

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 715 761**

51 Int. Cl.:

C07H 15/06 (2006.01)

A61K 8/60 (2006.01)

A61Q 17/00 (2006.01)

A61Q 19/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.03.2016 PCT/EP2016/055324**

87 Fecha y número de publicación internacional: **15.09.2016 WO16142529**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.03.2016 E 16712274 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.12.2018 EP 3268378**

54 Título: **Galactolípido para su utilización en la cicatrización y en la prevención y/o el tratamiento del envejecimiento cutáneo**

30 Prioridad:

11.03.2015 FR 1552028

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

06.06.2019

73 Titular/es:

**PIERRE FABRE DERMO-COSMÉTIQUE (100.0%)
45, place Abel Gance
92100 Boulogne-Billancourt, FR**

72 Inventor/es:

**MANDEAU, ANNE;
HERNANDEZ-PIGEON, HÉLÈNE y
DUPLAN, HÉLÈNE**

74 Agente/Representante:

CURELL SUÑOL, S.L.P.

ES 2 715 761 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).

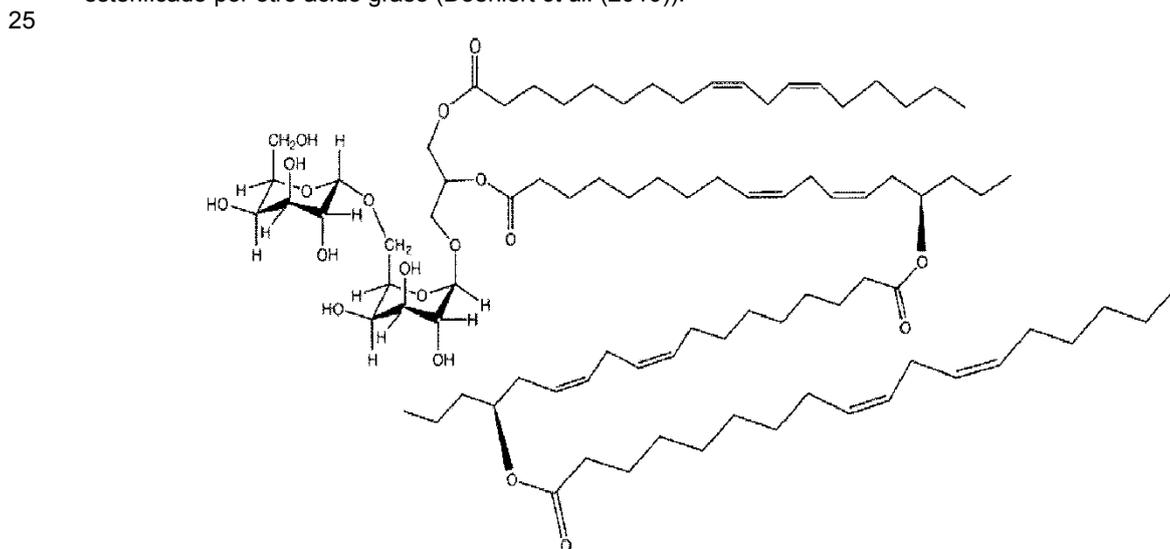
DESCRIPCIÓN

Galactolípido para su utilización en la cicatrización y en la prevención y/o el tratamiento del envejecimiento cutáneo.

5 La presente invención se refiere en particular a la utilización de galactolípidos particulares para la cicatrización, la reparación, el refuerzo y el reequilibrio de la barrera cutánea que incluye la barrera mecánica, la hidratación cutánea y para la prevención y el tratamiento del envejecimiento cutáneo.

10 Mientras que los compuestos mayoritarios de la mayoría de las membranas biológicas son los fosfolípidos, los lípidos más abundantes en los cloroplastos son los galactolípidos, MGDG y DGDG (mono- y digalactosildiacilgliceroles). Además de los cloroplastos, estos galactolípidos están presentes en grandes cantidades en los granos de avena. Hemberg *et al.* (1996) han puesto en evidencia en los granos de avena la presencia de un ácido graso hidroxilado particular, el ácido 15(*R*)-hidroxilinoico, o ácido avenoleico, y más tarde, la presencia de un nuevo galactolípido que consiste en el ensamblaje de una molécula de ácido avenoleico (hidroxiácido), dos moléculas de ácido linoleico, dos moléculas de D-galactosa y una molécula de glicerol (Hamberg *et al.* (1998)). Esta molécula está presente en una cantidad de 0,5-0,6 mg/g de granos, equivalente a la cantidad de otros digalactosildiacilgliceroles que contienen unas cadenas aciladas no oxigenadas.

20 El ácido avenoleico es una oxilipina (ácido 15(*R*)-hidroxi-(9*Z*),(12*Z*)-octadecadienoico) presente en la avena pero no detectable en los granos de cebada, de centeno y de trigo. Es similar químicamente al ácido ricinoleico. Se almacena en granos en forma de galactolípidos. Los galactolípidos que contienen unos ácidos grasos oxigenados son raros. Este es un estólido natural, formándose un estólido cuando un ácido graso hiroxilado es esterificado por otro ácido graso (Doehlert *et al.* (2010)).



DGDG di-estólido aislado de los granos de *Avena sativa*

30 El DGDG mono-estólido es el más abundante. Está acompañado por dos DGDG di- y tri-estólidos, dos trigalactosildiacilgliceroles mono- y di-estólidos y un tetragalactosildiacilgliceroles mono-estólido.

35 Los estólidos naturales son no obstante raros. Se han descrito unos triacilglicerolestólidos en los aceites de granos de 3 especies de *Sebastiania*, en el aceite de cornezuelo, en el aceite de *Lesquerella* y en el aceite de ricino. No se ha descrito hasta ahora ningún estólido de digalactosil diacilgliceroles (DGDG) salvo los aislados del grano de avena (Moreau *et al.* (2008)).

40 Las solicitudes de patente WO 96/25142 y EP 1 043 016 describen la actividad de galactolípidos, en particular de galactosilglicéridos y de los extractos naturales que los contienen, sobre la producción extracelular de fibronectina por los fibroblastos humanos, amplificando así la red extracelular de fibronectina, y su utilización para prevenir o tratar los efectos del envejecimiento y favorecer la cicatrización.

Sin embargo, no se ha descrito ninguna actividad particular de los estólidos de DGDG.

45 Los inventores de la presente invención han descubierto de manera sorprendente que los galactolípidos de tipo DGDG eran útiles en la cicatrización cutánea y podían ser utilizados así, en particular por vía tópica, en la reparación, el refuerzo y el reequilibrio de la barrera cutánea.

Han demostrado también el efecto de los galactolípidos de tipo DGDG sobre el refuerzo y el reequilibrio de la

barrera mecánica de la piel, así como sobre la hidratación cutánea, en particular la hidratación del estrato córneo (SC). La hidratación cutánea puede ser mejorada por una mejor captación y retención de moléculas de agua en el estrato córneo, o por una limitación de la difusión intracorporal hacia el exterior. Una mejor hidratación del SC conduce a una mejora de las sensaciones de tirantez de la piel y a la disminución de las rugosidades, grietas y/o fisuras.

Los inventores han utilizado un modelo *in vitro* de SC aislado que permite estudiar las modificaciones de sus propiedades mecánicas en función de su nivel de hidratación. Los parámetros medidos son el módulo de elasticidad, que demuestra la rigidez del tejido a la extensión, la tensión cutánea y la energía de agrietamiento. La asociación de estos parámetros permite definir una relación entre el estado de sequedad cutánea y el nivel de tensión cutánea así como la aparición de grietas. Además, la utilización de este modelo permite conocer con una gran precisión el impacto de activos sobre estas mediciones mecánicas y, en consecuencia, sobre el estado de hidratación del estrato córneo (Levi *et al.* (2010); Vyumvuhore *et al.* 2015).

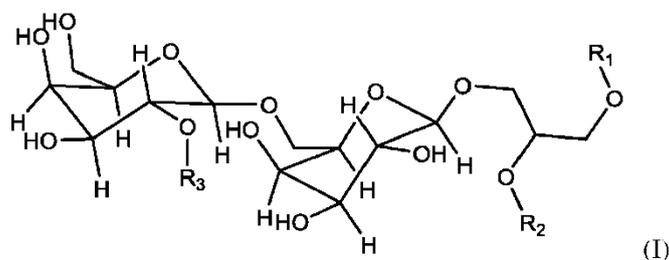
Por “barrera cutánea”, se entiende, en el sentido de la presente invención, la protección conferida por la capa epidérmica de la piel. Esta “barrera” asegura la estanqueidad del organismo y consiste más particularmente en proteger el organismo de la deshidratación en un medio no acuático, en protegerlo de estreses o de agresiones ambientales.

La barrera cutánea, en el sentido de la presente invención, incluye por lo tanto la barrera mecánica conferida por la piel, y más particularmente por el estrato córneo. Se puede evaluar esta barrera mecánica en particular según el enfoque biomecánico del SC (evaluación del estado de tensión del SC aislado deshidratado descrito en Levi *et al.* (2010)).

Ventajosamente, la enseñanza de la presente invención se refiere a las pieles frágiles. En efecto, se describe que las pieles frágiles presentan numerosos signos de una barrera cutánea alterada (Ramos e Silva *et al.* (2013); Biniek *et al.* (2012)).

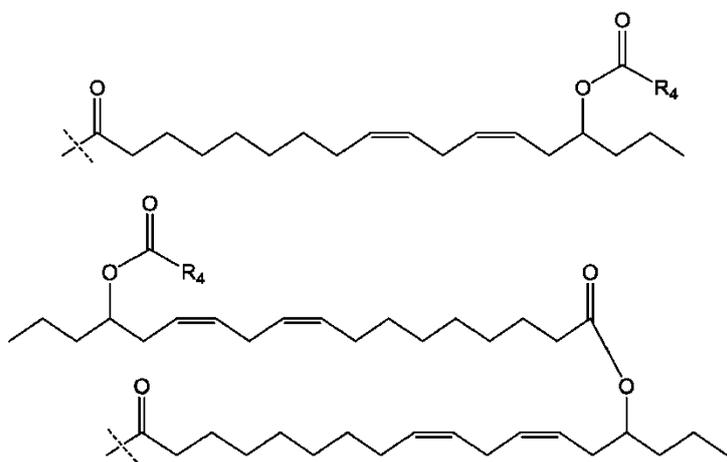
Los inventores han puesto también en evidencia que estos galactolípidos de tipo DGDG eran útiles en la prevención y el tratamiento del envejecimiento cutáneo, incluyendo el fotoenvejecimiento cutáneo (envejecimiento de la piel inducido por los rayos UV, en particular del sol).

La presente invención tiene por lo tanto por objeto un galactolípido de fórmula (I) siguiente:



en la que:

- R₁ y R₂, idénticos o diferentes, representan un grupo -CO-R₄,



- R₃ representa:

- un grupo -CO-R₅ cuando R₁ y R₂ representan cada uno, independientemente el uno del otro, un grupo -CO-R₄,
- un átomo de hidrógeno o un grupo -CO-R₅ cuando el menos R₁ o R₂ representa un grupo diferente de -CO-R₄, y

- R₄ y R₅, idénticos o diferentes, representan una cadena hidrocarbonada lineal o ramificada, preferentemente lineal, saturada o insaturada, que comprende 9 a 25, en particular 11 a 21, particularmente 13 a 19, más particularmente 15 a 17, átomos de carbono, eventualmente sustituida por un grupo OH,

para su utilización en la cicatrización, preferentemente de la piel; la reparación, el refuerzo y el reequilibrio de la barrera cutánea; y la prevención y el tratamiento del envejecimiento cutáneo, particularmente la prevención y el tratamiento del fotoenvejecimiento cutáneo.

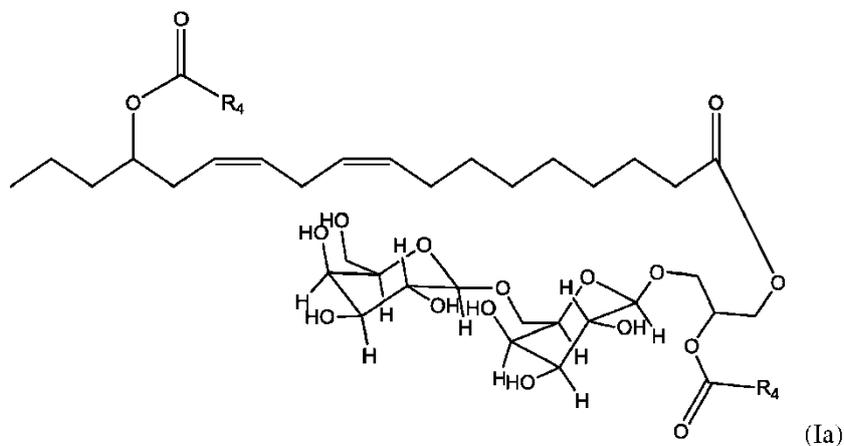
La presente invención se refiere también a la utilización de un galactolípido de fórmula (I), para la preparación de una composición dermocósmética o dermatológica útil en la cicatrización, preferentemente de la piel; la reparación, el refuerzo y el reequilibrio de la barrera cutánea, incluyendo el refuerzo y el reequilibrio de la barrera mecánica de la piel; la hidratación cutánea, particularmente la hidratación cutánea del estrato córneo; y la prevención y el tratamiento del envejecimiento cutáneo, particularmente la prevención y el tratamiento del fotoenvejecimiento cutáneo.

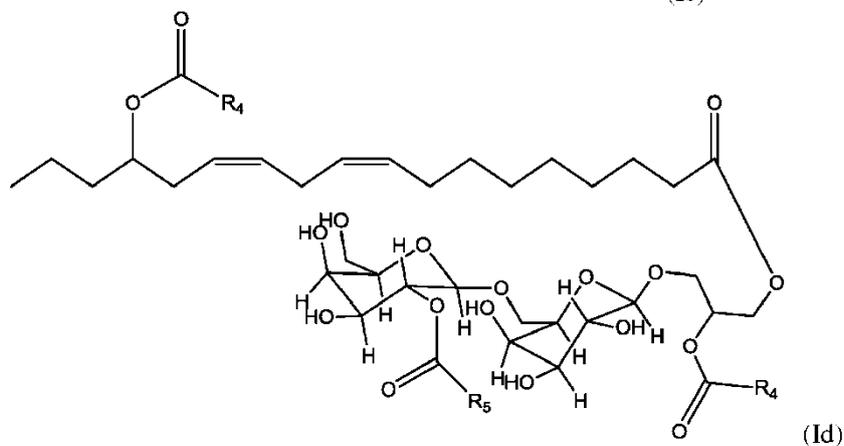
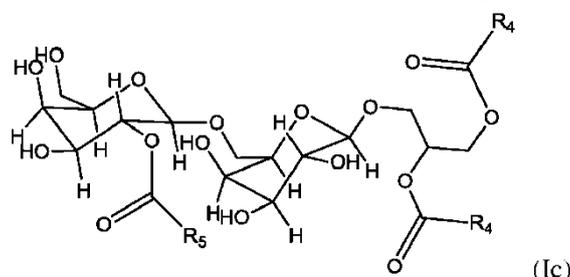
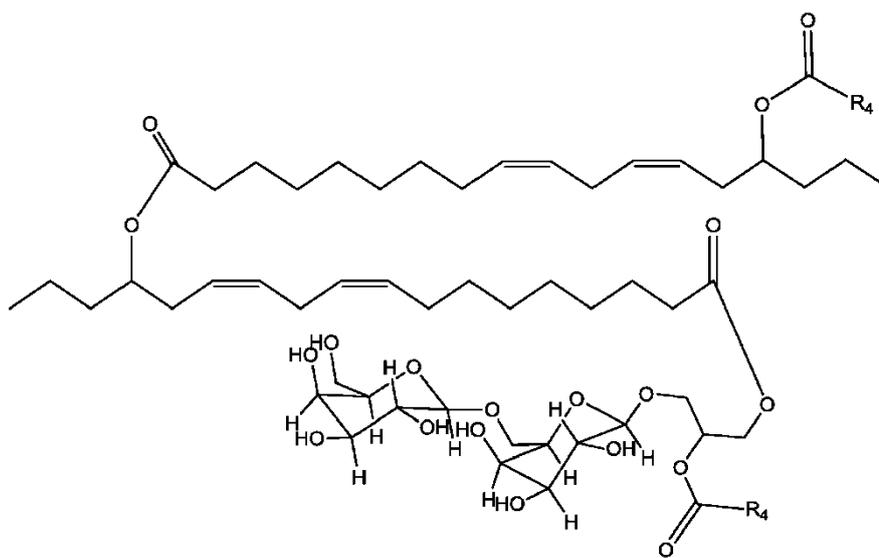
La presente invención se refiere asimismo a la utilización de un galactolípido de fórmula (I), para la cicatrización, preferentemente de la piel; la reparación, el refuerzo y el reequilibrio de la barrera cutánea incluyendo el refuerzo y el reequilibrio de la barrera mecánica de la piel; la hidratación cutánea, particularmente la hidratación cutánea del estrato córneo; y la prevención y el tratamiento del envejecimiento cutáneo, particularmente la prevención y el tratamiento del fotoenvejecimiento cutáneo.

La presente invención se refiere también a un procedimiento de cicatrización, preferentemente de la piel; de reparación, de refuerzo y de reequilibrio de la barrera cutánea incluyendo el refuerzo y el reequilibrio de la barrera mecánica de la piel; la hidratación cutánea, particularmente la hidratación cutánea del estrato córneo; o de prevención o de tratamiento del envejecimiento cutáneo, particularmente de prevención o de tratamiento del fotoenvejecimiento cutáneo, que comprende la administración a una persona que lo necesite de una cantidad eficaz de un galactolípido de fórmula (I).

El galactolípido según la invención podrá ser en particular un galactolípido de fórmula (I') tal como se define a continuación.

El galactolípido según la invención podrá también ser particularmente un galactolípido según una de las fórmulas (Ia) a (Id) siguientes:





5 para las cuales R_4 y R_5 son tales como se han definido anteriormente y a continuación.

La fórmula (Ia) corresponde a unos DGDG monoestéridos.

La fórmula (Ib) corresponde a unos DGDG diestéridos.

La fórmula (Ic) corresponde a unos acilDGDG.

10 La fórmula (Id) corresponde a unos acilDGDG monoestéridos.

Los grupos $-CO-R_4$ y $-CO-R_5$ corresponden por lo tanto a unos grupos procedentes de ácidos grasos de fórmulas respectivas R_4-COOH y R_5-COOH .

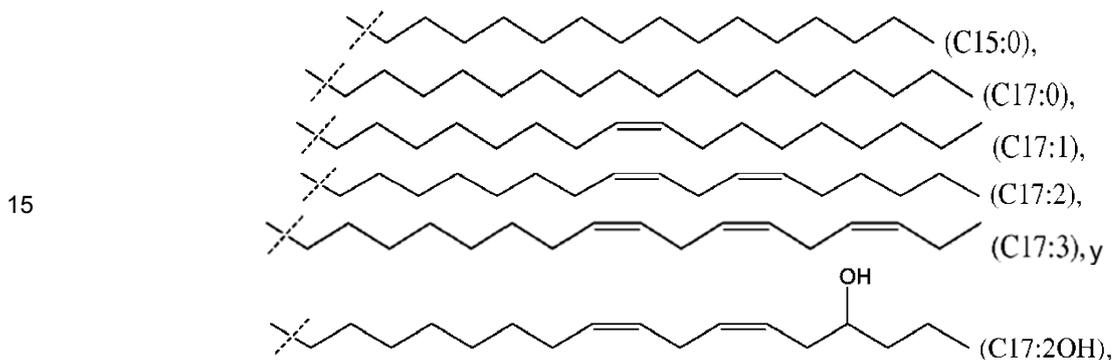
15 R_4 y R_5 , idénticos o diferentes, representan una cadena hidrocarbonada lineal o ramificada, preferentemente lineal, saturada o insaturada, que comprende de 9 a 25, en particular de 11 a 21, particularmente de 13 a 19, más particularmente de 15 a 17, aún más particularmente de 15 o 17 átomos de carbono, eventualmente sustituida por un grupo OH, y en particular no sustituida.

20 Ventajosamente, R_4 y R_5 , idénticos o diferentes, representan, una cadena hidrocarbonada lineal o ramificada, preferentemente lineal, saturada o que comprende de 1 a 5, en particular de 1 a 3 dobles enlaces $C=C$, que comprende de 9 a 25, en particular de 11 a 21, particularmente de 13 a 19, más particularmente de 15 a 17, aún

más particularmente de 15 o 17 átomos de carbono, eventualmente sustituida por un grupo OH, y en particular no sustituida.

5 Preferentemente, R_4 y R_5 , idénticos o diferentes, representan una cadena hidrocarbonada lineal, saturada o que comprende de 1 a 3 (particularmente 1 o 2) dobles enlaces C=C, que comprende de 13 a 21, en particular de 13 a 19, particularmente de 15 a 17, más particularmente de 15 o 17, átomos de carbono, eventualmente sustituida por un grupo OH, y en particular no sustituida.

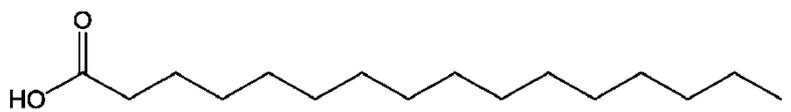
10 Más particularmente, los grupos R_4 y R_5 , idénticos o diferentes, se podrán seleccionar de entre los grupos siguientes:



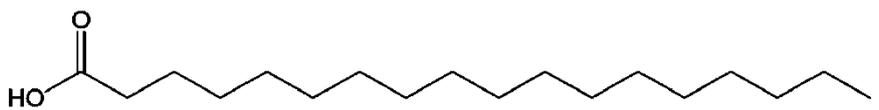
20 y más particularmente de entre los grupos (C15:0), (C17:0), (C17:1), (C17:2), y (C17:3), y aún más particularmente de entre los grupos (C15:0), (C17:0), (C17:1) y (C17:2).

Estos grupos particulares corresponden a las cadenas laterales de los ácidos grasos siguientes:

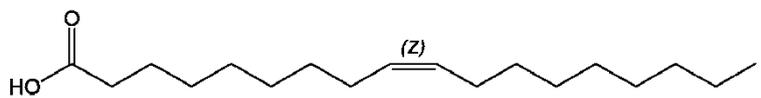
25 **Ácido palmítico (C16:0):**



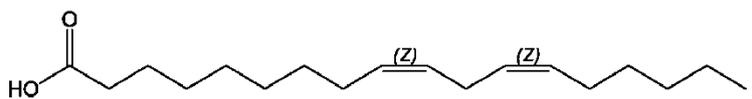
Ácido esteárico (C18:0):



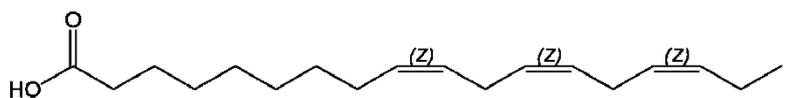
Ácido oleico (C18:1):

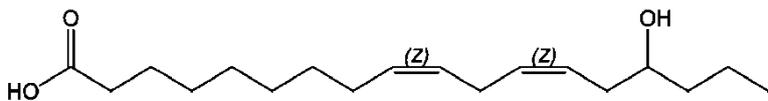


Ácido linoleico (C18:2):



40 **Ácido linolénico (C18:3):**



Ácido avenólico (C18:2OH):

5 De manera ventajosa, R₄ y R₅ son idénticos.

El galactolípido según la invención se podrá seleccionar particularmente de entre los galactolípidos según las fórmulas (Ia) a (Id) anteriores con R₄ y R₅ idénticos y seleccionados de entre los grupos (C15:0), (C17:0), (C17:1), (C17:2), (C17:3) y (C17:2OH), más particularmente de entre los grupos (C15:0), (C17:0), (C17:1), (C17:2) y (C17:3); y aún más particularmente de entre los grupos (C15:0), (C17:0), (C17:1) y (C17:2). Podrá tratarse particularmente de un galactolípido de fórmula (Ia) con R₄ y R₅ idénticos y seleccionados de entre los grupos (C15:0), (C17:0), (C17:1) y (C17:2), o de fórmula (Ib), (Ic) o (Id) con R₄ = R₅ = (C17:2).

El galactolípido según la invención está destinado más particularmente a ser aplicado de manera tópica, particularmente sobre la piel, y más particularmente sobre una piel frágil.

Los galactolípidos según la presente invención pueden ser extraídos de los granos de avena o de los granos de avena malteada.

El malteado es una operación bien conocida por el experto en la materia, que consiste en reproducir, de manera industrial, la germinación de un cereal (en este caso la avena). Su principio consiste en crear las condiciones ideales de desarrollo del grano (calor y humedad) con el fin de que produzca ciertas enzimas (citasas, amilasas, fosfatasa, peptidasas). Estas enzimas permitirán la transformación del almidón en azúcares simples (en particular en glucosa) y que el embrión penetre a través de la barrera hemocelulósica para acceder así a sus reservas.

El malteado se desarrolla en 4 etapas:

- una fase de inmersión durante la cual el grano se humidifica,
- una fase de germinación durante la cual el grano germinará,
- una fase de tostado-secado durante la cual el grano germinado se seca con aire caliente, y
- una fase de desgerminación que permite eliminar las raicillas.

Los extractos de granos de avena o de avena malteada pueden ser obtenidos por prensado de los granos para obtener un aceite o bien por extracción con un disolvente orgánico (por ejemplo alcohol de C₁ a C₄, acetona, CO₂ supercrítico con un codisolvente de tipo etanol o acetona, etc.), más particularmente con acetona. El disolvente de extracción se elimina preferentemente parcial o totalmente después de la extracción.

Los galactolípidos según la invención pueden ser separados después por destilación molecular, por cromatografía sobre gel de sílice injertada o no, por cromatografía de reparto centrífugo, por cromatografía de contraflujo, por separación líquido/líquido o cualquier otro medio de purificación bien conocido por el experto en la materia. Las cromatografías pueden utilizar un fluido supercrítico o un disolvente orgánico (que puede estar en forma de una mezcla de disolventes orgánicos).

La presente invención tiene también por objeto una composición dermocosmética o dermatológica, que comprende por lo menos un galactolípido de fórmula (I) tal como se ha definido anteriormente y por lo menos un excipiente fisiológicamente aceptable, para su utilización en la cicatrización, preferentemente de la piel; la reparación, el refuerzo y el reequilibrio de la barrera cutánea incluyendo el refuerzo y el reequilibrio de la barrera mecánica de la piel; la hidratación cutánea, particularmente la hidratación cutánea del estrato córneo; y la prevención y el tratamiento des signes del envejecimiento cutáneo, particularmente la prevención y el tratamiento del fotoenvejecimiento cutáneo.

En la presente invención, se entiende designar por "fisiológicamente aceptable" lo que es útil en la preparación de una composición dermocosmética o dermatológica, que es generalmente seguro, no tóxico ni biológicamente ni de otra manera no deseable y que es aceptable para una utilización en el animal, incluyendo el hombre, particularmente por vía tópica, en particular sobre la piel.

La presente invención se refiere asimismo a la utilización de una composición dermocosmética o dermatológica, tal como se ha definido anteriormente, para la cicatrización, preferentemente de la piel, y la prevención y el tratamiento del envejecimiento cutáneo.

La presente invención se refiere también a un procedimiento de cicatrización, en particular de la piel; la reparación, el refuerzo y el reequilibrio de la barrera cutánea incluyendo el refuerzo y el reequilibrio de la barrera

mecánica de la piel; la hidratación cutánea, particularmente la hidratación cutánea del estrato córneo; o de prevención o de tratamiento del envejecimiento cutáneo, particularmente la prevención y el tratamiento del fotoenvejecimiento cutáneo; que comprende la administración a una persona que lo necesite de una cantidad eficaz de una composición dermocosmética o dermatológica, tal como se ha definido anteriormente.

5 Esta composición dermocosmética o dermatológica está destinada más particularmente a ser aplicada de manera tópica, particularmente sobre la piel, y más particularmente sobre una piel frágil.

10 Las composiciones según la invención podrán presentarse en todas las formas habitualmente conocidas para una administración tópica, es decir en particular las lociones, las espumas, los geles, las dispersiones, las emulsiones, los champús, los espráis, los sueros, las máscaras, los leches corporales o las cremas, con unos excipientes que permiten en particular una penetración cutánea con el fin de mejorar las propiedades y la accesibilidad del principio activo. Ventajosamente, se tratará de una crema.

15 Estas composiciones contienen generalmente, además del o de los galactolípidos según la presente invención, un medio fisiológicamente aceptable, en general a base de agua o de disolvente, por ejemplo unos alcoholes, unos éteres o unos glicoles. Pueden contener también unos agentes tensioactivos, unos agentes complejantes, unos conservantes, unos agentes estabilizantes, unos emulsionantes, unos espesantes, unos gelificantes, unos humectantes, unos emolientes, unos oligoelementos, unos aceites esenciales, unos perfumes, unos colorantes, unos agentes matificantes, unos filtros químicos o minerales, unos agentes hidratantes, unas aguas termales, etc.

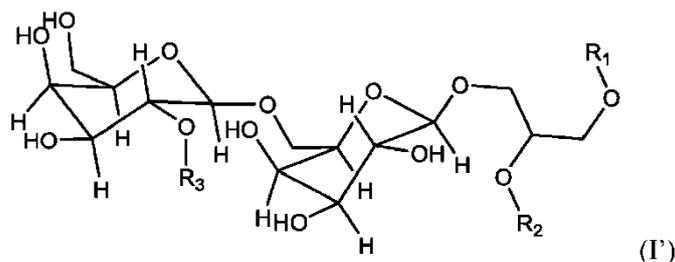
20 Estas composiciones pueden contener además otros principios activos que conducen a un efecto complementario o eventualmente sinérgico.

25 Ventajosamente, las composiciones según la presente invención comprenderán del 0,005 al 10% en peso, preferentemente del 0,01% al 1% en peso, del por lo menos un galactolípido de fórmula (I) con respecto al peso total de la composición.

30 Preferentemente, las composiciones según la presente invención comprenderán una mezcla de galactolípidos de fórmula (I).

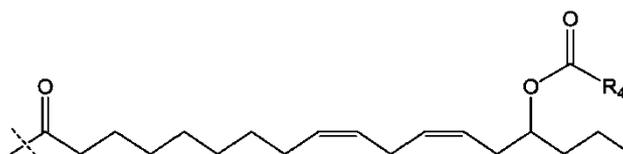
35 Estos galactolípidos según la invención podrán ser introducidos en una forma purificada o en forma de extracto. En el caso de un extracto, se tratará más particularmente de un extracto de granos de avena o de granos de avena malteada que se puede obtener en particular como se ha descrito anteriormente.

La presente invención tiene también por objeto un galactolípido de fórmula (I') siguiente:

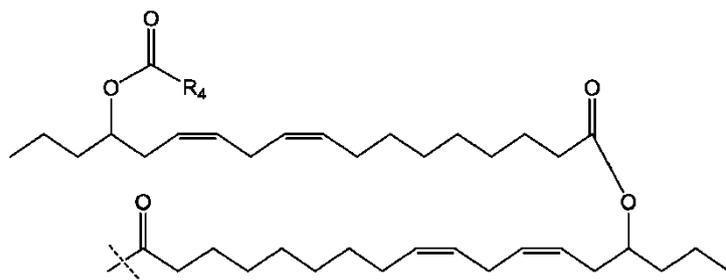


40 en la que:

- R₁ y R₂, idénticos o diferentes, representan un grupo -CO-R₄,



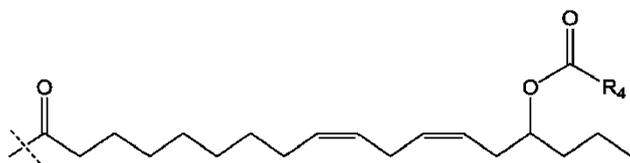
45 o



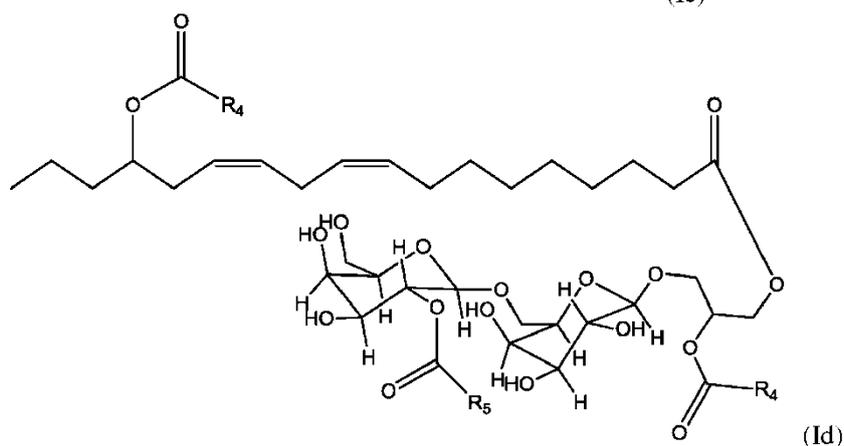
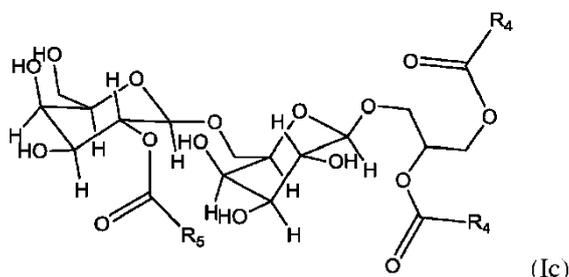
- R₃ representa un grupo -CO-R₅, y

5 - R₄ y R₅, idénticos o diferentes, representan una cadena hidrocarbonada lineal o ramificada, preferentemente lineal, saturada o insaturada, que comprende de 9 a 25, en particular de 11 a 21, particularmente de 13 a 19, más particularmente de 15 a 17, átomos de carbono, eventualmente sustituida por un grupo OH.

10 Según un modo de realización particular, R₁ y R₂, idénticos o diferentes, representan un grupo -CO-R₄ o



15 El galactolípido de fórmula (I') podrá ser más particularmente un galactolípido según una de las fórmulas (Ic) y (Id) siguientes:



20 para las cuales R₄ y R₅ son tales como los definidos anteriormente y a continuación.

R₄ y R₅, idénticos o diferentes, representan una cadena hidrocarbonada lineal o ramificada, preferentemente lineal, saturada o insaturada, que comprende de 9 a 25, en particular de 11 a 21, particularmente de 13 a 19, más particularmente de 15 a 17, aún más particularmente de 15 o 17 átomos de carbono, eventualmente sustituida por un grupo OH, y en particular no sustituida.

25 Ventajosamente, R₄ y R₅, idénticos o diferentes, representan una cadena hidrocarbonada lineal o ramificada, preferentemente lineal, saturada o que comprende de 1 a 5, en particular de 1 a 3 dobles enlaces C=C, que

comprende de 9 a 25, en particular de 11 a 21, particularmente de 13 a 19, más particularmente de 15 a 17, aún más particularmente de 15 o 17 átomos de carbono, eventualmente sustituida por un grupo OH, y en particular no sustituida.

5 Preferentemente, R₄ y R₅, idénticos o diferentes, representan una cadena hidrocarbonada lineal, saturada o que comprende de 1 a 3 (particularmente 1 o 2) dobles enlaces C=C, que comprende de 13 a 21, en particular de 13 a 19, particularmente de 15 a 17, más particularmente de 15 o 17, átomos de carbono, eventualmente sustituida por un grupo OH, y en particular no sustituida.

10 Más particularmente, los grupos R₄ y R₅, idénticos o diferentes, se podrán seleccionar de entre los grupos (C15:0), (C17:0), (C17:1), (C17:2), (C17:3) y (C17:2OH), más particularmente de entre los grupos (C15:0), (C17:0), (C17:1), (C17:2) y (C17:3); y aún más particularmente de entre los grupos (C15:0), (C17:0), (C17:1) y (C17:2).

15 De manera ventajosa, R₄ y R₅ son idénticos.

El galactolípido según la invención se podrá seleccionar particularmente de entre los galactolípidos según las fórmulas (Ic) y (Id) anteriores con R₄ y R₅ idénticos y seleccionados de entre los grupos (C15:0), (C17:0), (C17:1), (C17:2), (C17:3) y (C17:2OH), más particularmente de entre los grupos (C15:0), (C17:0), (C17:1), (C17:2) y (C17:3); y aún más particularmente de entre los grupos (C15:0), (C17:0), (C17:1) y (C17:2), tal como (C17:2).

Estos galactolípidos de fórmula (I') se pueden obtener como se ha descrito anteriormente para los galactolípidos de fórmula (I).

25 La presente invención tiene también por objeto un galactolípido de fórmula (I') para su utilización como medicamento.

La presente invención se refiere también a la utilización de un galactolípido de fórmula (I') para la preparación de una composición dermocosmética o dermatológica.

30 La presente invención tiene también por objeto una composición dermocosmética o dermatológica que comprende por lo menos un galactolípido de fórmula (I') tal como se ha definido anteriormente y por lo menos un excipiente fisiológicamente aceptable.

35 Dicha composición está destinada más particularmente a ser aplicada de manera tópica, particularmente sobre la piel, y más particularmente sobre una piel frágil.

Estas composiciones podrán presentarse en las formas habitualmente conocidas para una administración tópica, es decir en particular las lociones, las espumas, los geles, las dispersiones, las emulsiones, los champús, los espráis, los sueros, las mascarillas, las leches corporales o las cremas, con unos excipientes que permiten en particular una penetración cutánea con el fin de mejorar las propiedades y la accesibilidad del principio activo. Ventajosamente, se tratará de una crema.

45 Estas composiciones contienen, generalmente, además del o de los galactolípidos según la presente invención, un medio fisiológicamente aceptable, en general a base de agua o de disolvente, por ejemplo unos alcoholes, unos éteres o unos glicoles. Pueden contener también unos agentes tensioactivos, unos agentes complejantes, unos conservantes, unos agentes estabilizantes, unos emulsionantes, unos espesantes, unos gelificantes, unos humectantes, unos emolientes, unos oligoelementos, unos aceites esenciales, unos perfumes, unos colorantes, unos agentes matificantes, unos filtros químicos o minerales, unos agentes hidratantes o unas aguas termales, etc.

Estas composiciones pueden contener además otros principios activos que conducen a un efecto complementario o eventualmente sinérgico, y en particular otros galactolípidos.

55 Ventajosamente, las composiciones según la presente invención comprenderán del 0,005 al 10% en peso, preferentemente del 0,01% al 1% en peso, del por lo menos un galactolípido de fórmula (I') con respecto al peso total de la composición.

60 Preferentemente, las composiciones según la presente invención comprenderán una mezcla de galactolípidos de fórmula (I').

Estos galactolípidos según la invención podrán ser introducidos en la composición en una forma purificada o en forma de extracto. En el caso de un extracto, se tratará más particularmente de un extracto de granos de avena o de granos de avena malteada que se pueden obtener en particular como se ha descrito anteriormente.

65 La presente invención se entenderá mejor a la luz de los ejemplos no limitativos siguientes.

Figuras

5 La **Figura 1** presenta los resultados obtenidos después de 48 h de incubación en términos de incorporación de BrdU (DO) en el marco de controles (“control min” y “control max”) o de la adición de diferentes extractos (fracciones 3, 4 y 7) sobre unos queratinocitos normales humanos (experimento representativo de 3 experimentos independientes).

10 La **Figura 2** presenta los resultados obtenidos después de 48 h de incubación en términos de incorporación de BrdU (DO) en el marco de controles (“control min” y “control max”) o de la adición de diferentes extractos (fracciones 3, 4 y 7) sobre unos fibroblastos normales humanos (experimento representativo de 3 experimentos independientes).

15 La **Figura 3** presenta el principio de medición de la evolución de las tensiones en el modelo *in vitro* de SC aislado deshidratado.

20 La **Figura 4** presenta los resultados obtenidos sobre la protección de la barrera mecánica del estrato córneo humano procedente de dos donantes (series 1 y 2) sometidos a una deshidratación sin tratamiento o después de un tratamiento con una formulación que contiene la fracción 4 o que no la contiene (placebo).

Ejemplos

Ejemplo 1: Preparación de un aceite de avena malteada

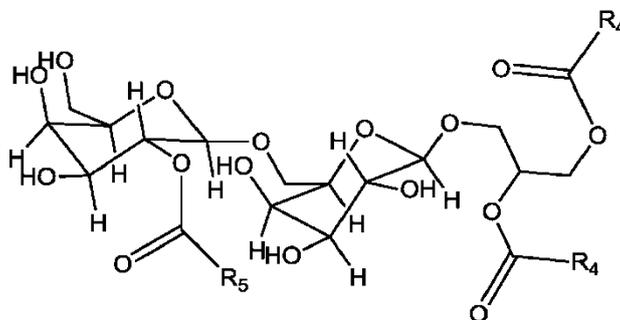
25 Se extrae 1 kg de granos de avena malteada triturados por 7 l de acetona. Después de la separación sólido/líquido, la acetona se elimina por evaporación. El extracto se obtiene en forma de un aceite ligeramente turbio. Este aceite contiene, después de la separación sobre columna de sílice, un 13% de lípidos polares incluyendo un 5% de DGDG y un 4,5% de DGDG estóolidos.

30 Ejemplo 2: Preparación de una fracción enriquecida en acil-DGDG y acil-DGDG-estóolidos

35 Se procede a una extracción líquido/líquido de 500 g de aceite de avena malteada en una mezcla heptano (2 l)/etanol (2 l)/agua (0,2 l). Se lava varias veces la fase superior que contiene los triglicéridos y la fase inferior que contiene los lípidos polares. Se pone en seco la fase inferior y se deposita sobre una columna de sílice y después se eluye con cloroformo, después con una mezcla cloroformo/metanol del 10% al 50% y finalmente una mezcla metanol/acetona 50:50. Después de un análisis por cromatografía sobre capa delgada (CCM), se reagrupan las fracciones de perfil equivalente. Se han obtenido 10 fracciones después de la reagrupación. La fracción 3 eluida por la mezcla CHCl₃/MeOH 90:10 contiene mayoritariamente los acil-DGDG y acil-DGDG-estóolidos.

40 Los acilDGDG y acilDGDG estóolidos han sido purificados y analizados por cromatografía de reparto centrífugo. Los datos analíticos de las moléculas puras se presentan a continuación.

45 Molécula acilDGDG:



R₄ = R₅ = C17:2

Fórmula bruta: C₆₉H₁₁₈O₁₆ (C18:2)₂/Glicerol/(Galactosa)₂ C18:2

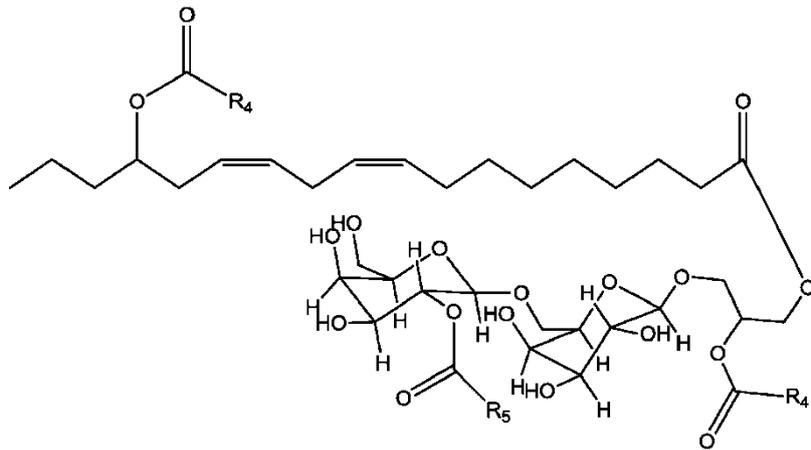
50 Ion molecular de m/z = 1225.5 [1202.5+Na]⁺

Picos principales del espectro RMN ¹³C:

Grupo	n°	¹³ C (ppm)
Galactosa 1	1	103,5

Grupo	n°	13C (ppm)
	2	73,3
	3	71,3
	4	68,7
	5	73,2
	6	67,1
	1	96,9
Galactosa 2	2	71,2
	3	68,1
	4	70,3
	5	69,8
	6	62,6
	Glicerol	1
2		69,9
3		67,9
	C=O R1	173,7
	C=O R2	173,4
	C=O R3	174,2

Molécula acilDGDG estóidos:



5

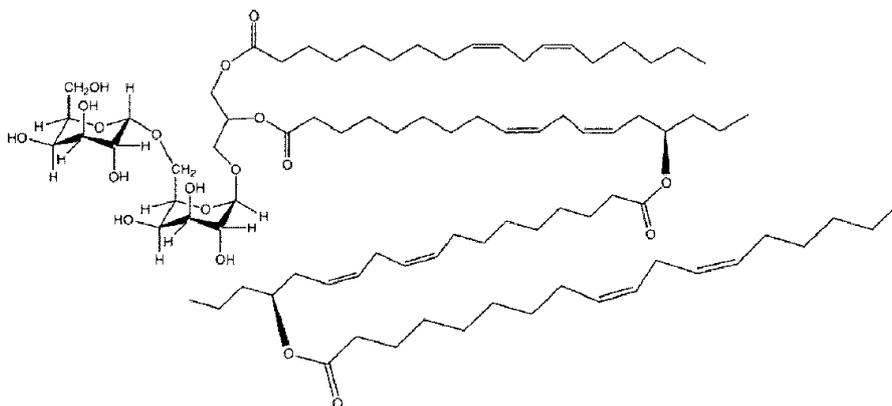
R₄ = R₅ = C17:2
 Fórmula bruta: C₈₇H₁₅₀O₁₈ (C18:2)₃/Glicerol/(Galactosa)₂ C18:2
 Ion molecular de m/z = 1506.0 [1483.0+Na]⁺

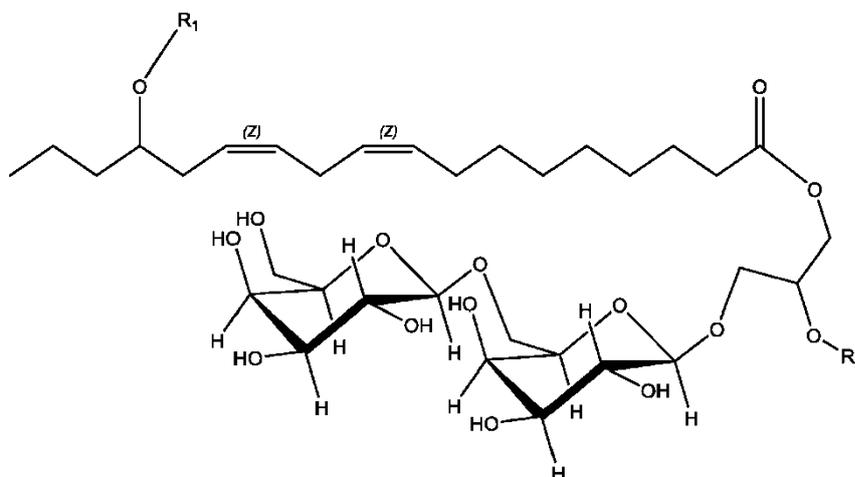
10 **Ejemplo 3: Preparación de una fracción enriquecida en DGDG-estóidos**

Se procede de la misma manera que en el ejemplo 2. La fracción 4 eluida por la mezcla CHCl₃/MeOH 90:10 contiene mayoritariamente los DGDG monoestóidos y DGDG diestóidos, particularmente de la fórmula (1) o (2) siguiente.

15

(1)



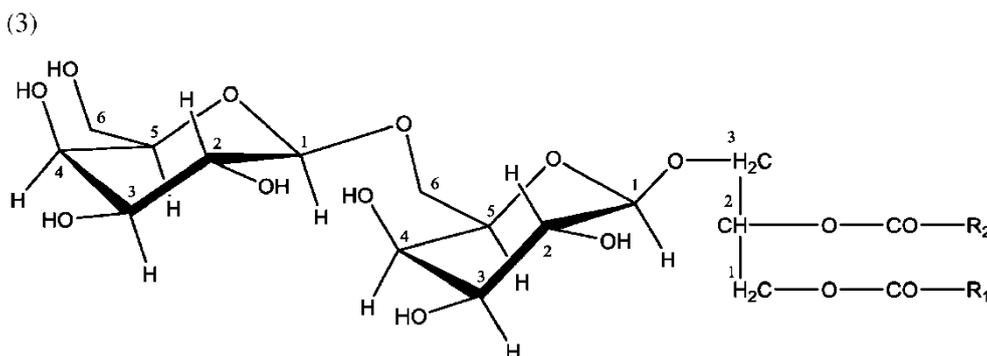


(2)

$R_1 = R_2 = C15:0, C17:0, C17:1$ o $C17:2$

5 **Ejemplo 4: Preparación de una fracción de DGDG**

Se procede de la misma manera que en el ejemplo 2. La fracción 7 eluida con la mezcla $CHCl_3/MeOH$ 85:15 contiene en gran mayoría los DGDG del aceite de avena, particularmente de la fórmula (3) siguiente.



(3)

10

con $R_1 = R_2 = C15:0, C17:0, C17:1$ o $C17:2$

15 Evaluación farmacológica

Protocolo

Protocolo:

20 La proliferación celular se analiza mediante la técnica de incorporación de un nucleótido, la 5-bromo-2'-desoxiuridina (BrdU), análoga de la timidina, en el ADN de las células en fase S, a 37°C. El ensayo utilizado se realiza en placa de 96 pocillos.

25 El cultivo celular se ha realizado a partir de queratinocitos normales humanos (KNH) o de fibroblastos normales humanos (FNH) procedentes de explantes de piel (abdominoplastia o disminución mamaria). Los KNH se cultivaron en condición estéril con un medio Keratinocyte-Serum Free Médium (K-SFM) (Gibco® - Life Technologies™) complementado con Bovine Pituitary Extract (BPE) y Epidermal Growth Factor Human recombinant (EGF) (Gibco®- Life Technologies™). Se cultivaron los FNH en condición estéril con un medio DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) complementado con un 10% de suero de ternera fetal (SVF) (Gibco®- Life Technologies™). Las células son en primer lugar privadas de complementos o suero durante 24 h para detener el crecimiento celular antes de incubarlas en presencia de las moléculas a evaluar en KSFM sin complemento (para los KNH) o en el DMEM con un 3% de SVF (para los FNH) durante 48 h a 37°C, en una atmósfera al 5% de CO_2 .

35 La incorporación del BrdU, proporcional al porcentaje de proliferación celular, es evaluada por un sistema de anticuerpo anti-BrdU acoplado con peroxidasa. La adición de un sustrato de la peroxidasa desarrolla una

reacción coloreada (kit de proliferación celular Biotrak Elisa System). La absorbancia correspondiente (DO) se mide a 450 nm. Este dato es por lo tanto proporcional al porcentaje de proliferación celular.

Análisis de los resultados:

5

Los resultados se expresan:

- en DO (proporcional a la incorporación de BrdU y por lo tanto al porcentaje de proliferación celular),
- en porcentaje de estimulación con respecto al control: $((DO \text{ tratado}/DO \text{ control}) \times 100) - 100$.

10

Análisis estadísticos:

Se realizaron unos análisis estadísticos mediante el ensayo de Dunnett sobre los valores brutos de la proliferación con respecto al control sin complemento.

15

Este ensayo da entonces los valores de “p value” que caracterizan la significación de los resultados obtenidos para las diferentes condiciones. El grado de significación se establece de la siguiente manera:

20

- significativo para $p < 0,05$ (*)
- muy significativo para $p < 0,01$ (**)
- altamente significativo para $p < 0.001$ (***)
- no significativo para $p > 0,05$

Efecto sobre la proliferación de los queratinocitos

25

Los resultados obtenidos se presentan en la Figura 1.

El control “control min” es el control no tratado y sin complemento EGF y BPE. Estas células proliferan poco.

30

El control “control max” se ha incubado con los complementos EGF (0,2 ng/ml) y BPE (25 µg/ml). Esta condición es un control positivo de inducción de la proliferación de los queratinocitos. Induce la proliferación de los queratinocitos de manera estadísticamente significativa.

35

La fracción 7 que contiene los DGDG del aceite de avena malteada no tiene efecto sobre la proliferación de los queratinocitos a las dos concentraciones evaluadas (1 y 5 µg/ml) (resultados mostrados a 5 µg/ml).

Las fracciones 3 y 4 (acilDGDG, acilDGDG-estóridos y DGDG mono- y di-estóridos) a 5 µg/ml han inducido la proliferación de los queratinocitos de manera reproducible y estadísticamente significativa.

40

Induciendo la proliferación de los queratinocitos, los galactolípidos de tipo DGDG según la invención favorecen la reparación y la cicatrización cutánea, y particularmente la reparación epidérmica. Así, favorecen también el refuerzo y el reequilibrio de la barrera cutánea.

Efecto sobre la proliferación de los fibroblastos

45

Los resultados obtenidos se presentan en la Figura 2.

El control “control min” es el control no tratado incubado con un 3% de SVF. Estas células proliferan poco.

50

El control “control max” se ha incubado con 10% de SVF. Esta condición es un control positivo de inducción de la proliferación de los fibroblastos. Ha inducido la proliferación de los fibroblastos de manera estadísticamente significativa.

55

Los DGDG (fracción 7) y los DGDG mono- y di-estóridos (fracción 4) no han inducido la proliferación de los fibroblastos. Por el contrario, la fracción 3 (acilDGDG y acilDGDG-estóridos) ha inducido la proliferación de los fibroblastos de manera estadísticamente significativa. Induciendo la proliferación de los fibroblastos, los galactolípidos de tipo acilDGDG favorecen la cicatrización cutánea, particularmente la reparación dérmica.

60

Induciendo la proliferación de los fibroblastos, los galactolípidos de tipo acilDGDG favorecen también la prevención y el tratamiento del envejecimiento cutáneo, y particularmente la prevención y el tratamiento del fotoenvejecimiento cutáneo.

Efecto sobre la barrera mecánica y sobre la protección de la deshidratación

Protocolo

5 Se ha aislado el estrato córneo (SC) procedente de explantes de piel humana. El SC se hidrata mediante inmersión en agua y después se coloca sobre un portaobjetos de vidrio revestido de una hoja de oro reflectora. El SC hidratado y adherente al portaobjetos se coloca en una atmósfera a un porcentaje de higrometría del 10% durante varias horas. El SC sufre así una deshidratación progresiva, durante la cual se realizan unas mediciones de curvatura del portaobjeto cada 5 minutos con la ayuda de un láser reflejado por la hoja de oro sobre un sensor (véase la Figura 3). La curvatura del conjunto SC + portaobjetos de vidrio se relaciona directamente con la tensión y la hidratación del SC, es decir con el estado de la barrera mecánica del estrato córneo en su conjunto.

15 Después de esta primera cinética de deshidratación control, el conjunto SC + portaobjetos se rehidrata en una cámara húmeda durante 2 horas para un retorno a la curvatura nula inicial. El SC hidratado se trata (tratamiento sólido o líquido) y después se inicia una segunda cinética de deshidratación en las mismas condiciones. La evolución de la curvatura después del tratamiento se compara con la primera cinética sin tratamiento.

20 Un efecto emoliente o de protección a la deshidratación se traduce por un perfil diferente en el que la curvatura es más baja (en particular en el pico máximo de tensión - tensión máxima) con o sin relajación de la tensión del SC (diminución de la curvatura después de alcanzar el pico máximo para llegar a una tensión mínima).

Una evolución significativa de uno o varios de los parámetros (tensión máxima, tensión mínima, etc.) indica que se ha reforzado y reequilibrado la barrera mecánica del SC.

25 *Resultados*

Los resultados obtenidos sobre 2 donantes de *stratum corneum* se presentan en la figura 4 (serie 1 y 2). Se observa que la fracción del 4 al 0,05% tiene un efecto reproducible sobre la protección de la barrera mecánica del SC sometido a un estrés de deshidratación: en efecto, el pico máximo de tensión alcanzado disminuye claramente con respecto al control deshidratado sin tratamiento o con el tratamiento placebo, y este efecto protector se mantiene durante el tiempo de la deshidratación.

35 Disminuyendo el estado de tensión del SC, los galactolípidos de tipo DGDG según la invención favorecen el refuerzo y el reequilibrio de la barrera mecánica; así como el estado de hidratación de la piel, en particular el estado de hidratación del estrato córneo.

Referencias bibliográficas

40 Biniek *et al.* (2012). Solar UV radiation reduces the barrier function of human skin. PNAS 109(42):17111-6.

45 Doehlert *et al.* (2010), Polar lipids from oat kernels. Cereal Chemistry 87(5): 467-474. Hamberg *et al.* (1998), Isolation and structure of a new galactolipid in oat seeds. Lipids 33:355-363.

Levi *et al.* (1996), 15(R)-Hydroxylinoleic acid, an oxylipin from oat seeds. Phytochemistry 42:729-732.

50 Levi *et al.* (2010) (a) Drying stress and damage processes in human stratum corneum. Dauskardt. International Journal of Cosmetic Science 2010, 32, 276-293; (b) Application of substrate curvature method to differentiate drying stresses in topical coatings and human stratum corneum. Dauskardt. International Journal of Cosmetic Science 2010, 32, 294-298.

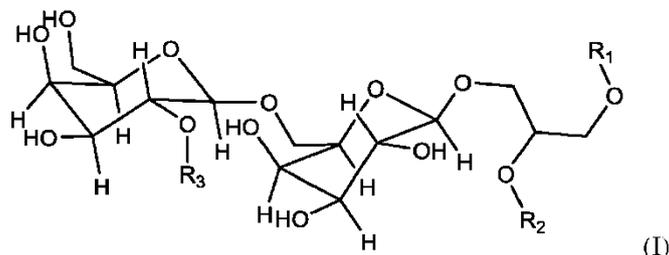
Moreau *et al.* (2008), The identification of Mono- Di-, Tri- and Tetragalactosyl-diacilglycerols and their natural estolides in Oat kernels. Lipids 43:533-548.

55 Ramos e Silva *et al.* (2013), Effects of age (neonates and elderly) on skin barrier function. Exp. Dermatol. 22(5):329-35. WO96/25142.

Vyumvuhore *et al.* (2015), The relationship between water loss, mechanical stress, and molecular structure of human stratum corneum ex vivo. J Biophotonics. 2015 8(3):217-25.

REIVINDICACIONES

1. Galactolípido de fórmula (I) siguiente:



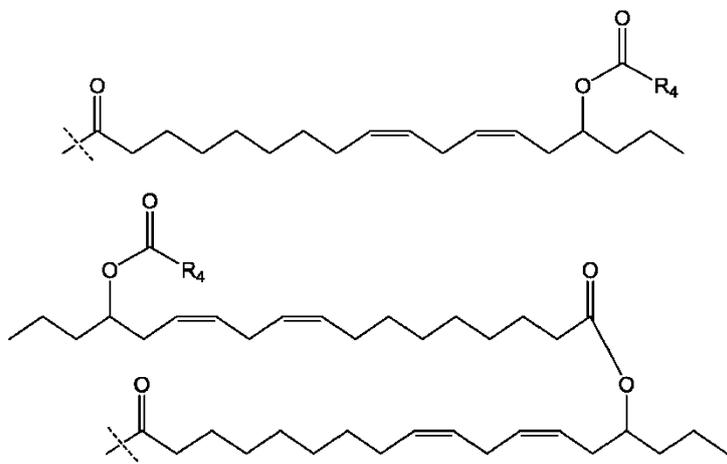
5

en la que:

- R₁ y R₂, idénticos o diferentes, representan un grupo -CO-R₄,

10

o



15

- R₃ representa:

- un grupo -CO-R₅ cuando R₁ y R₂ representan cada uno, independientemente uno del otro, un grupo -CO-R₄,
- un átomo de hidrógeno o un grupo -CO-R₅ cuando por lo menos R₁ o R₂ representa un grupo diferente de -CO-R₄, y

20

- R₄ y R₅, idénticos o diferentes, representan una cadena hidrocarbonada lineal o ramificada, preferentemente lineal, saturada o insaturada, que comprende de 9 a 25, en particular de 11 a 21, particularmente de 13 a 19, más particularmente de 15 a 17, átomos de carbono, eventualmente sustituida por un grupo OH,

25

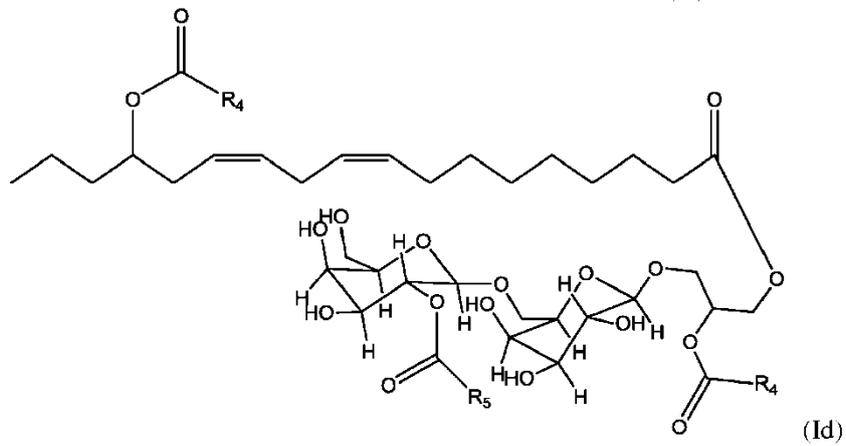
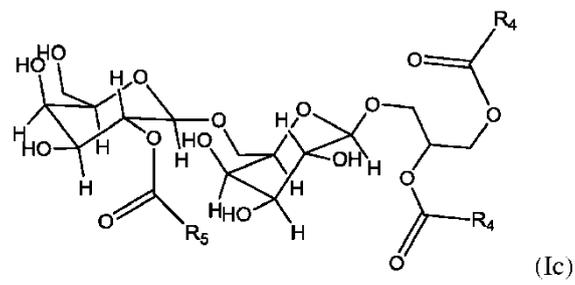
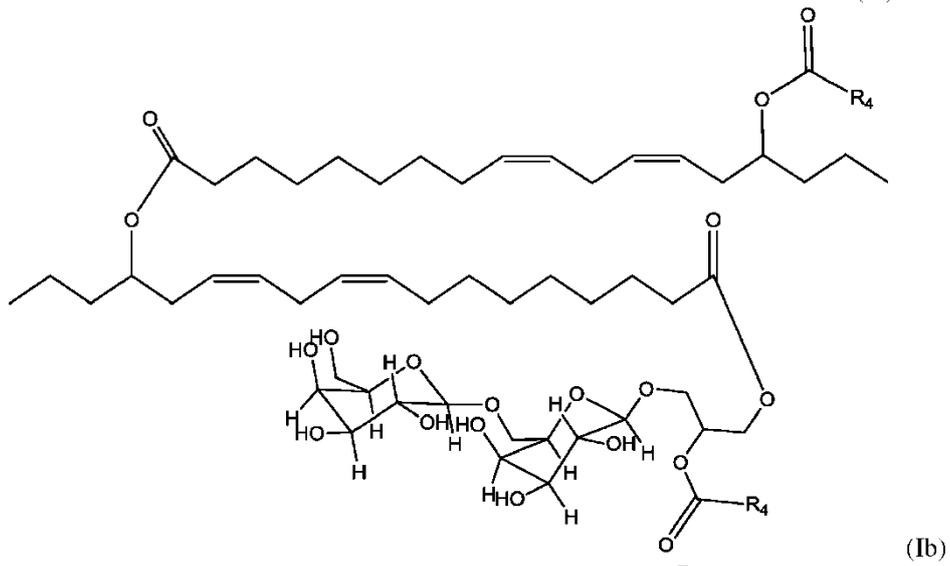
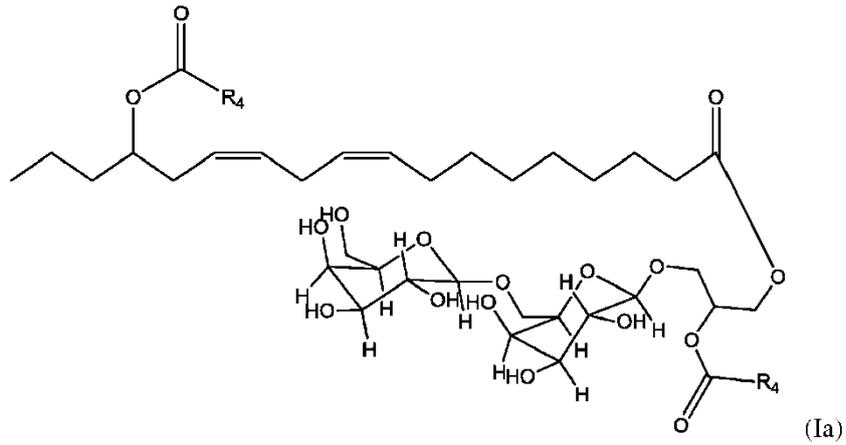
para su utilización en la cicatrización, preferentemente de la piel, y en la reparación, el refuerzo y el reequilibrio de la barrera cutánea.

30

2. Utilización de un galactolípido de fórmula (I) tal como la definida en la reivindicación 1, para la prevención y el tratamiento del envejecimiento cutáneo, en particular para la prevención y el tratamiento del fotoenvejecimiento cutáneo.

35

3. Galactolípido para su utilización según la reivindicación 1 o utilización según la reivindicación 2, caracterizado por que el galactolípido es un galactolípido según una de las fórmulas (Ia) a (Id) siguientes:

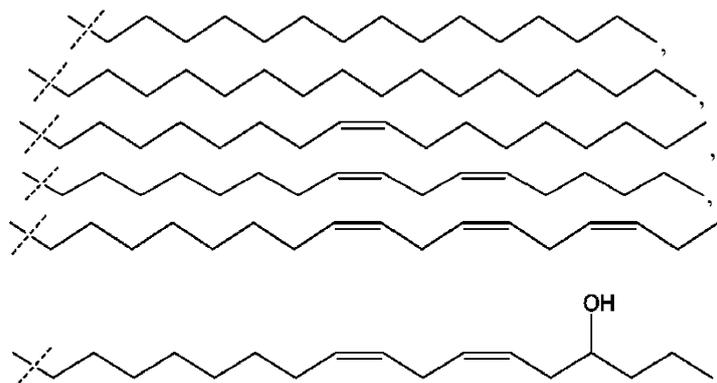


5

para las cuales R_4 y R_5 son tales como los definidos en la reivindicación 1.

4. Galactolípido para su utilización según la reivindicación 1 o 3 o utilización según la reivindicación 2 o 3, caracterizado por que R₄ y R₅, idénticos o diferentes, representan una cadena hidrocarbonada lineal, saturada o que comprende de 1 a 3 dobles enlaces C=C, que comprende de 13 a 21, en particular de 13 a 19, particularmente de 15 a 17, más particularmente de 15 o 17, átomos de carbono, eventualmente sustituida por un grupo OH.

5. Galactolípido para su utilización según la reivindicación 1 o 3 o utilización según la reivindicación 2 o 3, caracterizado por que R₄ y R₅, idénticos o diferentes, se seleccionan de entre los grupos siguientes:



6. Galactolípido para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 y 3 a 5 o utilización según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, caracterizado por que R₄ y R₅ son idénticos.

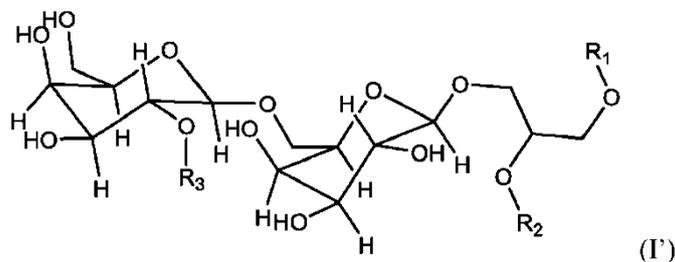
7. Composición dermatológica o dermocosmética que comprende por lo menos un galactolípido de fórmula (I) definido según cualquiera de las reivindicaciones 1 y 3 a 6 y por lo menos un excipiente fisiológicamente aceptable, para su utilización en la cicatrización, preferentemente de la piel, y en la reparación, el refuerzo y el reequilibrio de la barrera cutánea.

8. Utilización de una composición dermatológica o dermocosmética que comprende por lo menos un galactolípido de fórmula (I) definido según cualquiera de las reivindicaciones 1 y 3 a 6 y por lo menos un excipiente fisiológicamente aceptable, para la prevención y el tratamiento del envejecimiento cutáneo, en particular para la prevención y el tratamiento del fotoenvejecimiento cutáneo.

9. Composición para su utilización según la reivindicación 7 o utilización según la reivindicación 8, caracterizada por que la composición dermatológica o dermocosmética está destinada a una aplicación tópica sobre la piel.

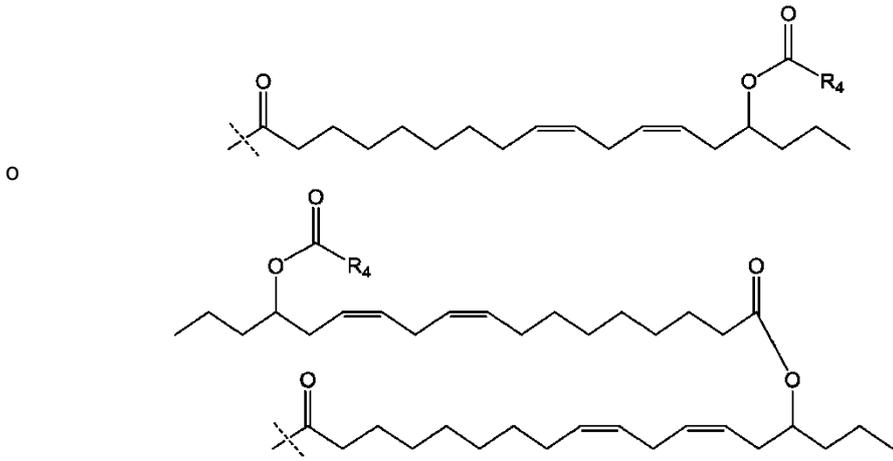
10. Composición para su utilización según la reivindicación 7 o 9 o utilización según la reivindicación 8 o 9, caracterizada por que la composición dermatológica o dermocosmética comprende del 0,005 al 10% en peso, preferentemente del 0,01% al 1% en peso, del por lo menos un galactolípido de fórmula (I) con respecto al peso total de la composición.

11. Galactolípido de fórmula (I) siguiente:



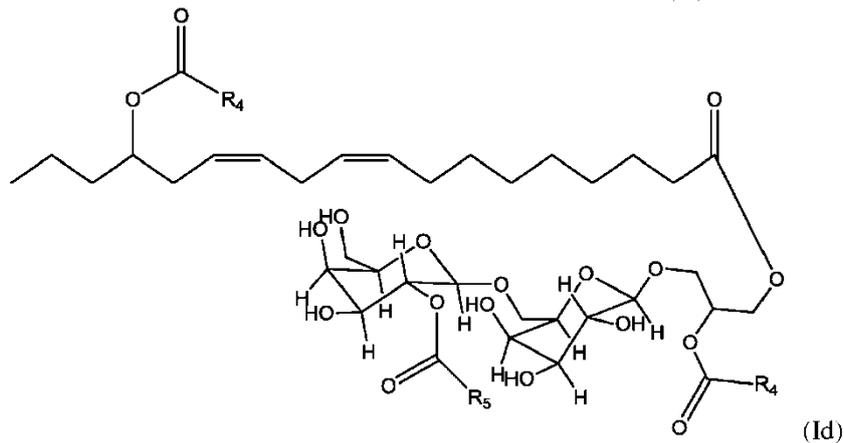
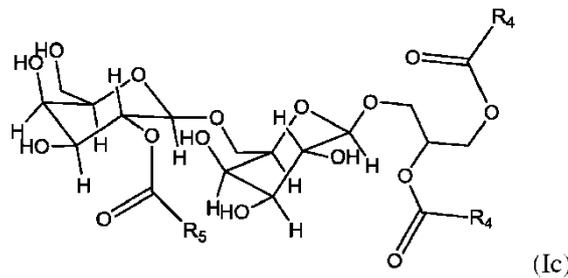
en la que:

- R₁ y R₂, idénticos o diferentes, representan un grupo -CO-R₄,



- 5
- R₃ representa un grupo -CO-R₅, y
 - R₄ y R₅, idénticos o diferentes, representan una cadena hidrocarbonada lineal o ramificada, preferentemente lineal, saturada o insaturada, que comprende de 9 a 25, en particular de 11 a 21, particularmente de 13 a 19, más particularmente de 15 a 17, átomos de carbono, eventualmente sustituida por un grupo OH.
- 10

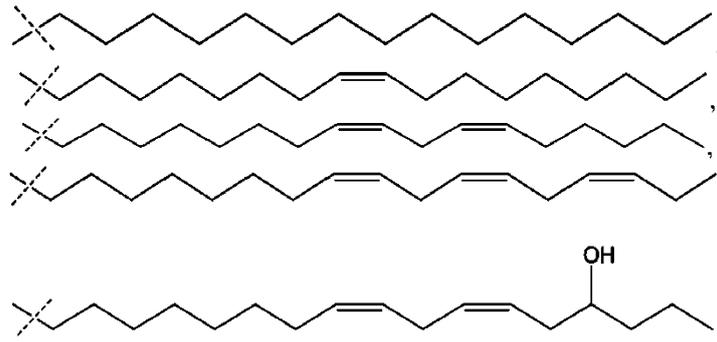
12. Galactolípido según la reivindicación 11, caracterizado por que se trata de un galactolípido según una de las fórmulas (Ic) y (Id) siguientes:



para las cuales R₄ y R₅ son tales como los definidos en la reivindicación 11.

- 20
13. Galactolípido según la reivindicación 11 o 12, caracterizado por que R₄ y R₅, idénticos o diferentes, representan una cadena hidrocarbonada lineal, saturada o que comprende de 1 a 3 dobles enlaces C=C, que comprende de 13 a 21, en particular de 13 a 19, particularmente de 15 a 17, más particularmente de 15 o 17, átomos de carbono, eventualmente sustituida por un grupo OH.
- 25
14. Galactolípido según cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, caracterizado por que R₄ y R₅, idénticos o diferentes, se seleccionan de entre los grupos siguientes:

5 y



15. Galactolípido según cualquiera de las reivindicaciones 11 a 14, caracterizado por que R_4 y R_5 son idénticos.
- 10 16. Galactolípido según cualquiera de las reivindicaciones 11 a 15 para su utilización como medicamento.
17. Composición dermatológica o dermocosmética que comprende por lo menos un galactolípido según cualquiera de las reivindicaciones 11 a 15 y por lo menos un excipiente fisiológicamente aceptable.

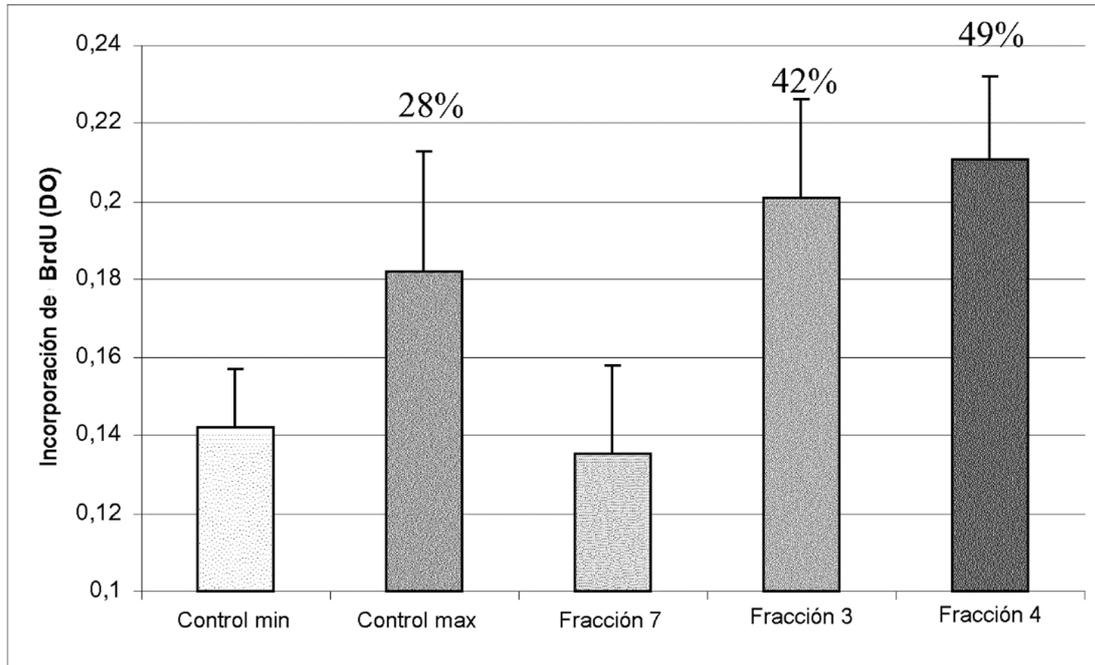


Figura 1

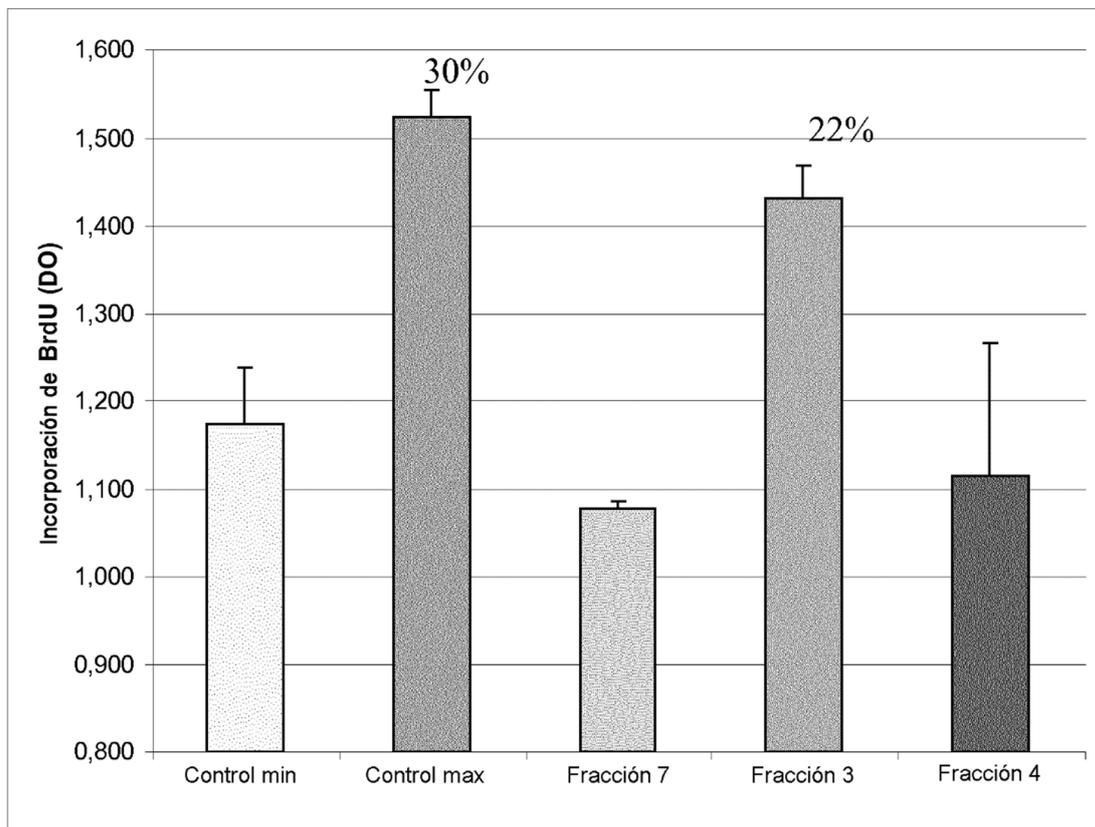


Figura 2

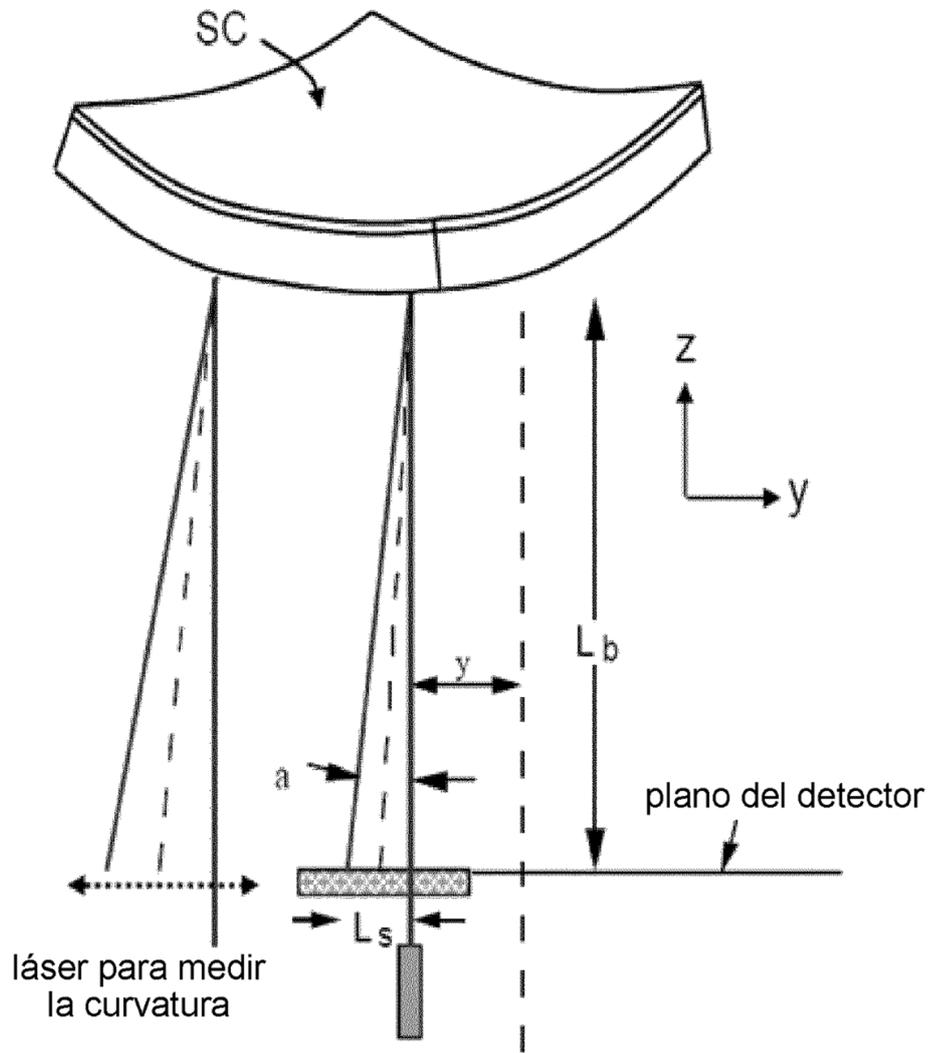


Figura 3

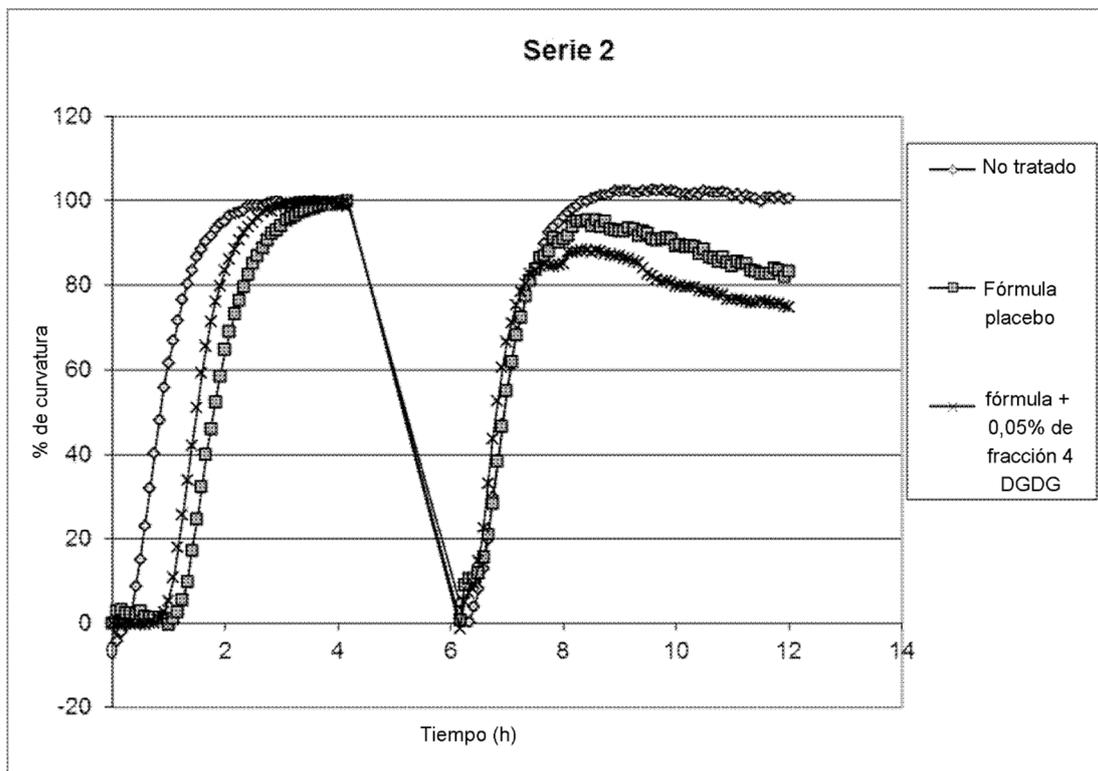
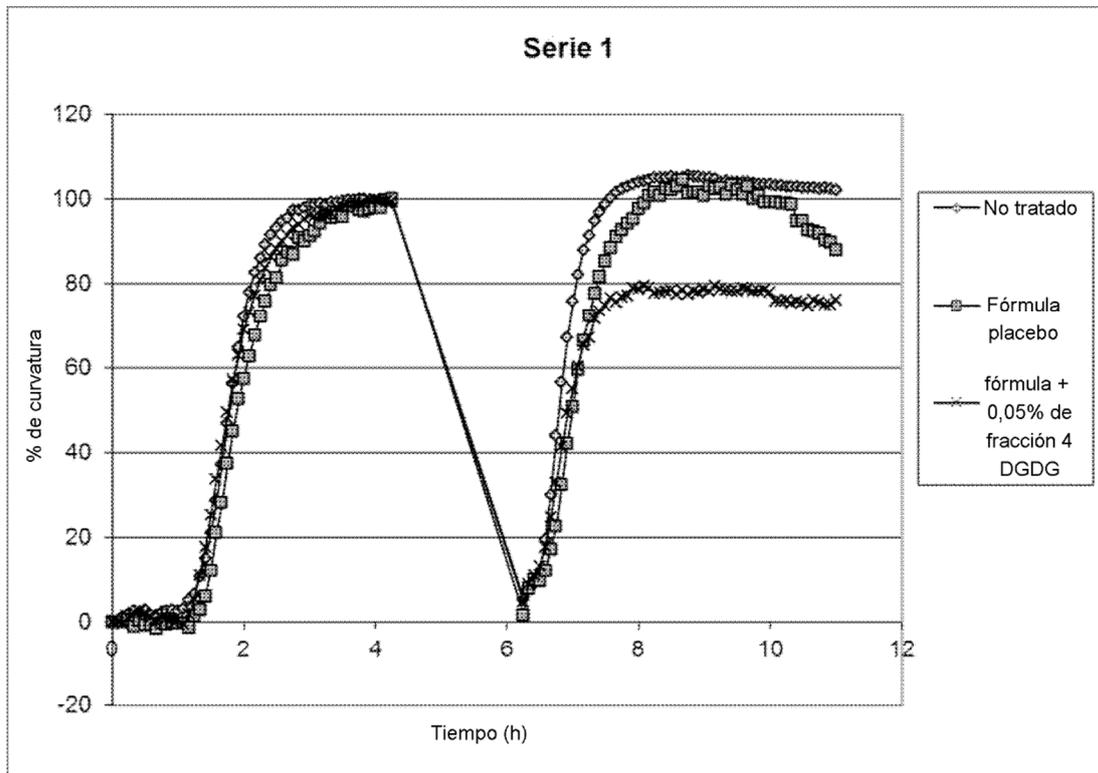


Figura 4