

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 731 647**

51 Int. Cl.:

**A61K 8/97** (2007.01)

**A61Q 5/00** (2006.01)

**A61Q 19/08** (2006.01)

**A01H 5/02** (2008.01)

**C12N 5/04** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.01.2013 PCT/IB2013/050094**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.07.2013 WO13102882**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.01.2013 E 13703145 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.04.2019 EP 2800552**

54 Título: **Uso cosmético de células vegetales desdiferenciadas**

30 Prioridad:

**05.01.2012 FR 1250122**

**29.02.2012 US 201261604542 P**

**05.09.2012 FR 1258273**

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

**18.11.2019**

73 Titular/es:

**L'ORÉAL (100.0%)**

**14, rue Royale**

**75008 Paris, FR**

72 Inventor/es:

**MARTIN, RICHARD;**

**PARIS, MARYLINE;**

**RATHMAN JOSSERAND, MICHELLE;**

**LAVAUD, BRIGITTE y**

**HILAIRE, PASCAL**

74 Agente/Representante:

**TOMAS GIL, Tesifonte Enrique**

**Observaciones:**

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

**ES 2 731 647 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

Uso cosmético de células vegetales desdiferenciadas

5 [0001] La presente invención se refiere al campo de la cosmética y se refiere al uso, como agente activo, de células vegetales desdiferenciadas de *Rosa* sp. para el cuidado estético de la piel y el cabello.

[0002] La presente invención también se refiere a una línea celular de células vegetales desdiferenciadas derivadas del rosal de Lancôme que son capaces de restaurar de manera eficaz la capacidad regenerativa de la  
10 piel.

[0003] En particular, la presente invención se refiere a una línea celular de células vegetales desdiferenciadas derivadas de un rosal de la variedad Lancôme, que son capaces de restaurar de manera efectiva la capacidad regenerativa de un modelo de piel reconstruida con bajo potencial regenerativo, y la capacidad de autorrenovación de un depósito de células madre dérmicas, SKP, derivadas de biopsias de piel humana (cuero cabelludo y  
15 prepucio), según lo establecido en las reivindicaciones.

[0004] La piel es un tejido que se renueva continuamente a lo largo de la vida de un individuo. Esta renovación se mantiene gracias a los queratinocitos que residen en la capa basal de la epidermis. Esta población de células comprende, por una parte, células madre, que son células raras caracterizadas por un potencial de expansión a largo plazo muy importante y también por una capacidad de autorrenovación, y, por otra parte, células llamadas progenitoras que se multiplican activamente y que posiblemente se diferencian mientras migran al estrato córneo.  
20

[0005] Con respecto a los folículos pilosos, se sabe que la interacción del compartimento epitelial y el compartimento dérmico es esencial para la morfogénesis y el recrecimiento del cabello, y también para mantener el ciclo del folículo. El mantenimiento de la funcionalidad de estos dos compartimentos depende de la presencia y de la actividad de varios depósitos de células madre. Se ha identificado un primer depósito de células madre epiteliales en una región llamada "protuberancia" en roedores (Cotsarelis et al., *Cell*, 1990, 61:1329). Desde este primer descubrimiento, se han identificado otros depósitos de células madre de queratinocitos y, en los seres humanos, parece que varios depósitos, que son más o menos activos, están anidados en la vaina radicular externa (VRE) del folículo piloso (Rochat et al., *Cell*, 1994, 76:1063; Commo et al., *Differentiation*, 2000, 66:157; Jaks et al., *Nature Genetics*, 2008, 40:1291).  
25  
30

[0006] En cuanto al compartimento dérmico, las células denominadas SKP (precursores derivados de la piel), alojadas en la papila dérmica y la vaina del tejido conectivo, se han identificado como células multipotentes implicadas en la inducción del crecimiento del cabello y en la reparación de la piel en ratones (Birnaskie et al., *Cell Stem Cell*, 2009, 5:310). Varios equipos de investigadores han demostrado la presencia de SKP en tejidos humanos y, en particular, en la papila dérmica de los folículos pilosos (Toma et al., *Stem Cells*, 2005, 23:727; Hunt et al., *Stem Cells*, 2008, 26:163).  
35  
40

[0007] El envejecimiento de los compartimentos cutáneos se revela, en particular, por una modificación considerable de la superficie epidérmica, heterogeneidades de sombra y superficie (pérdida del aspecto terso), una pérdida de elasticidad, la aparición de arrugas, una disminución de la reparación/cicatrización después de lesiones, un adelgazamiento de la epidermis, y/o la pérdida y/o el blanqueamiento del cabello, una reducción de la densidad del cabello, etc.  
45

[0008] Todos estos cambios visibles en la piel y el cabello indican una modificación de la capacidad regenerativa de los compartimentos cutáneos. También sugieren que las funciones biológicas esenciales que aseguran la homeostasis y la renovación de estos tejidos se ven comprometidas con la edad.  
50

[0009] Los datos existentes sugieren que, con la edad, el número de células regenerativas de la epidermis no disminuye (Giangreco et al., *Aging Cell*, 2008, 7:250), sino su funcionalidad parece verse muy afectada por las modificaciones de su microentorno que controlan la capacidad regenerativa de la capa basal. Por lo tanto, la disminución en la calidad de la piel asociada a la edad parece estar vinculada a una capacidad regenerativa modificada de estas células. Entre los componentes clave del microentorno de las células, se pueden mencionar las interacciones intercelulares, las limitaciones físicas del compartimento basal y los factores paracrinos secretados por las células circundantes y por las células residentes del compartimento dérmico.  
55

[0010] Asimismo, la pérdida en términos de cantidad y/o calidad del cabello que está vinculada a la alopecia o al envejecimiento cronológico sugiere una capacidad regenerativa modificada. De hecho, se ha demostrado que los folículos de cueros cabelludos alopécicos se reducen en longitud y tienen menos queratinocitos en proliferación en comparación con los cueros cabelludos no alopécicos (Ashrafussaman et al., *Acta Histochem Cytochem*, 2010, 43:9). Además, estudios recientes sugieren que una deficiencia en la conversión de células madre epiteliales en células progenitoras desempeña un papel importante en la alopecia androgénica (Garza y otros, *J Clin Invest*, 2010). En el compartimento dérmico, las células derivadas de la papila dérmica del cuero cabelludo alopécico proliferan con menor rapidez *in vitro* y parecen verse afectadas por el envejecimiento prematuro en comparación  
60  
65

con las células derivadas de cueros cabelludos no alopecicos (Bahta et al., J Invest Dermatol, 2008, 128:1088) y se ha observado una disminución, con la edad, en el número de SKP en tejidos humanos (Gago et al., Stem Cells, 2009, 27:1164). Todas estas observaciones sugieren una modificación de la capacidad regenerativa de los compartimentos del folículo piloso en relación con la alopecia y/o el envejecimiento cronológico.

5

[0011] Por lo tanto, con el fin de encontrar soluciones para contrarrestar las modificaciones de la piel y el cabello relacionadas con el envejecimiento, se debe prestar especial atención a las células regenerativas, o incluso a las células madre de la piel y el cabello.

10

[0012] En los estudios realizados por Haberland en 1902, se descubrieron células vegetales desdiferenciadas. Durante los últimos 40 años, los cultivos de células vegetales se han utilizado para la producción de metabolitos de interés o para la multiplicación de plantas que son exactamente iguales (embriogénesis somática). Esta biotecnología vegetal se basa en el concepto de totipotencia celular: "cualquier célula vegetal es capaz de desdiferenciar y regenerar a otro individuo idéntico a aquel del que se deriva". Una célula vegetal desdiferenciada es una célula vegetal que se origina a partir de un órgano (hoja, tallo, raíz, pétalo, etc.) que se ha puesto en cultivo y que nuevamente adopta su forma desdiferenciada, es decir, pierde su especificidad de hoja, tallo, raíz o pétalo, y nuevamente se vuelve posiblemente capaz de generar toda la planta.

15

20

[0013] Una célula vegetal indiferenciada es el equivalente de una célula madre vegetal real, derivada de células vegetales meristemáticas, y que no tiene un pasado biológico específico a un órgano.

25

[0014] Las patentes WO 2009/151302 y KR 2009-0118877 describen composiciones anti-envejecimiento o antioxidantes que contienen células vegetales indiferenciadas derivadas de cámbium de *Panax ginseng* o de una planta del género *Taxus*.

30

[0015] La patente EP 1 985 280 describe el uso de células vegetales desdiferenciadas derivadas de una planta de la familia Rosaceae, y en particular del manzano *Malus domestica*, para proteger las células madre de la piel frente a diversos factores de estrés intrínsecos y extrínsecos, y en particular para tratar el daño a la piel o al cabello asociado a la edad.

35

[0016] La patente EP 1 699 423 describe el uso de un liofilizado de células vegetales desdiferenciadas, derivadas de una planta halófila, para rejuvenecer el aspecto de la piel.

40

[0017] Las patentes DE-A-102 009 027 361 y EP 2 266 529 describen el uso de células vegetales desdiferenciadas, en particular derivadas de una planta del género *Malus*, para tratar las fibras capilares queratinosas y, en particular, para protegerlas contra la radiación UV, o para tratar la piel envejecida.

45

[0018] La patente EP 0 909 556 describe el uso de un extracto de una planta de la familia Rosaceae, en particular de una rosa, obtenida opcionalmente de células vegetales indiferenciadas, como antagonista de la bradiquinina para el tratamiento de diversas afecciones, en particular afecciones de la piel.

50

[0019] La patente WO2011121051 describe una preparación derivada de un cultivo de células no inducidas y desdiferenciadas de árbol argania, su uso para tratar el envejecimiento de la piel, la inflamación y la cicatrización, y su producción.

55

[0020] La patente WO200482643 describe una composición cosmética que contiene células vegetales desdiferenciadas e inducidas de *Olibanum*, *Boswellia* o *Negundo*, y muestra un efecto energizante.

60

[0021] La patente EP2436759 describe una línea celular indiferenciada derivada de un cámbium de la familia Solanaceae y que muestra un efecto anti-envejecimiento.

65

[0022] La patente EP2436759 describe una línea celular indiferenciada derivada de un cambium de la familia Solanaceae y que muestra un efecto anti-envejecimiento.

[0023] La patente EP2436758 describe una línea celular indiferenciada derivada de un cambium de la familia Ginkgoaceae y que muestra un efecto antioxidante reforzado.

[0024] La patente EP2436757 describe una línea celular indiferenciada derivada de un cambium de la familia Asteraceae y que muestra un efecto antiinflamatorio reforzado.

[0025] La patente WO2010137879 describe una línea celular indiferenciada derivada de un cambium de la familia Salicaceae y que muestra un efecto antiinflamatorio reforzado.

[0026] La patente EP1064932 describe el uso de células desdiferenciadas que muestran un efecto antiolor.

[0027] La patente EP1244464 describe el uso de extractos de células desdiferenciadas del género *Leontopodium* como agente de filtro anti-ultravioleta.

5 [0028] La patente FR2926021 describe usos cosméticos de un derivado de glucósido, opcionalmente en presencia de extractos de rosa.

[0029] Hasta donde sabe la solicitante, ningún documento hace referencia a la obtención de una línea celular desdiferenciada de rosal que posea las propiedades cosméticas o no cosméticas específicas descritas en la presente descripción.

10 [0030] Existe la necesidad de identificar soluciones técnicas para mejorar la funcionalidad y/o la actividad de las células regenerativas, incluidas las células madre de la piel o el cabello, para preservar la calidad y la función de la piel y también la calidad, la densidad y la forma del cabello durante toda la vida de un individuo y, en particular, para prevenir y/o tratar los efectos sobre el aspecto de la piel o el cabello relacionados con la edad.

15 [0031] En particular, existe la necesidad de proporcionar nuevos agentes activos para contrarrestar las deficiencias en la renovación tisular de la piel o del cabello, en particular para reducir el adelgazamiento de la epidermis, mejorar el aspecto de la superficie de la piel, corregir arrugas, ralentizar y/o inhibir la caída del cabello, o ralentizar y/o inhibir el blanqueamiento del cabello.

20 [0032] El objeto de la presente invención es, en particular, satisfacer estas necesidades.

25 [0033] De acuerdo con uno de sus primeros aspectos, la presente invención se refiere al uso cosmético de células vegetales desdiferenciadas de una planta del género *Rosa* sp. y, en particular, de un rosal de Lancôme, o de un extracto o un liofilizado de dichas células, como agente activo para el cuidado de la piel envejecida o cabello envejecido, para tratar y/o prevenir un defecto estético posterior a una deficiencia en la renovación tisular de la piel o del cabello.

30 [0034] De manera inesperada, los inventores han observado que las células vegetales desdiferenciadas de rosa, o un extracto o un liofilizado de dichas células, han demostrado ser particularmente capaces de restaurar de manera eficaz, *in vitro*, la capacidad regenerativa de un modelo de piel reconstruida producida a partir de una población de queratinocitos sin células madre ni progenitoras epidérmicas. Se ha observado un aumento en el espesor de la epidermis y una mejora muy clara en la calidad morfológica (organización de la capa basal, estratificación y diferenciación, etc.) después de 3 semanas de cultivo, incluyendo 2 semanas de tratamiento.

35 [0035] Los inventores han demostrado que las células vegetales desdiferenciadas de rosa, o un extracto o un liofilizado de dichas células, ejercen un efecto pro-regenerador, al menos en parte, a través de una optimización de la comunicación entre la epidermis y la dermis. De hecho, los inventores han observado que el tratamiento de las pieles reconstruidas con un potencial regenerativo reducido utilizando células vegetales desdiferenciadas de rosa de la invención, o un extracto o un liofilizado de dichas células, induce la expresión de numerosos factores biológicos difusibles, y en particular de KGF (factor de crecimiento de queratinocitos), conocido por sus efectos beneficiosos en la regeneración epidérmica. Por lo tanto, los inventores han observado que las células vegetales desdiferenciadas de rosa, o un extracto o un liofilizado de dichas células, han demostrado ser particularmente capaces de inducir de manera efectiva a la piel a que produzca factores fisiológicos que restauran la capacidad regenerativa de la capa basal que comprende células madre y células progenitoras.

40 [0036] También de manera inesperada, los inventores han observado que las células vegetales desdiferenciadas de rosa, o un extracto o un liofilizado de dichas células, han demostrado ser particularmente efectivas para estimular la capacidad de autorrenovación de un depósito de células madre dérmicas, SKP, derivadas de biopsias humanas (cuero cabelludo y prepucio). Por lo tanto, se pudo observar un aumento de aproximadamente el 65% en la capacidad de autorrenovación de las SKP después del tratamiento durante 10 días. Este estudio de evaluación de agentes activos permite concluir que la capacidad de renovación automática de las SKP *in vitro* puede verse afectada positivamente por un tratamiento con células desdiferenciadas de rosa o un extracto o un liofilizado de dichas células.

55 [0037] Sorprendentemente, los inventores también han demostrado que las células vegetales desdiferenciadas de rosa, o un extracto o un liofilizado de dichas células, tienen la capacidad de estimular o restaurar la capacidad regenerativa de la piel, mientras que los compuestos descritos en la técnica anterior como poseedores de propiedades regeneradoras de la piel, como el retinol, no han causado ningún efecto detectable en las mismas condiciones de prueba.

60 [0038] La estimulación de la autorrenovación de las células regenerativas de la piel, de la dermis y del folículo piloso permite mejorar su funcionalidad con beneficios para la piel y para el cabello. Este efecto estimulante sobre este depósito de células madre dérmicas permite ventajosamente preservar, o incluso restaurar, las funciones biológicas de estas células con beneficios cosméticos para la piel y para el cabello.

[0039] Para los fines de la invención, el término "piel" pretende significar toda la superficie cutánea de un individuo, incluido el cuero cabelludo.

5 [0040] Para los fines de la invención, el término "cabello" pretende significar un conjunto que comprende el tallo del cabello y el folículo piloso.

[0041] De acuerdo con una primera forma de realización, la presente invención se refiere al uso cosmético de células vegetales desdiferenciadas de una planta del género *Rosa* sp., en particular del rosal de Lancôme, o de un extracto o un liofilizado de dichas células, como agente activo para el cuidado de la piel envejecida o el cabello envejecido, para tratar y/o prevenir un defecto estético posterior a una deficiencia en la renovación titular de piel envejecida o de cabello envejecido.

10

[0042] Para los fines de la presente invención, el término "prevenir" significa reducir el riesgo de manifestación del fenómeno en cuestión.

15

[0043] De acuerdo con otra forma de realización más, la presente invención está orientada a contrarrestar las deficiencias en la renovación tisular de la piel o el cabello envejecido, en particular para reducir el adelgazamiento de la epidermis o de la piel, mejorar el aspecto de la superficie de la piel, corregir las arrugas, ralentizar y/o inhibir la pérdida de cabello, o ralentizar y/o inhibir el blanqueamiento del cabello.

20

[0044] Según otro más de sus objetos, la presente invención se refiere a una composición cosmética que comprende, como agente activo, al menos una célula vegetal desdiferenciada de una planta del género *Rosa* sp., o un extracto o un liofilizado de dichas células, donde dichas células vegetales desdiferenciadas se obtienen colocando células de una planta del género *Rosa* sp. en cultivo en un medio de cultivo que comprende al menos  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ;  $\text{KNO}_3$ ;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{MgSO}_4$ ;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ;  $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{KI}$ ;  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; mio-inositol; ácido nicotínico; piridoxina HCl; tiamina HCl; y sacarosa; y opcionalmente kinetina,  $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , y/o ácido naftalenacético.

25

[0045] En el presente documento también se describe una composición cosmética que comprende, como agente activo, al menos una célula vegetal desdiferenciada de una planta del género *Rosa* sp., o un extracto o un liofilizado de dichas células, donde dichas células vegetales desdiferenciadas se obtienen colocando células de una planta del género *Rosa* sp. en cultivo en un medio de cultivo que comprende al menos  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ;  $\text{KNO}_3$ ;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{MgSO}_4$ ;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ;  $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; mio-inositol; ácido nicotínico; piridoxina HCl; tiamina HCl; y sacarosa; y opcionalmente kinetina,  $\text{KI}$ ,  $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , y/o ácido naftalenacético.

30

35

[0046] Según otro de sus objetos, la presente invención se refiere a una composición cosmética que comprende, como agente activo, al menos una célula vegetal desdiferenciada derivada de un rosal de Lancôme, o un extracto o un liofilizado de dicha célula.

40

[0047] De acuerdo con otro de sus objetos, la presente invención se refiere a un método cosmético para el cuidado de la piel envejecida o el cabello envejecido, que comprende al menos una etapa que consiste en administrar, como agente activo, al menos una célula vegetal desdiferenciada de una planta del género *Rosa* sp., o un extracto o un liofilizado de dicha célula, a una persona que lo necesite.

45

[0048] Según otro de sus objetos, la presente invención se refiere a células vegetales desdiferenciadas de una planta del género *Rosa* sp., o de un extracto o un liofilizado de dichas células, como agente activo para usar para prevenir y/o reducir y/o tratar la pérdida parcial o total de fibras capilares, y preferiblemente la alopecia.

50 [0049] De acuerdo con otro de sus objetos, la presente invención se refiere a células vegetales desdiferenciadas derivadas del rosal de Lancôme.

[0050] Según otro de sus objetos, la presente invención se refiere a células desdiferenciadas de rosa que pertenecen a la línea celular depositada según el Tratado de Budapest el 4 de julio de 2012, con la referencia 2-6307 en la Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ) (Colección alemana de microorganismos y cultivos celulares).

55

[0051] Según una forma de realización adicional, las células vegetales desdiferenciadas de una planta del género *Rosa* sp., o un extracto o un liofilizado de dichas células, de acuerdo con la invención, pueden administrarse por vía oral o tópica. Según una forma de realización preferida, la invención se usa tópicamente.

60

[0052] Según una ventaja de la invención, un agente activo de la invención permite estimular las células dérmicas del folículo piloso.

[0053] Ventajosamente, de nuevo, un agente activo de la invención permite estimular la autorrenovación de las células madre o progenitoras de la piel o del cabello, y mejorar su funcionalidad con vistas a ejercer un efecto beneficioso con respecto a la piel y el cabello, en particular la piel y el cabello envejecidos.

5 [0054] Según otra ventaja, un agente activo de la invención permite preservar, o incluso restaurar, las funciones biológicas del depósito de células madre de la piel y del cabello.

Células vegetales desdiferenciadas y método para su obtención

10 [0055] Para los fines de la invención, el término "célula vegetal desdiferenciada" pretende significar cualquier cepa celular derivada de órganos de un rosal del género *Rosa* sp. y obtenida mediante condiciones de cultivo *in vitro* específicas que ya no posea ningún carácter de especialización y que sea capaz, bajo el efecto de una inducción, de cualquier diferenciación de acuerdo con su genoma y de generar, por sí misma, una planta completa de la planta de la cual se origina. Tales células son capaces de vivir por sí mismas y no en una relación de dependencia con otras células.

15 [0056] Las células vegetales desdiferenciadas son distintas de las células vegetales indiferenciadas que existen de manera natural en las plantas.

20 [0057] Para los fines de la invención, el término "célula vegetal desdiferenciada" significa una cepa obtenida por cultivo *in vitro* o *in vivo*, derivada de los órganos de un rosal de Lancôme, capaz de diferenciar y/o adquirir nuevas características de una célula especializada, bajo el efecto de una inducción en cualquier tipo de célula (totipotente) o en varios tipos de células (pluripotente), en particular células embriogénicas o meristemáticas.

25 [0058] En condiciones normales, las células vegetales expresan aproximadamente el 20% de su genoma, y el 80% restante se expresa solo en respuesta a condiciones ambientales particulares. El cultivo *in vitro* de estas células en condiciones de cultivo particulares permite "reprogramar" las células y, por lo tanto, acceder a una parte de este genoma que no se expresa en toda la planta. Ciertos compuestos, difíciles de obtener por extracción a partir de plantas, se vuelven más accesibles en cultivos celulares.

30 [0059] De este modo, ventajosamente, las células vegetales desdiferenciadas de la invención permiten acceder a nuevos compuestos que no están presentes en toda la planta, o aumentar significativamente la expresión de moléculas que son conocidas pero raras en toda la planta.

35 [0060] Las células vegetales desdiferenciadas de la invención se pueden obtener a partir de cualquier planta del género *Rosa* sp. Estas células se pueden obtener a partir de material vegetal derivado de plantas enteras o de partes de plantas, como las hojas, tallos, flores, pétalos, sépalos o raíces cultivados *in vivo* o *in vitro*

40 [0061] El término "cultivo *in vivo*" pretende significar cualquier cultivo de tipo convencional, es decir, en el suelo al aire libre o en un invernadero, o bien fuera del suelo.

45 [0062] El término "cultivo *in vitro*" significa todas las técnicas conocidas por los expertos en la técnica para obtener artificialmente una planta o una parte de planta. La presión de selección impuesta por las condiciones físicoquímicas durante el crecimiento de las células vegetales *in vitro* permite obtener un material vegetal estandarizado que está disponible durante todo el año, en contraste con las plantas cultivadas *in vivo*.

[0063] Preferentemente, según la invención, se utiliza una planta derivada de cultivo *in vivo*.

50 [0064] Preferiblemente, las células vegetales desdiferenciadas de la invención se obtienen de al menos una hoja de una planta del género *Rosa* sp.

55 [0065] El género *Rosa* comprende más de 200 especies, entre las cuales se pueden mencionar: *Rosa alba*, *rosa alpina*, *Rosa canina*, *rosa cinnamomea*, *Rosa gallica*, *Rosa repens*, *rosa rubrifolia*, *Rosa rubiginosa*, *Rosa sempervirens*, *Rosa spinosissima*, *Rosa stylosa*, *Rosa tomentosa* o *Rosa villosa*.

[0066] Más preferiblemente, las células vegetales desdiferenciadas de la invención se obtienen de un rosal de Lancôme, y más particularmente de un rosal llamado Lancôme delboip Rose. Dicho rosal está disponible comercialmente, por ejemplo, en la empresa DELBARD (Francia).

60 [0067] Más preferiblemente, las células vegetales desdiferenciadas de acuerdo con la invención se obtienen usando, como producto de partida, hojas de un rosal de Lancôme delboip o células derivadas de dichas hojas.

65 [0068] El rosal de Lancôme es un híbrido del té, cuyas raíces femeninas son un híbrido obtenido por el cruce de las variedades Dr. Albert Schweitzer × [Michele Meilland × Bayadere] y que ha sido polinizado por la variedad Melmet.

[0069] Dependiendo del método de cultivo elegido, y en particular dependiendo del medio de cultivo elegido, es posible obtener, a partir de una misma planta, células vegetales desdiferenciadas con características diferentes.

5 [0070] De acuerdo con una forma de realización preferida, las células vegetales desdiferenciadas de la invención se obtienen a partir de material vegetal derivado de hojas de rosal de Lancôme.

[0071] De acuerdo con una forma de realización preferida, un medio de cultivo adecuado para obtener células vegetales desdiferenciadas de la invención comprende hormonas presentes de manera natural en las plantas.

10 [0072] De acuerdo con una forma de realización preferente, las células desdiferenciadas de rosal de Lancôme se obtienen por medio de un método que comprende las siguientes etapas:

- 15 a) proporcionar hojas de rosal de Lancôme, o células derivadas de dichas hojas,  
 b) cultivar las hojas o las células proporcionadas en la etapa a) en presencia de al menos una hormona vegetal, para generar células desdiferenciadas, y  
 c) recuperar las células desdiferenciadas obtenidas al final de la etapa b).

20 [0073] En la etapa a), las "hojas" abarcan hojas enteras y fragmentos de hojas. En la etapa a), las células derivadas de las hojas se pueden obtener de acuerdo con cualquier técnica ya conocida por los expertos en la técnica.

[0074] Preferentemente, las hojas o células derivadas de las hojas se proporcionan en forma axénica (sin ningún contaminante biológico).

25 [0075] En la etapa b) del método, las hojas o las células derivadas de las hojas se cultivan en un medio de cultivo adecuado, que comprende al menos una hormona vegetal. En ciertas formas de realización, dicho medio de cultivo comprende una pluralidad de hormonas vegetales, por ejemplo dos o tres hormonas vegetales.

30 [0076] Preferiblemente, el medio de cultivo comprende al menos una hormona y, de manera totalmente preferible, al menos una fitohormona. Las fitohormonas abarcan en particular auxinas, citoquininas y giberelinas.

35 [0077] Las auxinas que son particularmente adecuadas para la invención están en el IAA principal (ácido indol-3-acético), IBA (ácido indolebutírico), ácido fenilacético y NAA (ácido naftalenacético). Preferentemente, el ácido 2,4-D(2,4-diclorofenoxiacético) se excluye de las auxinas que son adecuadas para la invención, ya que es un compuesto no natural.

40 [0078] De las citoquininas, involucradas en el alargamiento de las células, que son bastante particularmente adecuadas para la invención, las más importantes son la kinetina (N-(furan-2-ilmetil)-7H-purin-6-amina; Ref. CAS n° 525-79-1), la zeatina (2-metil-4-7H-purin-6-ilamino)but-2-en-1-ol; Ref. CAS n° 1637-39-4) y la bencil adenina (N-bencil-7H-purin-6-amina); Ref. CAS n° 1214-39-7).

45 [0079] Las giberelinas constituyen una familia de hormonas vegetales o fitohormonas que abarca más de un centenar de compuestos, estos compuestos se enumeran por su número de orden GA1, GA2, .../... GA126. Las diversas giberelinas están muy cerca unas de otras desde el punto de vista estructural. Las giberelinas que son particularmente adecuadas para la invención son esencialmente procedentes de raíces y comprenden un gran número de derivados, entre los cuales los más importantes son el ácido giberélico, también llamado giberelina A3, y las giberelinas A1 y A12.

50 [0080] En la etapa b) del método, la(s) hormona(s) vegetal(es) se elige(n) preferiblemente entre el ácido indol-3-acético, el ácido indolbutírico, el ácido fenilacético, el ácido naftalenacético, la kinetina, la zeatina, la benzil adenina, el ácido giberélico y las giberelinas A1, A3 y GA3. En la etapa b), se puede usar una combinación de hormonas vegetales, por ejemplo, una combinación de ácido naftalenacético y kinetina.

55 [0081] Un medio de cultivo que es adecuado para obtener células vegetales desdiferenciadas comprende al menos NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>; KNO<sub>3</sub>; CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O; MgSO<sub>4</sub>; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; MnSO<sub>4</sub>.4H<sub>2</sub>O; ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O; CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O; FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; mio-inositol; ácido nicotínico; piridoxina HCl; tiamina HCl; y sacarosa; y opcionalmente KI; kinetina, Na<sub>2</sub>EDTA.2H<sub>2</sub>O, y/o ácido naftalenacético.

60 [0082] Un medio de cultivo que también es adecuado para obtener células vegetales desdiferenciadas comprende al menos NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>; KNO<sub>3</sub>; CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O; MgSO<sub>4</sub>; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; MnSO<sub>4</sub>.4H<sub>2</sub>O; ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; KI; Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O; CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O; FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; mio-inositol; ácido nicotínico; piridoxina HCl; tiamina HCl; y sacarosa; y opcionalmente kinetina, Na<sub>2</sub>EDTA.2H<sub>2</sub>O, y/o ácido naftalenacético.

65 [0083] Un medio de cultivo que también es adecuado para obtener células vegetales desdiferenciadas comprende al menos NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>; KNO<sub>3</sub>; CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O; MgSO<sub>4</sub>; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; MnSO<sub>4</sub>.4H<sub>2</sub>O; ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; KI; Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O; CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O; Na<sub>2</sub>EDTA.2H<sub>2</sub>O; FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; mio-inositol; ácido nicotínico; piridoxina HCl; tiamina HCl; ácido naftalenacético; kinetina; y sacarosa.

- 5 [0084] Ventajosamente, un medio de cultivo puede comprender de 1200 a 2000 mg/l de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ; De 1500 a 2100 mg/l de  $\text{KNO}_3$ ; De 300 a 500 mg/l de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; De 150 a 200 mg/l de  $\text{MgSO}_4$ ; De 153 a 187 mg/l de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; de 10 a 30 mg/l de  $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ; De 5 a 10 mg/l de  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; de 0 a 0,91 mg/l de KI; de 0 a 0,30 mg/l de  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; de 0,01 a 0,05 mg/l de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ; De 10,5 a 50 mg/l de  $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; De 10 a 30 mg/l de  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; de 70 a 150 mg/l de mioinositol; de 0,3 a 0,6 mg/l de ácido nicotínico; de 0,4 a 0,6 mg/l de piridoxina; de 0,08 a 0,15 mg/l de tiamina; de 0 a 11 mg/l de ácido naftalenacético; de 0 a 0,066 mg/l de kinetina; y de 10 a 35 g/l de sacarosa.
- 10 [0085] El cultivo en la etapa b) se lleva a cabo ventajosamente a una temperatura que varía de 24 a 30°C, y preferiblemente de 26 a 27°C.
- [0086] El cultivo en la etapa b) se lleva a cabo ventajosamente en una atmósfera que comprende una presión de  $\text{O}_2$  parcial de aproximadamente el 10%.
- 15 [0087] El método se lleva a cabo preferentemente por lotes durante 6 a 10 días.
- [0088] El método se puede llevar a cabo de acuerdo con una técnica de fermentación discontinua o una técnica de fermentación continua.
- 20 [0089] Después de su cultivo en un medio adecuado, las células vegetales desdiferenciadas de la invención se recogen en la etapa c), por ejemplo, mediante filtración, y pueden liofilizarse o someterse a un proceso de extracción.
- 25 [0090] Según una forma de realización particular, la etapa de cultivo b) se lleva a cabo durante un período de 6 a 14 días, y preferiblemente de 6 a 10 días.
- [0091] La presente invención también se refiere a células desdiferenciadas de rosal de Lancôme, en particular a estas células desdiferenciadas de rosal de Lancôme delboip, obteniéndose dichas células desdiferenciadas por medio del método detallado en la presente descripción, incluido en los ejemplos.
- 30 [0092] Los inventores han demostrado que el método de acuerdo con la invención permite obtener líneas celulares de células desdiferenciadas de rosal de Lancôme, siendo posible que las células en las líneas celulares se cultiven en forma de células desdiferenciadas durante un período de tiempo muy largo, o incluso indefinidamente, sin modificación detectable de su morfología, y sin modificación detectable de sus propiedades, en particular sin modificación detectable de sus propiedades de regeneración de la piel.
- 35 [0093] Las líneas celulares de las células desdiferenciadas de rosal de Lancôme según la invención se caracterizan en particular por las siguientes características:
- 40
- el tamaño de las células aisladas raras (<5%) no excede un diámetro de entre 10 y 30  $\mu\text{m}$ ,
  - los agregados celulares muy predominantes tienen un diámetro de entre 50 y 300  $\mu\text{m}$ ,
  - las células tienen una morfología globular y son de color blanco,
  - en comparación con otras líneas celulares de rosal, el cultivo comprende muy pocos residuos celulares y
- 45
- los agregados son bastante homogéneos con un diámetro promedio de aproximadamente cien micras,
  - Los cultivos celulares desdiferenciados del rosal de Lancôme no poseen ningún olor particular.
- [0094] La invención también se refiere a la línea celular aislada por la solicitante y depositada de conformidad con el Tratado de Budapest el 4 de julio de 2012, bajo la referencia 2-6307 en la Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ) [Colección alemana de microorganismos y cultivos celulares].
- 50
- [0095] Ventajosamente, de acuerdo con la presente invención, se pueden usar células vegetales desdiferenciadas frescas o liofilizadas, o extractos de las mismas, o aquellas formuladas en composiciones que las estabilizan. En estado sólido a muy baja presión, el agua se sublima, es decir, pasa directamente del estado sólido al estado gaseoso. El vapor de agua (o vapor de cualquier otro disolvente) abandona el producto y se captura mediante congelación utilizando un condensador o una trampa. Esta técnica permite conservar tanto el volumen como el aspecto del producto tratado. Puede tener lugar de manera natural (secándose en una montaña) o más rápidamente, en un liofilizador.
- 55
- [0096] La liofilización generalmente comprende tres etapas: congelación, sublimación y secado secundario.
- 60
- [0097] La congelación consiste en llevar rápidamente una sustancia a una temperatura de entre -20 ° C y -80 ° C, para bloquear el agua en forma de hielo en la situación en la que se encontraba en estado líquido; de este modo se evita la lisis de las células.
- 65

5 [0098] La sublimación consiste en eliminar el agua "libre". Bajo un vacío de aproximadamente 100  $\mu$ bar, pero que puede variar mucho de un producto a otro, se suministra calor al producto; el hielo sufre sublimación. Dependiendo del producto y las necesidades de producción, la temperatura puede variar durante el ciclo. El vapor de agua es capturado por una "trampa" o "condensador" y la deshidratación del producto continuará continuamente. Cuando la mayoría del agua ha sufrido sublimación, el producto ha perdido aproximadamente del 80% al 90% de su agua.

[0099] El secado consiste en eliminar el agua cautiva del producto. En esta etapa, el vacío es elevado, hasta aproximadamente 5  $\mu$ bar. En esta etapa, el producto es un 95% seco.

10 [0100] Por ejemplo, después de la recuperación de las células del medio de cultivo por filtración en un paño con una porosidad controlada (aproximadamente 80  $\mu$ m), las células se congelan a baja temperatura, preferiblemente de -20 °C a -80 °C, en condiciones que permiten evitar la formación de grandes cristales de hielo capaces de dañarlas. Las células congeladas se someten luego a una etapa de sublimación del hielo en un vacío que varía de 5 a 500  $\mu$ bar, y preferiblemente un vacío de 100  $\mu$ bar.

15 [0101] Como se ha indicado anteriormente, las células vegetales liofilizadas de la invención pueden rehidratarse antes de su uso.

20 [0102] Sorprendentemente, la solicitante ha demostrado que los efectos, en la regeneración de la piel, de las células de rosal de Lancôme desdiferenciadas según la invención, o de un extracto o un liofilizado de dichas células, son significativamente diferentes a los observados con células de rosal no diferenciadas, o un extracto o un liofilizado de dichas células.

25 [0103] En particular, la solicitante ha demostrado que los efectos, en la regeneración de la piel, de las células de rosal de Lancôme desdiferenciadas, o de un extracto o un liofilizado de dichas células, son diferentes de los observados con las células de rosal de Lancôme no diferenciadas, o un extracto o un liofilizado de dichas células.

30 [0104] También sorprendentemente, la solicitante ha demostrado que las células desdiferenciadas de rosal de Lancôme, o un extracto o un liofilizado de dichas células, poseen un efecto particular sobre el perfil de expresión génica por las células de la piel humana. Los inventores han demostrado que las células desdiferenciadas de rosal de Lancôme, o un extracto o un liofilizado de dichas células, poseen un efecto específico sobre la expresión génica por células de la piel humana, en comparación con el efecto sobre la expresión génica por células de la piel que es inducido por células desdiferenciadas de un rosal de otras variedades (o un extracto o un liofilizado de dichas células), y también por células de rosal de Lancôme no diferenciadas (o un extracto o un liofilizado de dichas células).

Piel envejecida y signos del envejecimiento cutáneo

40 [0105] El término "piel envejecida" pretende significar un estado estético general de la piel como resultado del envejecimiento cronológico y/o el envejecimiento fotoinducido.

[0106] Más particularmente, la presente invención está destinada a prevenir y/o reducir y/o tratar los signos del envejecimiento de la piel.

45 [0107] La expresión "signos del envejecimiento de la piel" pretende significar cualquiera de las modificaciones del aspecto externo de la piel debido al envejecimiento que es de origen cronológico y/o fotoinducido.

50 [0108] A modo de ejemplo de esta modificación considerada en la invención, se puede mencionar una superficie que no es muy homogénea y es menos lisa, una epidermis adelgazada y/o que es menos efectiva en términos de su función de barrera (que se repara con menos rapidez después de agresiones), arrugas y líneas finas, piel apagada, falta de elasticidad y/o tonicidad de la piel, adelgazamiento de la dermis y/o degradación de las fibras de colágeno, lo que conduce al aspecto de piel flácida y arrugada.

55 [0109] Dicha expresión también pretende significar todas las modificaciones internas de la piel que no se reflejan sistemáticamente en un aspecto externo modificado, por ejemplo, todas las degradaciones internas de la piel, y más particularmente la degradación de las fibras de elastina, o fibras elásticas, subsiguiente a la exposición a la radiación ultravioleta.

60 [0110] En particular, los signos del envejecimiento de la piel a los que se dirige la invención se eligen entre el adelgazamiento de la piel, la pérdida de firmeza, la pérdida de elasticidad, la pérdida de densidad o la pérdida de tonicidad de la piel, la sequedad de la piel, una alteración del aspecto superficial de la piel, la aparición de un marcado microrrelieve de la piel, la aparición de asperezas, la formación y/o la presencia de líneas finas y/o de arrugas, una modificación de la luminosidad de la tez de la piel, un aspecto apagado de la piel, una modificación del olor de la piel, flacidez de la piel o debilitamiento de la piel.

65

[0111] Preferiblemente, los signos de envejecimiento de la piel a los que se dirige la invención se eligen entre el adelgazamiento de la piel, la aparición de un marcado microrrelieve de la piel, la formación y/o la presencia de líneas finas y/o arrugas, la flacidez de la piel y el aspecto apagado de la piel.

5 [0112] Más preferiblemente, los signos de envejecimiento de la piel a los que se dirige la invención se eligen entre la aparición de un marcado microrrelieve de la piel, la formación y/o la presencia de líneas finas y/o arrugas, la flacidez de la piel y el aspecto apagado de la piel.

Antienvjecimiento del cabello

10 [0113] Las modificaciones de la calidad del cabello que aparecen con la edad consisten en particular en un cambio en el aspecto de la fibra (cabello delgado, sin vida, débil y sin cuerpo), sin brillo y/o canoso, más fácilmente quebradizo, y también una pérdida de densidad del cabello.

15 [0114] La presente invención, de este modo, está orientada a restaurar/mantener una buena densidad del cabello y/o mejorar la calidad de la cabellera y/o de las fibras del cabello, y en particular del cabello envejecido. Más particularmente, las células vegetales desdiferenciadas de la invención, o un extracto o un liofilizado de dichas células, permiten prevenir una pérdida de densidad del cabello y proteger, reforzar o mejorar la calidad del cabello envejecido para conferir un aspecto de cabello joven y denso al cabello.

20 [0115] De acuerdo con una forma de realización, las células vegetales desdiferenciadas de la invención, o un extracto o un liofilizado de dichas células, son particularmente adecuadas para prevenir y/o limitar la formación de cabello delgado, sin vida, quebradizo, débil, sin cuerpo, sin brillo y/o canoso.

25 [0116] Según otra forma de realización, las células vegetales desdiferenciadas de la invención, o un extracto o un liofilizado de dichas células, también son adecuados para mejorar la calidad de las fibras de queratina, en particular al favorecer el crecimiento de cabello brillante y/o grueso y/o de aspecto vivo.

30 [0117] De acuerdo con otra forma de realización, las células vegetales desdiferenciadas de la invención o un extracto o un liofilizado de dichas células son para usar para prevenir y/o tratar puntas abiertas, para mejorar la suavidad percibida por el consumidor, o para mejorar el vigor de la fibra, el volumen de la cabellera y su brillo.

35 [0118] De acuerdo con otra forma de realización, las células vegetales desdiferenciadas de la invención, o un extracto o un liofilizado de dichas células, son adecuadas para prevenir y/o tratar la pérdida parcial o total de las fibras del cabello, y más particularmente del cabello. También preferiblemente, la invención es adecuada para prevenir y/o tratar la alopecia.

40 [0119] La alopecia se refleja más particularmente en una pérdida parcial o total del cabello en un individuo. Las personas que sufren un estado alopécico pueden ser, en particular, víctimas de alopecia difusa, por ejemplo, alopecia androgenética o alopecia seborreica o calvicie común, debido a un exceso de andrógenos (hormonas masculinas). En este tipo de alopecia se observa que, principalmente en los hombres, en el área que constituye la parte superior de la cabeza (vértice craneal), los ciclos de producción de cabello a veces se detienen de manera prematura, un fenómeno que no se observa en las áreas de la circunferencia de la cabeza, y en particular la nuca.

45 [0120] De acuerdo con otra forma de realización, las células vegetales desdiferenciadas, o un extracto o un liofilizado de dichas células, son bastante particularmente adecuadas para prevenir y/o tratar el blanqueamiento del cabello, y preferiblemente las canas.

50 [0121] Las canas corresponden al blanqueamiento natural del cabello, que aparece con la edad o después de un estrés oxidativo. Más particularmente, las canas están relacionadas con un aumento específico y gradual de la escasez de los melanocitos del cabello, que afectan tanto a los melanocitos del bulbo piloso como a las células precursoras de los melanocitos.

55 [0122] Ventajosamente, la presente invención permite prevenir, limitar y/o reducir el blanqueamiento o encanecimiento del cabello y/o del vello corporal. En particular, las células vegetales desdiferenciadas, o un extracto o un liofilizado de dichas células, pueden ser útiles para prevenir, limitar y/o detener el desarrollo y/o la progresión de las canas.

60 [0123] Las células vegetales desdiferenciadas, o un extracto o un liofilizado de dichas células, también se pueden usar para prevenir y/o limitar y/o disminuir el aumento del número de canas en la cabellera, y/o para reducir o mantener el porcentaje de canas en relación con el número total de cabellos.

[0124] De acuerdo con una forma de realización particular, la invención también está orientada a mantener la pigmentación natural del cabello.

65 Formulación galénica

[0125] Las células vegetales desdiferenciadas de la invención, o un extracto o un liofilizado de dichas células, se pueden formular en cualquier composición adecuada para uso cosmético o farmacéutico.

5 [0126] Una composición de acuerdo con la invención comprende un medio fisiológica o farmacéuticamente aceptable.

[0127] Después de cultivarlas en un medio adecuado, las células vegetales desdiferenciadas de la invención se recogen por filtración y pueden liofilizarse o extraerse o colocarse en solución.

10 [0128] Ventajosamente, las células vegetales desdiferenciadas de la invención, o un extracto o un liofilizado de dichas células, pueden formularse o colocarse en solución en agua o en un disolvente orgánico soluble en agua, o en una mezcla de los mismos.

15 [0129] Un disolvente orgánico soluble en agua adecuado para la invención se puede elegir de compuestos basados en hidrocarburos C<sub>2</sub> a C<sub>8</sub>, preferiblemente C<sub>3</sub> a C<sub>6</sub>, que comprenden de 2 a 6 grupos hidroxilo, preferiblemente de 3 a 5 grupos hidroxilo, y mezclas de los mismos.

20 [0130] Entre los disolventes orgánicos solubles en agua adecuados para la invención, se pueden mencionar en particular glicoles que contienen de 2 a 8 átomos de carbono, como etilenglicol, propilenglicol o 1,3-propanodiol, 1,3-butilenglicol, dipropilenglicol, glicerol, sorbitol y mezclas de los mismos. Preferiblemente, en particular son bastante adecuados para la invención el propilenglicol o el 1,3-propanodiol.

25 [0131] Un disolvente orgánico soluble en agua puede constituir del 20% al 100% en peso de la composición que lo contiene, preferiblemente del 30% al 90%, preferiblemente del 40% al 80%, y más preferiblemente del 50% al 70% en peso de la composición que lo contiene.

[0132] Un agua adecuada para la invención puede ser un agua de manantial y/o agua mineral, elegida en particular de agua de Vittel, aguas de la cuenca de Vichy y el agua de la Roche Posay.

30 [0133] El agua puede constituir del 20% al 100% en peso de la composición que lo contiene, preferiblemente del 30% al 90%, preferiblemente del 40% al 80%, y más preferiblemente del 50% al 70% en peso de la composición que la contiene. Ventajosamente, el agua constituye hasta el 50% en peso de la composición que la contiene.

35 [0134] De acuerdo con una forma de realización, una preparación que contiene células vegetales desdiferenciadas de la invención, o un extracto o un liofilizado de dichas células, puede comprender al menos un agente gelificante hidrófilo. Tal agente permite evitar o reducir la sedimentación de las células.

40 [0135] Un agente gelificante hidrófilo adecuado para la invención puede elegirse entre polímeros de polisacáridos y mezclas de los mismos.

[0136] Para los fines de la presente invención, el término "polímero de polisacáridos" pretende indicar cualquier molécula de carbohidrato formada por la unión de un gran número de azúcares elementales, por ejemplo xilosa, glucosa, galactosa, ramnosa, manosa, fucosa y arabinosa, y sus respectivos ácidos. Los polímeros de polisacáridos de acuerdo con la invención se eligen preferiblemente entre polímeros que tienen pesos moleculares que varían de 10 a 250 kDa. Como polímeros de polisacáridos adecuados para la invención, se puede hacer mención, en particular, de: pectina; goma guar; celulosa; dextrina; maltodextrina; almidón; goma de tara; goma de algarrobo; inulina; goma de acacia; goma arábiga; polímeros ricos en fucosa, tales como Fucogel; carrageninas; goma konjac; goma xantana; dextrano; quitosano; goma tragacanto; goma ghatti; goma karaya; goma de tamarina; agar agar; alginato; goma gelano; y mezclas de los mismos. Preferiblemente se hace uso de goma xantana, goma de algarrobo, goma guar, goma gelana, agar-agar, alginato y mezclas de los mismos.

55 [0137] De acuerdo con una forma de realización preferida, una preparación que contiene células vegetales desdiferenciadas de la invención, o un extracto o un liofilizado de dichas células, puede comprender una goma xantana.

[0138] Un agente gelificante puede estar presente en una proporción que varía del 0,01% al 10% en peso y preferiblemente del 0,1% al 5% en peso de polímero(s) de polisacáridos, con respecto al peso total de la composición.

60 [0139] De acuerdo con otra forma de realización, una preparación que contiene células vegetales desdiferenciadas de la invención, o un extracto o un liofilizado de dichas células, puede comprender al menos un azúcar.

65 [0140] Un azúcar adecuado para la invención puede ser un monosacárido C<sub>4</sub> a C<sub>6</sub>, y en particular puede elegirse entre inositol, manitol, glucosa, sacarosa, trehalosa, maltosa, xilitol y fructosa, y mezclas de los mismos.

- [0141] El contenido de azúcar en una composición de la invención puede variar del 1% al 80% en peso, por ejemplo del 5% al 75% en peso y en particular del 10% al 70% en peso, con respecto al peso total de la composición.
- 5 [0142] De acuerdo con una forma de realización preferida, las células vegetales desdiferenciadas de la invención, o un extracto o un liofilizado de dichas células, se pueden formular en presencia de agua, de 1,3-propanodiol y/o de goma xantana.
- 10 [0143] Cualquiera que sea la formulación utilizada para emplear las células vegetales desdiferenciadas de Rosa sp., o un extracto o un liofilizado de dichas células, estas/este se emplean necesariamente en una cantidad efectiva.
- 15 [0144] Una cantidad efectiva es la cantidad requerida para obtener un efecto deseado desde el punto de vista de una indicación considerada por la invención.
- 20 [0145] Esta cantidad depende, por supuesto, de varios parámetros, como el efecto deseado, o la edad, el peso, la altura o el tipo de individuo que va a recibir el tratamiento, y de la vía de administración, y por lo tanto puede variar en gran medida. Esta cantidad puede determinarse por cualquier método conocido por los expertos en la técnica.
- 25 [0146] Para dar un orden de magnitud, las células vegetales desdiferenciadas de la invención, o un extracto o un liofilizado de dichas células, se pueden usar en una cantidad que represente del 0,01% al 30% en peso de materia seca con respecto al peso total de la composición que los contiene, y preferentemente en una cantidad que represente del 0,1% al 50% en peso de materia seca en relación con el peso total de la composición.
- 30 [0147] Las células vegetales desdiferenciadas de Rosa sp. de la invención, o un extracto o un liofilizado de dichas células, puede formularse en cualquier composición cosmética, en particular destinada a ser ingerida, inyectada o aplicada a la piel, el cabello, las uñas o las membranas mucosas (oral, yugal, gingival, genital, conjuntival). Dependiendo del modo de administración seleccionado, una composición de la invención puede estar en cualquiera de las formas galénicas normalmente utilizadas.
- 35 [0148] Para la aplicación tópica sobre la piel, una composición puede estar en forma de una solución acuosa u oleosa o de una dispersión de tipo loción o suero, de emulsiones de consistencia líquida o semilíquida de tipo leche, obtenidas por dispersión de una fase grasa en una fase acuosa (O/W), o viceversa (W/O), o de suspensiones o emulsiones de consistencia blanda, de tipo de gel o crema acuosa o anhidra, o bien de microcápsulas o micropartículas, o de dispersiones vesiculares de tipo iónico y/o no iónico. Estas composiciones se preparan de acuerdo con los métodos habituales.
- 40 [0149] Estas composiciones pueden constituir cremas limpiadoras, protectoras, de tratamiento o de cuidado del rostro, las manos, los pies, los pliegues anatómicos principales o el cuerpo (por ejemplo, cremas de día, cremas de noche, cremas desmaquillantes, cremas de base de maquillaje o cremas contra el sol), bases fluidas, leches desmaquillantes, leches corporales protectoras o de cuidado, leches contra el sol, lociones, geles o espumas para el cuidado de la piel, por ejemplo lociones de limpieza, lociones contra el sol, lociones de bronceado artificial, composiciones de baño, composiciones desodorantes que contengan un agente bactericida, geles o lociones para después del afeitado o cremas depilatorias. Estas composiciones también pueden consistir en preparaciones sólidas que constituyen jabones o barras limpiadoras o se pueden envasar en forma de una composición de aerosol que también comprende un propelente a presión.
- 45 [0150] Una composición destinada a aplicarse al cabello puede estar en forma de soluciones acuosas, alcohólicas o acuoso-alcohólicas, o en forma de cremas, geles, emulsiones o mousses, o también en forma de composiciones en aerosol que también comprenden un propelente presurizado. Dicha composición puede estar en forma de una composición para el cuidado del cabello, tal como un champú, una loción para el cabello, una loción de tratamiento, un gel o crema para el peinado, una composición de tinte (en particular, tinte de oxidación), un champú de coploración, una loción reestructurante, una composición de ondulación permanente (en particular una composición para el primer paso de la realización de ondas permanentes), o un gel o loción anticaída.
- 50 [0151] Para administración subcutánea o intradérmica, una composición puede estar en forma de una loción acuosa u oleosa o en forma de un suero.
- 55 [0152] Una composición adecuada para la ingestión puede estar en forma de cápsulas, gránulos, jarabes o comprimidos.
- 60 [0153] Las cantidades de los diversos constituyentes de las composiciones de acuerdo con la invención son las utilizadas convencionalmente en los campos en consideración.
- 65 [0154] Cuando una composición es una emulsión, la proporción de la fase grasa puede oscilar entre el 5% y el 80% en peso y preferiblemente entre el 5% y el 50% en peso con respecto al peso total de la composición. Los aceites, ceras, emulsionantes y coemulsionantes utilizados en una composición en forma de emulsión se eligen

entre aquellos utilizados convencionalmente en el campo de la cosmética. El emulsionante y el coemulsificante pueden estar presentes, en una composición, en una proporción que varía del 0,3% al 30% en peso y preferiblemente del 0,5% al 20% en peso con respecto al peso total de la composición.

5 [0155] Cuando una composición es una solución o gel oleoso, la fase grasa puede representar más del 90% del peso total de la composición.

10 [0156] De forma conocida, una composición cosmética de la invención también puede contener adyuvantes que son habituales en el campo de la cosmética, tales como agentes gelificantes hidrófilos o lipófilos, aditivos hidrófilos o lipófilos, conservantes, antioxidantes, disolventes, fragancias, rellenos, agentes de filtro, absorbentes de olores y colorantes. Las cantidades de estos diversos adyuvantes son las utilizadas convencionalmente en el campo de la cosmética, y son, por ejemplo, del 0,01% al 10% del peso total de la composición. Dependiendo de su naturaleza, estos agentes pueden introducirse en la fase grasa, en la fase acuosa y/o en esférulas lipídicas.

15 [0157] Como aceites o ceras que se pueden usar en la invención, se pueden mencionar aceites minerales (vaselina líquida), aceites vegetales (fracción líquida de manteca de karité, aceite de girasol), aceites animales (perhidroescualeno), aceites sintéticos (aceite de purcelín), aceites de silicona o ceras (ciclometicona) y aceites fluorados (perfluoropolíéters), cera de abejas, cera de carnaúba o parafina. Se pueden agregar alcoholes grasos y ácidos grasos (ácido esteárico) a estos aceites.

20 [0158] Como emulsionantes que se pueden usar en la invención, se pueden mencionar, por ejemplo, el estearato de glicerilo, polisorbato 60 y la mezcla de PEG-6/PEG-32/estearato de glicol vendido con el nombre de Tefose<sup>R</sup> 63 por la empresa Gattefosse.

25 [0159] Como disolventes que se pueden usar en la invención, se pueden mencionar alcoholes inferiores, en particular etanol e isopropanol, y propilenglicol.

30 [0160] Como agentes gelificantes hidrófilos que se pueden usar en la invención, se pueden mencionar los polímeros de carboxivinilo (carbómero), copolímeros acrílicos tales como copolímeros de acrilato/acrilato de alquilo, poliacrilamidas, polisacáridos tales como hidroxipropilcelulosa, gomas naturales, preferiblemente xantana y arcillas y, como agentes gelificantes lipófilos, se pueden mencionar las arcillas modificadas, tales como bentonas, sales metálicas de ácidos grasos, por ejemplo, estearatos de aluminio y sílice hidrófoba, etilcelulosa y polietileno.

#### 35 Metodo cosmético

[0161] De acuerdo con otro de sus aspectos, la presente invención se refiere a un método cosmético para el cuidado de la piel envejecida o el cabello envejecido, que comprende al menos una etapa que consiste en administrar, como agente activo, al menos una célula vegetal desdiferenciada de una planta del género *Rosa* sp., o un extracto o un liofilizado de dicha célula, a un individuo que lo necesite. Dicho método se puede llevar a cabo, en particular, administrando una composición cosmética como se ha definido anteriormente, de acuerdo con la técnica habitual para el uso de esta composición.

45 [0162] De acuerdo con una forma de realización, la invención se refiere a un método cosmético para tratar y/o prevenir un defecto estético subsiguiente a una deficiencia en la renovación del tejido de la piel envejecida o del cabello envejecido en un individuo que lo necesite, que comprende al menos una etapa de administración a dicho individuo, como agente activo, de al menos una célula vegetal desdiferenciada de una planta del género *Rosa* sp., o un extracto o un liofilizado de dicha célula.

50 [0163] Un método de acuerdo con la invención puede comprender una etapa que consiste en observar una reducción o incluso la desaparición de los defectos estéticos subsiguientes a una deficiencia en la renovación del tejido de la piel envejecida o del cabello envejecido.

[0164] Ventajosamente, la implementación de un método de la invención permite reforzar, mejorar o incluso restaurar un aspecto joven de la piel y/o de la cabellera.

55 [0165] Un método cosmético según la invención se puede llevar a cabo en particular mediante administración oral o tópica, preferiblemente tópica, de una composición cosmética como se ha definido anteriormente.

60 [0166] Un método de la invención se puede llevar a cabo diariamente, por ejemplo, con una dosificación de, por ejemplo, una administración única por día o una administración dos veces al día, por ejemplo una vez por la mañana y una vez por la noche.

65 [0167] Un método cosmético de acuerdo con la invención se puede llevar a cabo, por ejemplo, mediante la administración diaria de una composición formulada, por ejemplo, en forma de geles, lociones, cremas, espumas, cápsulas de gel, comprimidos recubiertos de azúcar, emulsiones, comprimidos, cápsulas o viales orales, en cantidad y número apropiados, según su forma.

[0168] Una cantidad eficaz de un agente activo de la invención se puede administrar en una única dosis por día o en dosis fraccionadas durante el día, por ejemplo, de dos a tres veces al día.

5 [0169] Un método de acuerdo con la invención puede comprender ventajosamente una única administración.

[0170] Un método cosmético de acuerdo con la invención puede llevarse a cabo durante un período de tiempo que varía desde una semana hasta varias semanas, o incluso varios meses, con este período repitiéndose posiblemente después de períodos sin tratamiento, durante varios meses o incluso varios años.

10 [0171] A modo de ejemplo, la administración de un agente activo de acuerdo con la invención puede repetirse, por ejemplo, 2 a 3 veces por día, o más, y generalmente durante un período prolongado de al menos 4 semanas, o incluso de 4 a 15 semanas con, en su caso, uno o más periodos de interrupción.

15 Figuras

[0172]

20 Figura 1: representa fotografías de modelos de pieles reconstruidas con bajo potencial de regeneración, en sección, después del tratamiento durante 10 días en ausencia (control) o en presencia de células desdiferenciadas de rosal de Lancôme a 0,43 mg/ml o 0,043 mg/ml y cultivo hasta 13 (fotografía superior) o 20 (fotografía inferior) días.

25 Figura 2: representa la cantidad de factor de crecimiento de queratinocitos (KGF) determinada en los medios de cultivo de modelos de pieles reconstruidas con bajo potencial de regeneración, tratadas en ausencia o en presencia de células desdiferenciadas de rosal de Lancôme (0,43 mg/ml). Los análisis se llevaron a cabo en D3, D5, D7, D10, D13, D17 y D23. Histograma gris claro: control. Histograma gris oscuro: células desdiferenciadas de rosal de Lancôme a 0,43 mg/ml. Histograma blanco: células desdiferenciadas de rosal de Lancôme a 0,0043 mg/ml.

30 Figura 3: representa fotografías de modelos de pieles reconstruidas con bajo potencial de regeneración, en sección, sin tratar (control) o tratadas en presencia de células vegetales desdiferenciadas de rosal a 0,43 mg/ml o en presencia de retinol a 10 µM.

35 [0173] En la descripción y en los ejemplos que siguen, a menos que se indique lo contrario, los porcentajes son porcentajes en peso y los rangos de valores escritos en la forma "entre ... y ..." incluyen los límites inferior y superior especificados. Los ingredientes se mezclan, antes de formarse, en el orden y condiciones que son fácilmente determinados por los expertos en la técnica.

40 [0174] Los ejemplos que figuran a continuación se presentan como ilustraciones no limitativas del campo de la invención.

**EJEMPLOS**

**Ejemplo 1**

45 *Cultivo de células vegetales de rosal (Rosal de Lancôme) desdiferenciadas utilizando tejido vegetal*

[0175] Las hojas de un rosal (Lancôme Rose) se descontaminaron mediante las técnicas habituales de los expertos en la materia y se colocaron en el siguiente medio de cultivo:

<b>MACRONUTRIENTES</b>	<b>mg/l</b>
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650
KNO <sub>3</sub>	1900
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O (CX41)	440
MgSO <sub>4</sub>	180,8
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170
<b>MICRONUTRIENTES</b>	<b>mg/l</b>
MnSO <sub>4</sub> · 4H <sub>2</sub> O	22.3
ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	86
KI	083
NA <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	025
CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	0025
NA <sub>2</sub> EDTA · 2H <sub>2</sub> O	373
FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	278
<b>VITAMINAS</b>	<b>mg/l</b>

MIO-INOSITOL	100
ÁCIDO NICOTÍNICO	05
PIRIDOXINA HCl (B <sub>6</sub> )	05
TIAMINA HCl (B <sub>1</sub> )	01
<b>HORMONAS</b>	<b>MG/L</b>
Ácido naftalenacético	10
Kinetin	006
<b>FUENTE DE CARBONO</b>	<b>mg/l</b>
Sacarosa	30000

[0176] Las hormonas utilizadas son hormonas presentes de manera natural en las plantas.

5 [0177] Después de subcultivos sucesivos, se obtuvieron células vegetales desdiferenciadas que pueden cultivarse en un fermentador y, por lo tanto, son industrializables. Los parámetros utilizados para el control del cultivo en un biorreactor son los siguientes:

T °: de 24 °C a 30 °C, idealmente 26-27 °C

10 [0178] Aireación: pO<sub>2</sub> al 10%, regulado por introducción de aire estéril y/o mediante agitación, evitando cualquier tensión cortante sobre las células.

[0179] La producción por lotes dura de 6 a 14 días. Las células se recogen por filtración en un paño con una porosidad de 80 µm.

15 [0180] Las células desdiferenciadas de rosal de Lancôme obtenidas se formulan en agua, en presencia de 1,3-propanodiol y de goma xantana en una proporción del 10% en peso de biomasa fresca en relación con el peso total de la composición.

## 20 **Ejemplo 2**

*Demostración de los efectos "pro-regeneradores" de las células vegetales desdiferenciadas de rosal de Lancôme en un modelo de piel reconstruida con bajo potencial de regeneración*

### 25 a- Preparación de los modelos de piel reconstruida con bajo potencial regenerativo

[0181] Se aislaron queratinocitos de una muestra de piel humana.

30 [0182] Después de extraer el tejido subcutáneo con un bisturí, la muestra de piel se cortó en fragmentos y luego se descontaminó mediante un tratamiento antibiótico antimicótico en medio de cultivo DMEM (Life Technologies Ltd, Escocia).

35 [0183] Para permitir la separación de la dermis de la epidermis, la muestra se sometió posteriormente a un tratamiento proteolítico (Dispasa II)/tripsina al 0,25% durante la noche a 4 °C. Los fragmentos de epidermis separados del tejido dérmico se colocaron en una solución de tripsina-EDTA 1x durante 20 minutos a 37 °C. El efecto de la tripsina se neutralizó agregando un medio de cultivo que contenía un 10% de suero fetal bovino (FCS). La suspensión celular se homogeneizó y luego se lavó en medio de cultivo de queratinocitos (medio de crecimiento de queratinocitos, KGM) (KGM Bullet Kit, BioWhittaker, Clonetics Corp., San Diego, CA, EE. UU.). La suspensión de células se colocó en matraces de cultivo pre"cobiertos" con colágeno de tipo I (Sigma Chemical Co Ltd, Irvine, Reino Unido). Después de 15 minutos, los queratinocitos que no se habían adherido se recuperaron mediante lavado en tampón PBS. Las células no adherentes seleccionadas de este modo quedan libres de células madre y progenitoras de la capa basal.

Esta subpoblación de queratinocitos se sembró, en una proporción de 150 000 a 450 000 células, en medio de cultivo (N Fortunel et al (2011). Eur J Dermatol. 21 (S2): 12-20) en la parte superior de un soporte dérmico colocado de antemano en un inserto.

45 El sustrato de cultivo utilizado es una dermis humana desvitalizada sin epidermis o una dermis viva que comprende fibroblastos dentro de una red de colágeno (modelo estirado, producción Episkin®). Luego se agrega medio debajo y arriba de cada inserto y este medio se renueva cada dos días. Después de 6-7 días a 37 °C en una incubadora al 5% de CO<sub>2</sub>, el medio en la parte superior de la muestra se retiró completamente y el medio debajo del inserto se reemplazó con el mismo medio que se menciona a continuación, pero sin transferrina, triyodotironina y adenina.  
50 Esto comienza la fase de emersión necesaria para inducir la estratificación y diferenciación del compartimento epidérmico. Las muestras se cultivaron durante 1-3 semanas a 37 °C y 5% de CO<sub>2</sub>. El medio se renovó cada dos días.

### 55 b- Tratamientos con las células vegetales desdiferenciadas

[0184] Las células desdiferenciadas de rosal obtenidas en el ejemplo 1 se liofilizaron, y luego se resuspendieron por un paso sucesivo por una jeringa. Los residuos celulares se eliminaron por centrifugación. El agente activo resultante con los residuos celulares eliminados se utilizó en una proporción de 0,43 mg/ml y 0,043 mg/ml. El agente activo se aplicó sistémicamente (en el medio de cultivo debajo de los insertos) tan pronto como el soporte dérmico se sembró con queratinocitos. La aplicación del agente activo se renovó los días 3, 6, 8 y 10. Los siguientes análisis histológicos:

- espesor de la epidermis,
- organización general,
- estratificación,
- calidad de la capa basal, etc.,

se llevaron a cabo el día 13 y el día 20.

[0185] El control corresponde al medio de cultivo carente de células desdiferenciadas de rosal.

[0186] Como se muestra en la figura 1, en presencia de células desdiferenciadas de rosal se observó un engrosamiento de la epidermis. Además, la capa basal es más densa, se mejora la calidad morfológica y se observa una diferenciación correcta, es decir, la estratificación de las capas vivas y una apariencia de una capa granular.

[0187] Estos resultados demuestran una restauración de la capacidad regenerativa de los modelos de pieles reconstruidas con bajo potencial de regeneración, siguiendo los tratamientos realizados con células desdiferenciadas de un rosal (Lancôme Rose) y apoyan el uso de dicho ingrediente para tratar la piel.

### **Ejemplo 3**

*Análisis volumétrico de la secreción del factor de crecimiento de queratinocitos (KGF) inducida por el tratamiento de un modelo de piel reconstruida, con bajo potencial de regeneración, con células vegetales desdiferenciadas de rosal de Lancôme*

[0188] Los medios de cultivo de los experimentos descritos en el ejemplo 2 se recolectaron los días 3, 5, 7, 11, 13, 17 y 20. Las cantidades solubles de KGF secretadas por las pieles reconstruidas y presentes en estos medios se analizaron por ELISA (ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (R&D Systems, nº catálogo DKG00).

[0189] Como se muestra en la figura 2, se observó un aumento en la secreción de KGF en comparación con el control (sin tratar), especialmente en el día 13 después de los tratamientos con las células desdiferenciadas de rosal a 0,43 mg/ml.

[0190] Este factor de crecimiento es producido por los fibroblastos y es conocido por sus efectos mitogénicos en los queratinocitos (Finch PW et al. Science 1989 245:752; Marchese et al./ J Cell Physiol 1990 144:326). Este resultado muestra que las células de las plantas de rosal (Lancôme Rose) desdiferenciadas inducen la secreción de factores difusibles, producidos al menos en parte por los fibroblastos, que tienen un efecto beneficioso sobre la regeneración epidérmica. Por lo tanto, se crea un diálogo pro-regenerador entre la dermis y la epidermis.

### **Ejemplo 4**

*Demostración de los efectos beneficiosos sobre la autorrenovación de células madre dérmicas in vitro*

#### **Aislamiento de células madre dérmicas derivadas de biopsia humana**

[0191] Las células madre derivadas del compartimento dérmico (SKP) tienen la capacidad de proliferar y autorrenovarse en forma de esferas en suspensión cuando se cultivan *in vitro* en presencia de FGF2 y EGF. Se aíslan de la piel y de los folículos pilosos de acuerdo con el protocolo descrito en la publicación Nature Protocols (Birnaskie et al. 2006). El medio de alimentación utilizado consiste en DMEM/F12 (Invitrogen) suplementado con antibióticos: penicilina (Lonza) y estreptomina (Lonza), con un agente antifúngico Fungizone (Invitrogen), con los factores de crecimiento EGF (BD) y FGF2 (BD), y con suplemento de sustituto de suero B27 (Invitrogen).

[0192] Los SKP utilizados se derivan de muestras de piel y, en particular, de los prepucios de 3 donantes diferentes (8 años, 10 años, 22 años). Después de una primera etapa en cultivo en matraces, las esferas se asocian con colagenasa y luego se vuelven a poner en cultivo en forma de células individualizadas en presencia del 50% del medio de alimentación y del 50% del medio acondicionado (acondicionado por las propias células).

#### **Evaluación del nivel de autorrenovación en presencia o en ausencia de las células desdiferenciadas de rosal**

5 [0193] El método utilizado para evaluar los niveles de autorrenovación es similar al utilizado durante los pasajes de las células. Los SKP se disocian primero con colagenasa, antes de la siembra en una proporción de 3000 células por pocillo (en placas de 96 pocillos). Las células se cultivan en una mezcla que contiene la mitad de medio acondicionado y la mitad de medio de alimentación, como se ha descrito anteriormente. Las células se cultivan a 37 °C (21% de O<sub>2</sub> - 5% de CO<sub>2</sub>) y los tratamientos se realizan en ausencia (control) o en presencia de 0,43 mg/ml del agente activo derivado de células desdiferenciadas de rosa de Lancôme, obtenidas como se describe en el ejemplo 2. Después de los 10 días de cultivo, las esferas formadas se cuentan con el fin de evaluar la capacidad de autorrenovación de estas células después del tratamiento.

10 [0194] Los resultados se dan en la tabla I a continuación.

Tabla I: Número promedio de esferas por pocillo, por condición y por biopsia en D10 (media de 4 pocillos)

Tratamiento	Donante 1	Donante 2	Donante 3	Media	Desviación estándar
+ células desdiferenciadas de rosa	88,67	55,75	183,50	109,31	54,16
-	52,50	33,50	112,25	66,09	33,55

15 [0195] La autorrenovación de las células madre dérmicas aumenta significativamente después de un tratamiento con el agente activo derivado de las células desdiferenciadas de rosa (+ tratamiento) en comparación con el control (- tratamiento).

20 [0196] Este estudio permite concluir que un tratamiento con el agente activo derivado de las células desdiferenciadas de rosa aumenta significativamente las capacidades de autorrenovación de las células madre dérmicas *in vitro* dada la importancia del papel que desempeñan estas células en procesos biológicos como la regeneración del folículo piloso, en el control de la forma del tallo capilar y en la reparación de la piel, este resultado enfatiza la ventaja de este ingrediente como una solución técnica para el tratamiento del envejecimiento de la piel y del cabello.

### 25 **Ejemplo 5**

*Comparación de los efectos "pro-regeneradores" de las células desdiferenciadas de rosa con los de otro agente activo "anti-envejecimiento" de referencia en un modelo de piel reconstruida con bajo potencial de regeneración*

30 [0197] El modelo de piel reconstruida se preparó como se indica en el ejemplo 2. El agente activo derivado de las células desdiferenciadas de rosa se preparó como se indica en el ejemplo 2. El modelo de piel reconstruida se trató en ausencia (control - medio de cultivo solo) o en presencia del agente activo derivado de las células desdiferenciadas de rosa en una proporción de 0,43 mg/ml, o de retinol en una proporción de 10 µM, durante 12 días.

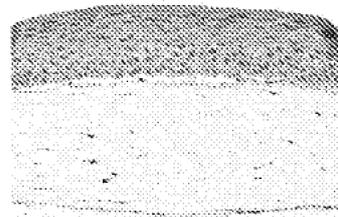
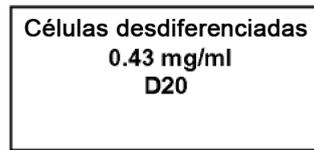
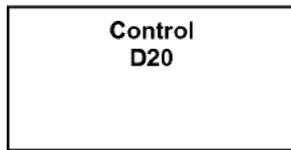
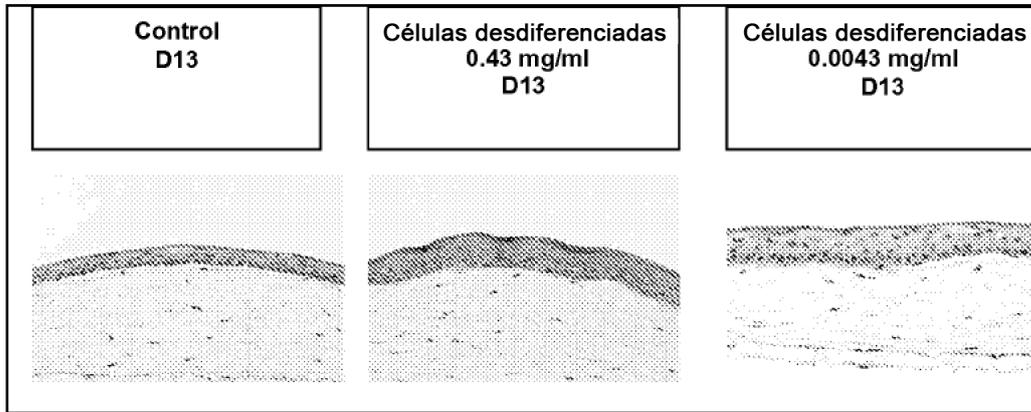
35 [0198] Las observaciones histológicas se realizaron como se indica en el ejemplo 2.

40 [0199] Como se muestra en la figura 3, en presencia del agente activo derivado de células vegetales desdiferenciadas de rosa, se observó un engrosamiento de la epidermis. Además, la capa basal es más densa, se mejora la calidad morfológica y se observa una diferenciación correcta (estratificación de las capas vivas, una apariencia de capa granular).

45 [0200] Por otro lado, el tratamiento con retinol no mejoró la calidad epidérmica e incluso parece inhibir la diferenciación.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Uso cosmético de células vegetales desdiferenciadas de una planta del género *Rosa sp.*, o de un extracto o un liofilizado de dichas células, como agente activo para el cuidado de la piel envejecida o el cabello envejecido, para tratar y/o prevenir un defecto estético posterior a una deficiencia en la renovación del tejido de la piel o del cabello.
2. Uso según la reivindicación 1, para prevenir y/o reducir y/o tratar los signos del envejecimiento de la piel.
- 10 3. Uso según se reivindica en la reivindicación 1, para prevenir y/o reducir y/o tratar el cabello delgado, sin vida, quebradizo, débil, sin cuerpo, sin brillo y/o canoso.
4. Uso según la reivindicación 1, para prevenir y/o reducir y/o tratar el blanqueamiento del cabello, y preferiblemente las canas.
- 15 5. Uso según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que las células vegetales desdiferenciadas se derivan de un rosal de Lancôme.
6. Uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que las células vegetales desdiferenciadas, o un extracto o un liofilizado de dichas células, se formulan en agua o un disolvente orgánico soluble en agua, o una mezcla de los mismos.
- 20 7. Uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que las células vegetales desdiferenciadas de la invención, o un extracto o un liofilizado de dichas células, se usan en una cantidad que representa del 0,01% al 30% en relación con el peso total de la composición que las contiene, y preferiblemente en una cantidad que representa del 0,1% al 50% en peso de materia seca con respecto al peso total de la composición.
- 25 8. Composición cosmética que comprende, como agente activo, al menos una célula vegetal desdiferenciada de una planta del género *Rosa sp.*, o un extracto o un liofilizado de dichas células, donde dichas células vegetales desdiferenciadas se obtienen colocando células de una planta del género *Rosa sp.* en cultivo en un medio de cultivo que comprende al menos  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ;  $\text{KNO}_3$ ;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{MgSO}_4$ ;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ;  $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{KI}$ ;  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; mio-inositol; ácido nicotínico; piridoxina HCl; tiamina HCl; y sacarosa; y opcionalmente kinetina,  $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , y/o ácido naftalenacético.
- 30 9. Composición según la reivindicación anterior, en la que la célula vegetal desdiferenciada de una planta del género *Rosa sp.*, o el extracto o el liofilizado de dicha célula:
- 35 - se formula en agua o un disolvente orgánico soluble en agua, o una mezcla de los mismos; o
- se utiliza en una cantidad que representa del 0,01% al 30% en relación con el peso total de la composición que la/lo contiene; o
- 40 - se caracteriza por que la célula vegetal desdiferenciada se deriva de un rosal de Lancôme.
10. Composición cosmética que comprende, como agente activo, al menos una célula vegetal desdiferenciada derivada de un rosal de Lancôme, o un extracto o un liofilizado de dicha célula.
- 45 11. Método cosmético para cuidar la piel envejecida o el cabello envejecido, que comprende al menos una etapa que consiste en administrar, como agente activo, al menos una célula vegetal desdiferenciada de una planta del género *Rosa sp.*, o un extracto o un liofilizado de dicha célula, a un individuo que lo necesite.
- 50 12. Células vegetales desdiferenciadas de una planta del género *Rosa sp.*, o extracto o un liofilizado de dichas células, como agente activo para usar para prevenir y/o reducir y/o tratar la pérdida parcial o total de fibras capilares, y preferiblemente la alopecia.
13. Células vegetales desdiferenciadas derivadas del rosal de Lancôme.
- 55 14. Células desdiferenciadas de rosa pertenecientes a la línea celular depositada según el Tratado de Budapest el 4 de julio de 2012, con la referencia 2-6307 en la Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ) [Colección alemana de microorganismos y cultivos celulares].



**FIGURA 1**

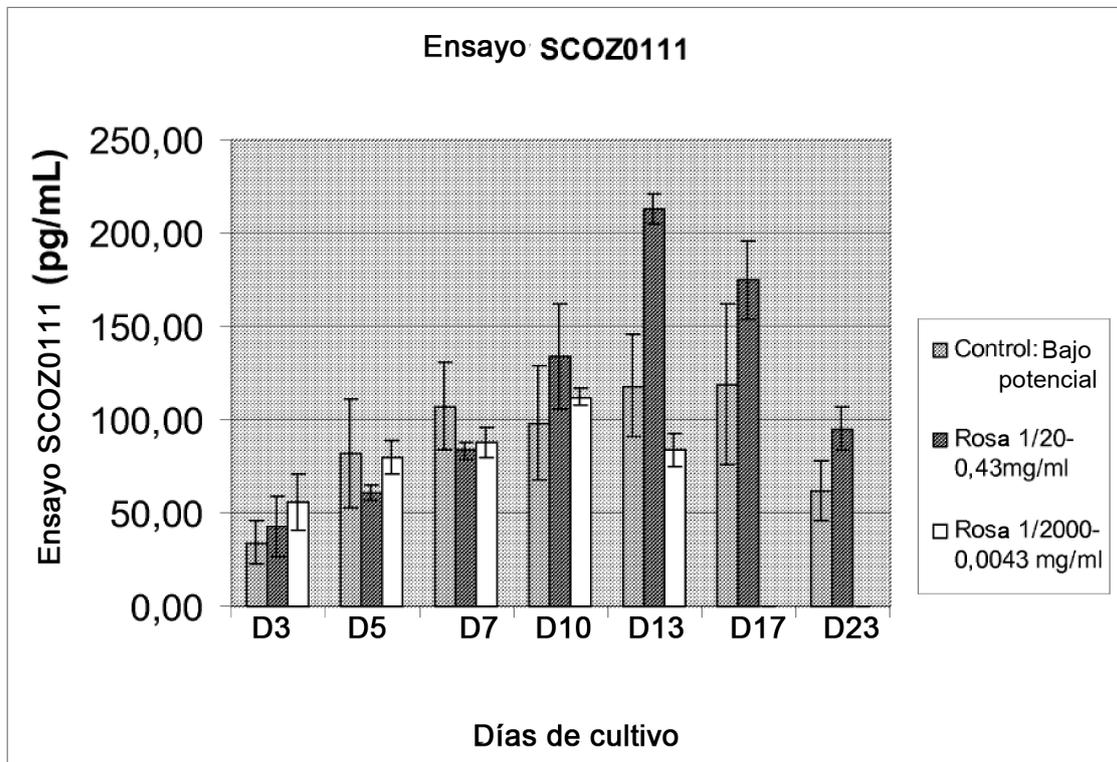


FIGURA 2

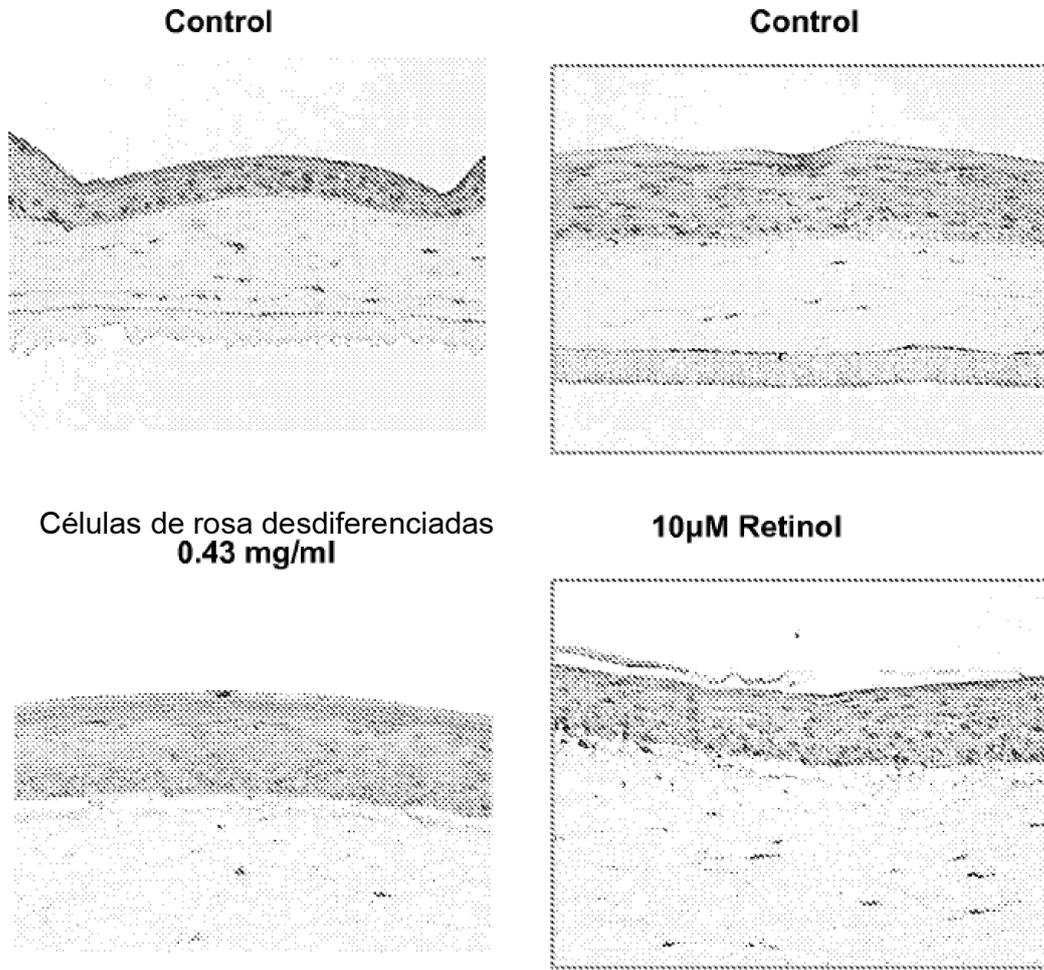


FIGURA 3