dimetil isosorbida, etanol y agua, y combinaciones de los mismos. El transportador cosméticamente aceptable constituye desde aproximadamente 50% a aproximadamente 99,99% por peso de la composición, más preferentemente desde 15 aproximadamente 80% a aproximadamente 95% por peso, de la composición. En una realización particularmente preferente, la composición incluye al menos aproximadamente 25% por peso de agua, más preferentemente al menos aproximadamente 50% por peso de agua.

20 Pueden añadirse varios componentes a la formulación para alterar la osmolaridad y/o pH hasta niveles aceptables. Estos incluyen, aunque no se limitan a, manitol, sacarosa, cloruro de calcio, cloruro de sodio, fosfato de sodio monobásico, fosfato de sodio dibásico, hidróxido de sodio y ácido hidrocórico.

25 Las composiciones pueden hacerse en una amplia variedad de artículos cosméticos que incluyen, aunque no se limitan a, lociones, cremas, geles, barras, espráis, pomadas, jabones líquidos limpiadores y barras sólidas, champús y acondicionadores para pelo, pastas, espumas, polvos, mousses, cremas para afeitado, toallitas, tiras, parches, parches eléctricamente accionados, vendajes y vendas adhesivas para heridas, hidrogeles, productos que forman película, mascarillas faciales y para la piel, maquillaje como bases, delineadores de ojo, sombras de ojo y similares.

30 Estos tipos de productos pueden contener varios tipos de transportadores cosméticamente aceptables incluyendo, aunque sin limitar a, soluciones, suspensiones, emulsiones tales microemulsiones y nanoemulsiones, geles, sólidos y liposomas. Aquellos expertos en la técnica pueden formular otros transportadores. Con el fin de facilitar la formulación de un vehículo adecuado, se puede incluir cualquiera de los varios ingredientes funcionales en la composición. Por ejemplo, se pueden incluir un de un número de emolientes, humectantes, ajustadores de pH, 35 secuestrantes, emulsionantes, agentes humectantes, espesantes, polímeros, conservantes, colorantes, fragancias y otros ingredientes comúnmente usados en productos cosméticos y de cuidado personal. El pH elegido no es crucial, pero puede estar en un rango, por ejemplo, de aproximadamente 4 a aproximadamente 8, como desde aproximadamente 5 a aproximadamente 7.

40 **Agentes cosméticamente activos adicionales**

En una realización, las composiciones de acuerdo con esta invención pueden además contener uno o más agentes cosméticamente activos adicionales además de los componentes anteriormente mencionados. Lo que se entiende por “agente cosméticamente activo” es un compuesto, que puede ser un compuesto sintético o un 45 compuesto extraído, aislado, purificado o concentrado a partir de una fuente natural, o un extracto natural que contiene una mezcla de compuestos, que tiene un efecto cosmético o terapéutico en el tejido, incluyendo, aunque sin limitar: agentes antimicrobianos como agentes anti-levadura, anti-hongos y antibacterianos, agentes antiinflamatorios, agentes antienviejecimiento, agentes antiparásitos, antioxidantes, agentes queratolíticos, nutrientes, vitaminas, minerales, potenciadores de energía y similares.

50 Los ejemplos de vitaminas que pueden ser constituyentes de las composiciones de esta invención incluyen, aunque no se limitan a, vitamina A, vitaminas B como vitamina B3, vitamina B5, vitamina B7 y vitamina B2, vitamina C, vitamina K, vitamina E como alfa, gamma o delta-tocoferol, y sus derivados (como sales y ésteres) y mezclas de los mismos.

55 Los ejemplos de antioxidantes que pueden utilizarse en las composiciones y métodos de esta invención incluyen, aunque no se limitan a, antioxidantes solubles en agua como compuestos de sulfhidrilo y sus derivados (por ejemplo, metabisulfito de sodio y N-acetil-cisteína), ácido lipoico y ácido dihidrolipoico, resveratrol, lactoferrina, y ácido ascórbico y derivados de ácido ascórbico (por ejemplo, palmitato ascorbilo y polipéptido ascorbilo). Los 60 antioxidantes solubles en aceite adecuados para uso en las composiciones de esta invención incluyen, aunque no se limitan a, hidroxitolueno butilado, retinoides (por ejemplo, retino y palmitato de retinilo), diferentes tipos de tocoferoles (por ejemplo, alfa-, gamma-, y delta-tocoferoles y sus ésteres como acetato) y sus mezclas, tocotrienoles y ubiquinona. Los extractos naturales que contienen antioxidantes adecuados para uso en las composiciones de esta invención incluyen, aunque no se limitan a, extractos que contienen flavinoides, isoflavinoides, y sus derivados 65 como genisteína y daidzeína (por ejemplo, extractos de soja y trébol, extractos que contienen resveratrol y similares).

Otros materiales

Otros materiales diferentes pueden estar también presentes en las composiciones útiles en la invención objeto. Estos incluyen proteínas y polipéptidos; conservantes y un agente alcalino. Ejemplos de tales agentes se desvelan en el Diccionario y Manual Internacional 2008 de Ingredientes Cosméticos, 12ª edición, publicado por el Consejo de Productos de Cuidado Personal).

La presente invención se define además en los siguientes ejemplos. Debería entenderse que estos ejemplos, mientras indican realizaciones preferentes de la invención, se dan únicamente a modo de ilustración.

Ejemplos

Ejemplo 1: Ensayo de promoción de tropoelastina

Se prepararon varias muestras usando los siguientes extractos: *Continus coggygria* (extracto de agua de Continus coggygria, 3% activo de Bilkokoop de Sofía, Bulgaria), *Tanacetum parthenium* (20% activo, extracto de matricaria libre de partenolida de Integrated Botanical Technologies de Ossining, NY), *Rubus fruticosus* (10% activo, SymMatrix, de Symrise), y *Peucedanum graveolens* (10% activo, Lys'lastin, de BASF). Estos extractos se diluyeron en medio de cultivo celular (Medio DMEM de Invitrogen, San Diego CA) hasta la concentración de extracto "activo" como se indica en la Tabla 1 más abajo. El extracto de zarzamora se pre-diluyó en suficiente etanol con el fin de preparar una mezcla homogénea antes de la dilución con el medio de cultivo celular. La concentración de etanol en las muestras fue aproximadamente 1%.

Cada muestra se sometió al Ensayo de promotor de tropoelastina. Los resultados se muestran en la Tabla 1.

TABLA 1

Extracto	Concentración (en base activa)	Aumento en actividad de promotor de tropoelastina
<i>Continus coggygria</i>	15 ug/ml	1,57 ± 0,24*
<i>Tanacetum parthenium</i>	20 ug/ml	1,54 ± 0,11*
<i>Tanacetum parthenium</i>	5 ug/ml	1,27 ± .024
<i>Rubus fruticosus</i>	5 ug/ml	1,73 ± .026*
<i>Rubus fruticosus</i>	0,5 ug/ml	1,33 ± .019
<i>Peucedanum graveolens</i>	2,5 ug/ml	0,95 ± 0,11
<i>Vehículo control</i>	0,01%	1,05 ± 0,10
* = P<0,05 usando prueba T de Student		

El extracto de zarzamora proporcionó la mayor promoción de tropoelastina, seguida por una promoción significativa de tropoelastina para el extracto de matricaria y el extracto de cotinus. En cambio, el extracto de eneldo, incluso en una concentración alta, no proporcionó promoción de tropoelastina.

Ejemplo II: Preparación de composiciones

Las siguientes composiciones de acuerdo con la invención, Composiciones 1 y 2, se prepararon usando los ingredientes mostrados en la Tabla 2 y Tabla 3, respectivamente.

TABLA 2: Composición 1

Nombre INCI	Nombre comercial	Porcentaje
AGUA	AGUA PURIFICADA	68,95
Ultrez 10	Carbomer	0,60
Disodio EDTA	VERSENE NA	0,20
Steareth-2	Brij 72	0,75
Steareth-21	Brij 721	1,50
Alquil Benzoato C12-15	Finsolv TN	2,00
Fluido de silicona Dow Corning Q7-9120 (20 cst)	Dimethicone	5,00
Phenonip XB	Phenonip XB	1,00
<i>Peucedanum graveolens</i> (10% activo)	Lys'Lastine	10,00
Maltodextrina, Extracto hoja <i>Rubus Fruticosus</i> (Zarzamora) (10% activo)	SymMatrix	10,00

VERSENE está disponible en Dow Chemicals de Midland, Michigan. ULTREZ/CARBOMER está disponible en Lubrizol Corporation de Wickliffe, Ohio. BRIJ está disponible en ICI-Uniquema-AkzoNobel de Ámsterdam, Países Bajos. FINSOLV está disponible en Finetex Corporation de Elmwood Park, NJ. MIRASIL está disponible en Rhodia Group de Cranbury, NJ. PHENONIP está disponible en Clariant Functional Chemicals of Woodlands, Texas. LYS'LASTINE está disponible en BASF de Parsippany, Nueva Jersey. SymMatrix está disponible en Symrise Inc. de Teterboro, NJ.

La composición 1 se preparó de la siguiente manera. Se preparó una fase de aceite añadiendo benzoato de alquilo C 12-15 a un matraz de cristal limpio. Se inició agitación y el recipiente se calentó a 55-60°C. Cuando la fase de aceite alcanzó 55°C o más, se añadieron Brij 72 y Brij 721. Cuando la fase de aceite alcanzó 55-60°C, se mantuvo a esa temperatura y se mezcló durante 15 min (o hasta que se hizo uniforme). La temperatura después se mantuvo a 55-60°C con mezcla hasta la adición a la fase de agua.

Se preparó una fase de agua añadiendo agua a un matraz de cristal limpio. Se inició agitación y el recipiente se calentó a 55-60°C. Se añadieron EDTA disodio y Ultrez 10. A 55-60°C, los ingredientes se mezclaron durante 15 min o hasta conseguir homogeneidad. La temperatura se mantuvo después a 55-60°C con mezcla para la fase.

La fase de aceite se añadió a la fase de agua con agitación creciente y después se mezcló a velocidad alta durante 10-20 min. A 50°C o menos, se añadió dimeticona. A 40°C o menos, se añadió Phenonip XB. Las fases se mezclaron después durante 10 min o hasta conseguir uniformidad. Se añadió hidróxido de sodio (pH objetivo fue 5,4). La composición se mezcló después durante 10 min o hasta conseguir uniformidad. Después se añadieron Lys'Lastine y SymMatrix. Esto se mezcló hasta conseguir uniformidad. Después se añadió agua hasta QS y la composición se mezcló después durante 10 minutos. La concentración de extracto de zarzamora y extracto de eneldo, en una base de activos, en la composición final fue individualmente del 1%.

TABLA 3: Composición 2

Nombre INCI	Nombre comercial	Porcentaje
Agua	Agua desmineralizada	41,47312
Agua, hidroxietil urea, lactato de amonio	Hydrovance	2,00000
Glicerina	Glycerin 99,5%	4,00000
Disodio EDTA	Disodium EDTA	0,10000
Goma esclerótica	Amigel	0,50000
Cafeína	Caffeine	2,00000
Agua, hidroxipropilo, fosfato de almidón	Structure XL	3,70000
Hidróxido de sodio	Sodium Hidroxiide 100%	0,00650
Metilparabeno	Methylparaben	0,20000
Isoodecil neopentanoato	DUB VCI 10	2,00000
Isononil isononanoato	Isononyl Isononanoate	4,00000
Dimeticona	Mirasil DM 100	1,00000
Alcohol cetílico. Estearato glicerol. Steareth-20. Ceteth-20. PEG-75 Estearato	Emulium Delta	3,00000
BHT	BHT	0,07000
Propilparabeno	Propylparaben	0,20000
Etilparabeno	Ethylparaben	0,15000
Acetato de tocoferol	Tocopheryl Acetate	0,10000
Dimeticona	DC 1413	2,00000
Ciclopentasiloxano	Cyclopentasiloxane	3,00000
Agua, copolímero cruzado de metilmetacrilato	Micropearl M305	1,00000
Fenoxietanol	Phenoxyethanol	0,50000
PEG-8	PEG-8	5,00000
Maltodextrina, Extracto hoja <i>Rubus Fruticosus</i> (Zarzamora) (10% activo)	Symmatrix	10,00000
<i>Peucedanum graveolens</i> (10% activo)	Lys'Lastine	10,00000
CI 14700	FD&C Red No. 4	0,00038
Alcohol. Agua	Alcool ethylique surfon 96	5,00000

HYDROVANCE y STRUCTURE XL están disponibles en AkzoNobel. AMIGEL está disponible en Alban Muller International de Miami, Florida. Metilparabeno está disponible en Alfa Aesar de Ward Hill, Massachusetts. DUB VCI está disponible en Stearinerie Dubois de Aylesbury, Reino Unido. EMULIUM está disponible en Gattefosse de St. Priest, Francia. DC1413 está disponible en Dow Corning de Midland, Michigan. MICROPEARL está disponible en Seppic de Fairfield, Nueva Jersey.

La composición 2 se preparó de la siguiente manera. Se preparó una fase de aceite añadiendo a un recipiente DUB VCI, isononil isonanoato, MIRASIL, EMULIUM, BHT, propilparabeno, etilparabeno y acetato de tocoferol mientras se mezclaba y calentaba a 80°C.

Se preparó una fase de agua añadiendo agua a un recipiente y añadiendo STRUCTURE XL y EDTA. Se aplicó calor y se añadieron HYDROVANCE y glicerina. Cuando la fase de agua alcanzó 40°C, se añadió AMIGEL. Cuando la fase de agua alcanzó 7°C, se añadieron cafeína y metilparabeno.

La fase de agua y la fase de aceite se combinaron a 80°C y se dejaron enfriar. A 35°C se añadieron MICROPEARL, fenoxietanol, fragancia, PEG-8, retinol y CL 14700. Cuando la mezcla se enfrió a 20°C se añadió alcohol. La concentración de extracto de zarzamora y extracto de eneldo, en una base de activos, en la composición final fue individualmente del 1%.

Se preparó una Composición Comparativa A (placebo) usando los ingredientes mostrados en la Tabla 4.

TABLA 4: Composición Comparativa A

Nombre CTFA	Nombre comercial	Porcentaje
Glicol de propileno	Propylene Glycol	25,00
Agua	Purified wáter	61,45
Disodio EDTA	VERSENE NA	1,00
Glicerina 917	Glycerine	3,00
Dimeticona	DC 200 Fluid 100cst	2,00
BHT	BHT	0,05
Poliacrilamida & Laureth 7 & C13-14 Isoparafina	Sepigel 305	6,50
Phenonip XB	Phenonip XB	1,00

DC 200 Fluid 100cst está disponible en Dow Corning de Midland, Michigan. SEPIGEL 305 está disponible en Seppic de Fairfield, Nueva Jersey.

La composición comparativa A se hizo de la siguiente manera. Se añadieron agua y glicol de propileno a un matraz de cristal limpio y se inició agitación. El recipiente se calentó a 40-45°C. Esta fase de agua se mezcló durante 15 minutos o hasta que se hizo homogénea. Después se añadieron BHT, Glicerina y Fluido DC 200 y se mezclaron a velocidad alta durante 10-20 min. Esto se dejó enfriar. A 40°C o menos, se añadió Phenonip XB. Esto se mezcló durante 10 min o hasta que consiguió uniformidad. Después se añadió Sepigel 305 y los ingredientes se mezclaron durante 10 min o hasta que se consiguió uniformidad y después se dejó enfriar a temperatura ambiente. Esta muestra se sirvió como un placebo (no activo).

Se preparó una Composición Comparativa B usando los ingredientes mostrados en la Tabla 5.

TABLA 5: Composición Comparativa B

Nombre CTFA	Nombre comercial	Porcentaje
Cotinus (10% extracto simrise)	Cotinus (10% extracto simrise)	20,00
Agua	Purified wáter	66,45
Disodio EDTA	VERSENE NA	1,00
Glicerina 917	Glycerine	3,00
Dimeticona	DC 200 Fluid 100cst	2,00
BHT	BHT	0,05
Poliacrilamida & Laureth 7 & C13-14 Isoparafina	Sepigel 305	6,50
Phenonip XB	Phenonip XB	1,00

Cotinus (10% extracto en agua) está disponible en Symrise Inc. de Teterboro, NJ.

La composición comparativa B se preparó de manera similar a la composición comparativa A, excepto que el extracto de Cotinus se añadió al recipiente después de haberse enfriado a temperatura ambiente y la mezcla se mezcló durante otros 10 minutos. La composición final tuvo una concentración de extracto de Cotinus de 2%, en una base de activos.

Una composición comparativa C se preparó usando ingredientes idénticos a los mostrados para la composición comparativa A, excepto que se incluyó 20% de extracto de *Rubus fruticosus* y se excluyó una cantidad correspondiente de agua. El extracto de *Rubus fruticosus* se premezcló en un lodo líquido con el glicol de propileno y esta premezcla se añadió al recipiente después de enfriar el lote a temperatura ambiente, después de lo cual se mezcló durante otros 10 minutos. La composición final tuvo una concentración de extracto de *Rubus fruticosus* que fue 2%, en una base de activos.

Una composición comparativa D se preparó usando ingredientes idénticos a los mostrados para la composición comparativa A, excepto que se incluyó 10% de Lys'Lastine (extracto de eneldo) y se excluyó una cantidad correspondiente de agua. El Lys'Lastine se premezcló en un lodo líquido con el glicol de propileno y esta premezcla se añadió al recipiente después de enfriar el lote a temperatura ambiente, después de lo cual se mezcló durante otros 10 minutos. La composición final tuvo una concentración de Lys'Lastine que fue 1%, en una base de activos.

Prueba con cutómetro

Las composiciones 1 y 2, y las composiciones comparativas A-D se usaron en un estudio clínico realizado con 50 sujetos humanos (mujeres, en edades entre 35 y 50). A cada sujeto se le asignaron arbitrariamente dos composiciones diferentes para usarse durante el curso del estudio. Después del tratamiento con las composiciones, los sujetos fueron sometidos a una prueba con cutómetro como se describe más abajo. La prueba con cutómetro proporciona una medición cuantitativa *in vivo* de propiedades asociadas con la elasticidad de la piel.

En cada uno de los sujetos, se aplicó una cantidad del tamaño de un guisante de la primera composición en la parte superior e interna del brazo dos veces al día durante 12 semanas. Se aplicó una segunda composición en el otro brazo del sujeto de la misma manera. Se tomaron mediciones con el Cutómetro SEM 580 (disponible en Courage & Khazaka de Colonia, Alemania) en el centro de la parte superior e interna del brazo para evaluar las propiedades viscoelásticas de la piel en el lugar de la aplicación. El instrumento aplicó un vacío de 400 mbar a través de una sonda de 2 milímetros a un área pequeña de la piel durante dos segundos. La respuesta elástica de la piel se midió después mediante una técnica óptica. Este método proporcionó los siguientes parámetros de deformación en relación con la elasticidad de la piel: "Elasticidad Total" e "Índice de Recuperación Elástica".

Los resultados se muestran en la Tabla 6.

TABLA 6: RESULTADOS DE LA PRUEBA CON CUTÓMETRO

Material de prueba	Concentración (base activa, %)	Elasticidad total ($\times 10^{-3}$)	Aumento neto en índice de recuperación de elasticidad ($\times 10^{-3}$)
Comp. A (Placebo)	--	5	0
Comp. B (<i>Cotinus coggygria</i>)	2%	9	2
Comp. D (<i>Peucedanum graveolens</i>)	1%	1	-14
Comp. C (<i>Rubus fruticosus</i>)	2%	9	8
Comp. 1 (<i>Peucedanum graveolens</i> y <i>Rubus fruticosus</i>)	1% cada uno	33*	21**
* = P<0,05 significado versus placebo usando una prueba T de Student			
* = P<0,1 significado versus placebo usando una prueba T de Student			

De manera bastante sorprendente, la composición 1 que contenía 1% de *Rubus fruticosus* y 1% de *Peucedanum graveolens* demostró una mejora sinérgica en la elasticidad de la piel. El efecto combinado fue mayor que la suma de los efectos separados de incluso 2% de *Rubus fruticosus* y 1% de *Peucedanum graveolens* solos. De hecho, la mejora en elasticidad para la composición 1 que contenía 1% de *Rubus fruticosus* y 1% de *Peucedanum graveolens* fue más que el triple que la suma de los efectos separados de 2% de *Rubus fruticosus* (composición C) y 1% de *Peucedanum graveolens* (composición D). Además, esta sinergia sorprendente se mantuvo para la elasticidad total y el aumento neto en recuperación elástica.

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición cosmética que comprende: (a) un promotor de tropoelastina donde el promotor de tropoelastina comprende extracto de hoja de zarzamora, y (b) un entrecruzante de tropoelastina que comprende extracto de eneldo; donde dicho promotor de tropoelastina está presente en una cantidad que comprende, en una base activa, de 0,5% a 5% por peso de la composición y donde dicho entrecruzante de tropoelastina está presente en una cantidad que comprende, en una base activa, de 0,5% a 5% por peso de la composición.
- 10 2. La composición cosmética de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicho promotor de tropoelastina está presente en una cantidad que comprende, en una base activa, de 0,5% a 2% por peso de la composición.
- 15 3. La composición cosmética de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicho entrecruzante de tropoelastina está presente en una cantidad que comprende, en una base activa, de 0,5% a 2% por peso de la composición.
- 20 4. La composición cosmética de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicho promotor de tropoelastina tiene una actividad de promotor de tropoelastina de al menos 1,2.
- 25
- 30
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65