

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 744 576**

51 Int. Cl.:

A61K 8/66	(2006.01)	A23L 33/135	(2006.01)
A61K 8/99	(2007.01)	A61Q 19/00	(2006.01)
A61Q 19/02	(2006.01)		
A61Q 19/08	(2006.01)		
A23L 2/52	(2006.01)		
A61K 8/9789	(2007.01)		
A61K 8/36	(2006.01)		
A61K 8/37	(2006.01)		
A23L 33/10	(2006.01)		
A23L 33/105	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.06.2011 PCT/EP2011/060768**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **05.01.2012 WO12000962**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.06.2011 E 11727697 (2)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.06.2019 EP 2588070**

54 Título: **Uso de ácido cicórico y bacteria láctica en suplemento alimenticio para aclarar y/o blanquear el tono de la piel**

30 Prioridad:

30.06.2010 EP 10167858

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
25.02.2020

73 Titular/es:

**SOCIÉTÉ DES PRODUITS NESTLÉ S.A. (50.0%)
Entre-deux-Villes
1800 Vevey, CH y
L'ORÉAL (50.0%)**

72 Inventor/es:

**GUITARD, MARJORIE;
BEL RHLID, RACHID;
MOODYCLIFFE, ANGUS y
DIONISI, FABIOLA**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 744 576 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 de ácido cicórico y bacteria láctica en suplemento alimenticio para aclarar y/o blanquear el tono de la piel

5 La presente invención se refiere generalmente al campo de los suplementos alimenticios para fin cosmético. Más específicamente, la presente invención tiene el objetivo de proporcionar el uso de un ingrediente que contiene ácido cicórico y/o derivados y un microorganismo y/o una enzima capaz de hidrolizar ácido cicórico y/o derivados del mismo para generar ácido tartárico y/o ácido cafeico, para aclarar y/o blanquear el tono de la piel. En particular, la presente invención tiene como objetivo mejorar el tono de la piel, así como proporcionar un agente de aclarado o blanqueamiento de la piel.

Antecedentes de la invención

10 El color de la piel se determina principalmente por la cantidad y el tipo de melanina, un pigmento marrón presente en la piel. Cantidades menores de melanina dan como resultado color de piel más claro, mientras que cantidades mayores dan como resultado color de piel más oscuro. Por tanto, la hiperpigmentación en la piel es causada por la expresión en exceso o acumulación de melanina en la piel. Como resultado, la vía implicada en la producción de melanina ha sido la diana de muchos inhibidores para reducir los niveles producidos. Una de las principales enzimas implicadas en la vía de melanina es la tirosinasa.

15 La síntesis de melanina es un proceso bajo control hormonal, que incluye la hormona estimuladora de melanocitos (MSH) y los péptidos de hormona adrenocorticotrópica (ACTH) que se producen a partir de la proopiomelanocortina precursora. Se simula por los daños del ADN que son causados también por radiaciones UVB.

20 Entonces, la exposición al sol con el tiempo puede inducir muchas reacciones bioquímicas en la piel, que conducen, por ejemplo, a quemadura solar y bronceado. Otras consecuencias de la exposición al sol se acumulan con el tiempo. Estos cambios pueden dar como resultado el desarrollo de manchas de la edad y crear un tono de piel desigual y manchado. Desafortunadamente, muchos de los productos comercialmente disponibles en el mercado actual son o bien solo marginalmente eficaces, o contienen agentes activos que son inestables y pierden su potencia cuando se incorporan en una fórmula final.

25 Es altamente deseada en la sociedad actual la capacidad para modificar la expresión del contenido de pigmentos en la piel, para promover un tono de la piel uniforme o un tono de la piel más claro. Muchas personas desean modificar su tono de la piel para reducir las manchas de la edad, etc., o por razones puramente cosméticas.

30 Como resultado, los esfuerzos para desarrollar composiciones eficaces se han centrado en agentes que inhiben la actividad de tirosinasa. Por ejemplo, se han propuesto una variedad de inhibidores de tirosinasa, tales como hidroquinona, vitamina C, cisteína, ácido kójico, arbutina y glutatión, entre otros, en composiciones tópicas. Por tanto, se ha sugerido que una variedad de composiciones dermatológicas mejora la apariencia de trastornos de la pigmentación tales como los observados en melasma, pecas, vitíligo, piebaldismo, fenilcetonuria y similares, y/o para fines cosméticos.

35 Por tanto, se ha expandido ampliamente el uso de composiciones de blanqueamiento de la piel. Sin embargo, o bien destruyen la melanina o bien inhiben su formación. Muchas de estas contienen productos químicos agresivos tales como peróxidos, ácidos o formaldehído, o materiales tiolados. Las terapias menos rigurosas tienen otras desventajas.

Se han sugerido retinoide tópico y corticosteroides tópicos como agentes de hipopigmentación, como el tratamiento con láser y exfoliaciones químicas, pero estos no proporcionan las respuestas deseadas.

40 Otras composiciones sugirieron el uso de materiales naturales en la piel, que en algunos casos se han usado durante siglos en Asia o Europa para blanquear la piel y áreas de la piel, o potenciar la apariencia de la piel clara. Estos incluyen el uso de limón, naranja, pepino, ginkgo, algarroba, rosa mosqueta, hierba de geranio, canela, mejorana dulce, romero, etc.

45 Para combatir los trastornos relacionados con el pigmento anormal o para aclarar el tono de la piel se han propuesto diversos compuestos que, cuando se aplican por vía tópica a la piel, son capaces de reducir la actividad de tirosinasa y, por consiguiente, limitar la producción de melanina. Desafortunadamente, los tratamientos actualmente disponibles no son completamente satisfactorios, en particular en términos de los efectos secundarios que frecuentemente se asocian a los mismos, tales como efectos secundarios irritantes con ciertos agentes tópicos.

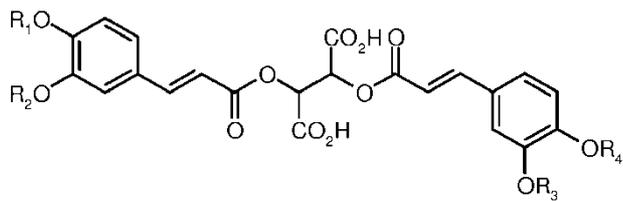
50 Así, sería altamente deseable tener preparaciones alternativas que no tuvieran los inconvenientes de aquellas descritas en el estado de la técnica. En particular, sería altamente deseable desarrollar composiciones cosméticas nutricionales para administrar por vía oral que tuvieran estabilidad mejorada y eficacia para promover un tono de la piel uniforme o para aclarar el tono de la piel.

El objeto de la presente invención es satisfacer estas necesidades.

Sumario

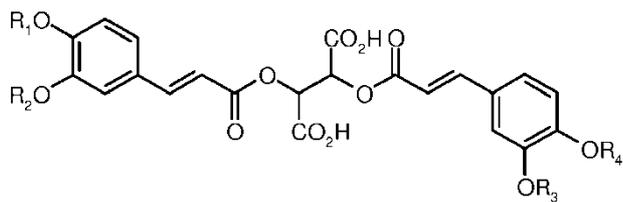
Los presentes inventores pudieron alcanzar el objetivo de aclarar y/o blanquear el tono de la piel proporcionando una composición de suplemento alimenticio que comprende al menos un ingrediente que contiene ácido cicórico y/o derivados del mismo, y una bacteria láctica y/o una enzima capaz de hidrolizar ácido cicórico y/o derivados del mismo para generar ácido tartárico y/o cafeico.

Así, según un primer objetivo, la presente invención se refiere a un uso cosmético de una cantidad eficaz de al menos un ingrediente que contiene ácido cicórico o derivados del mismo, en combinación con una bacteria ácido láctica y/o una enzima capaz de hidrolizar ácido cicórico para generar ácido tartárico o cafeico en un suplemento alimenticio oral, teniendo dichos derivados de ácido cicórico la fórmula:



en donde R₁, R₂, R₃ y/o R₄ son idénticos o se diferencian entre sí y se seleccionan del grupo que consiste en: H, CH₃, alquilo C₁-C₃, arilo, acilo C₁-C₃, aminoácidos, monosacáridos, disacáridos u oligosacáridos; para aclarar y/o blanquear el tono de la piel.

La presente invención también se refiere a un método cosmético de aclarado y/o blanqueamiento del tono de la piel, que comprende al menos una etapa de administrar, a un individuo, una cantidad eficaz de al menos un ingrediente que contiene ácido cicórico o derivados del mismo, en combinación con una bacteria ácido láctica y/o una enzima capaz de hidrolizar ácido cicórico para generar ácido tartárico o cafeico en un suplemento alimenticio, teniendo dichos derivados de ácido cicórico la fórmula:



en donde R₁, R₂, R₃ y/o R₄ son idénticos o se diferencian entre sí y se seleccionan del grupo que consiste en: H, CH₃, alquilo C₁-C₃, arilo, acilo C₁-C₃, aminoácidos, monosacáridos, disacáridos u oligosacáridos.

El presente documento describe además un uso cosmético de al menos un ingrediente que contiene ácido cicórico y/o derivados y una bacteria láctica y/o una enzima capaz de hidrolizar ácido cicórico y/o derivados del mismo para generar ácido tartárico y/o cafeico, para tratar y/o prevenir trastornos de la pigmentación de la piel. Dichos trastornos de la piel son en particular los debidos a la edad o a factores ambientales (por ejemplo, UV), tales como manchas de la edad. También pueden ser trastornos de la piel que se observan en melasma, pecas, vitiligo, piebaldismo, fenilcetonuria, y similares.

Los presentes inventores han descubierto que el ingrediente que contiene ácido cicórico tratado con una bacteria láctica suprime eficazmente la formación de melanina, melanogénesis, a pesar del hecho de que los extractos muestren poca o ninguna inhibición de la actividad de tirosinasa. Este resultado es sorprendente e inesperado considerando el papel fundamental de la tirosinasa en la melanogénesis y el enfoque de los esfuerzos de desarrollo en la técnica para inhibir esta enzima.

Con el fin de la presente invención, el término "piel" pretende significar la piel del rostro o del cuerpo.

Con el fin de la presente invención, el término "cantidad eficaz" pretende significar una cantidad suficiente para obtener el efecto esperado.

Con el fin de la presente invención, el término "prevenir" pretende significar el hecho de reducir el riesgo de que ocurra la manifestación del trastorno en consideración.

El presente documento describe además el uso cosmético del ingrediente anteriormente mencionado, como un agente activo para tratar y/o composición para prevenir las imperfecciones de la piel, en particular para mejorar el tono de la piel o la complejión de la piel.

El presente documento describe además el uso cosmético del ingrediente anteriormente mencionado, como un agente activo para tratar y/o prevenir las imperfecciones del pigmento de la piel. Como resultado, la complejón se vuelve más brillante y más homogénea, sin áreas de discromía o de sequedad.

5 Los presentes inventores también han descubierto que el ingrediente según la invención mejora además la función de hidratación y/o de barrera de la piel.

Un uso según la presente invención también puede comprender el uso de al menos un ingrediente que contiene ácido cicórico y/o derivados y una bacteria láctica y/o una enzima capaz de hidrolizar ácido cicórico para generar ácido tartárico y/o cafeico, en combinación con una cantidad eficaz de al menos un agente activo para mejorar aún más la hidratación de la piel o el envejecimiento de la piel, en particular como se describe en lo sucesivo.

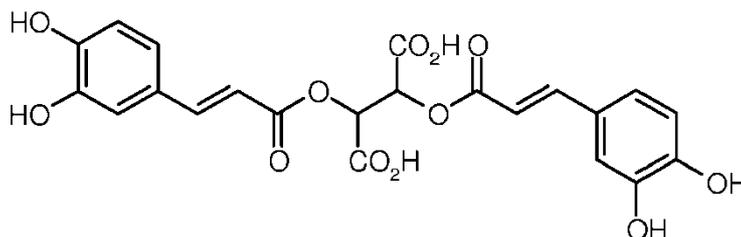
10 El presente documento describe además un método, en particular un método cosmético, de tratamiento y/o prevención de las imperfecciones del tono de la piel y los trastornos asociados a la hiperpigmentación, en particular trastornos estéticos, en un individuo, que comprende al menos una etapa de administrar, a dicho individuo, al menos un ingrediente que contiene ácido cicórico y/o derivados y una bacteria láctica y/o una enzima capaz de hidrolizar ácido cicórico y/o derivados del mismo para generar ácido tartárico y/o cafeico.

15 Las composiciones adecuadas para la presente invención son administrables por vía oral. Esto tiene la ventaja de que actúan globalmente en toda la piel, en sus capas profundas (dermis, hipodermis), por medio de un modo de administración rápido y relativamente no restrictivo. Específicamente, los metabolitos y otros nutrientes activos son en particular distribuidos dentro de la matriz dérmica por medio de la circulación sanguínea. La administración por vía oral también tiene la ventaja de un modo de administración rápido y relativamente no restrictivo.

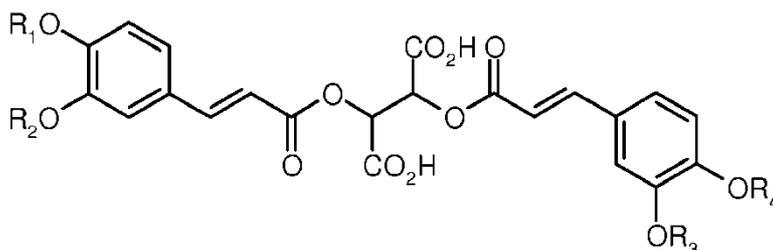
20 **Descripción detallada**

Ingrediente que contiene ácido cicórico y o derivados

El ácido cicórico es

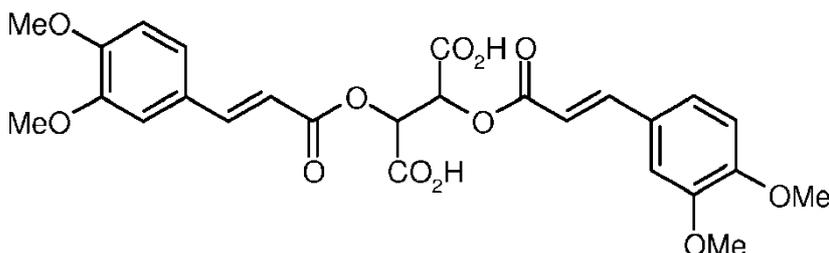


y derivados de ácido cicórico, en el sentido de la invención, son



25 en donde R₁, R₂, R₃ y/o R₄ pueden ser idénticos o se pueden diferenciar entre sí, y se seleccionan del grupo que consiste en H; CH₃; alquilo C₁-C₃; arilo, tal como fenilo, bencilo, toliilo, o-xililalquilo; acilo C₁-C₃; aminoácidos; mono-, di- u oligosacáridos. Los oligosacáridos contienen entre dos y nueve unidades de monosacárido. R₁, R₂, R₃ y R₄ pueden ser idénticos y/o se pueden diferenciar entre sí.

30 Un derivado típico de ácido cicórico es, por ejemplo, el siguiente compuesto:



El ingrediente que contiene ácido cicórico y/o derivados del mismo puede ser cualquier ingrediente que contenga ácido cicórico y/o derivados del mismo, ya sea naturalmente o en gorma añadida, pero preferentemente es un alimento natural tal como lechuga, endivia, diente de león, uva, orujo de uva; o combinaciones o extractos de los mismos.

- 5 En una realización, el material de planta se añade a la composición cosmética oral en forma de un extracto, tal como un extracto de endivia. El extracto de endivia se puede preparar a partir de cualquier parte adecuada del material de planta, incluyendo, por ejemplo, la raíz, la pulpa, similares o combinación de los mismos.

Los extractos de endivia adecuados con el fin de la presente invención también son extractos que están comercialmente disponibles, tales como, por ejemplo, Leroux MS55 (comercialmente disponible de Leroux SAS, Francia).

10 En una realización preferida particular de la presente invención, los extractos de endivia adecuados se pueden preparar por cualquier medio que se conozca en la técnica, por ejemplo, por extracción con vapor de agua, extracción con disolvente, destilación, compresión o trituración. En particular, el extracto es obtenible por extracción con un disolvente de material de planta de endivia, por una extracción con agua o una extracción con alcohol/agua, por ejemplo, por una extracción con etanol/agua o extracción con metanol/agua. El extracto se puede usar en forma líquida (por ejemplo, Leroux MS55, Leroux MS70) o forma de polvo (por ejemplo, Leroux Sol B).

15 Para facilitar la manipulación, el material de planta está preferentemente en una forma secada y triturada o en polvo. Como se describen a continuación, los procesos utilizan endivia secada endivia y/o extractos de la misma. Sin embargo, se debe entender que se puede usar cualquier material de planta adecuado en cualquier forma adecuada y añadir al producto según la presente invención.

20 El extracto se procesa de forma que se pueda potenciar su sabor. Por ejemplo, se pueden retirar sabores amargos que están normalmente asociados con materiales de planta, tales como la endivia, por procesamiento de la planta en un extracto. El extracto también se puede preparar de forma que la cantidad de agente bioactivo en el producto del extracto final se pueda controlar deseablemente.

25 Se debe apreciar que el material de planta se puede procesar para formar un extracto en una variedad de maneras diferentes y adecuadas. En general, el material de planta, tal como la raíz de la endivia, está molido, en polvo o se proporciona en cualquier forma adecuada. El material de planta se puede procesar entonces adicionalmente en varias etapas diferentes para producir el extracto del producto. En una realización, se realiza un procedimiento de desgrasado en el material de planta para producir un extracto que resulta de grasas eliminadas del material de planta. El procedimiento de desgrasado se puede realizar en cualquier condición adecuada del proceso de desgrasado con cualquier cantidad y tipo adecuado de disolventes que incluyen, por ejemplo, hexano.

30 En una realización, el extracto resultante del procedimiento de desgrasado se puede procesar adicionalmente mediante hidrólisis ácida para producir otro tipo de extracto de la planta que se puede añadir a la composición nutricional de la presente invención. El procedimiento de hidrólisis ácida se puede realizar en cualquier condición adecuada del proceso con cualquier cantidad y tipo adecuado de disolventes, que incluyen, por ejemplo, acetato de etilo.

35 En una realización, el extracto del procedimiento de desgrasado se puede procesar adicionalmente mediante un procedimiento de extracción con disolvente. La extracción con disolvente se puede llevar a cabo en cualquier condición adecuada del proceso y en presencia de cualquier tipo y cantidad adecuada de disolvente. En una realización, el disolvente incluye una disolución de metanol ("MeOH") y agua mezclados en una relación de volumen de 1:1. La disolución resultante del procedimiento de extracción con disolvente se puede procesar adicionalmente por evaporación del disolvente en condiciones adecuadas para producir otro extracto. Alternativamente, la disolución resultante se puede tratar con un agente adsorbente, tal como polivinilpirrolidona o similar, para atrapar polifenoles. El tratamiento de agente adsorbente se puede llevar a cabo en cualquier condición adecuada del proceso.

40 La cantidad de ácido cicórico o un extracto de planta que lo contiene en el producto dependerá de varios factores, tales como la naturaleza del extracto, la condición de la planta, la edad, condición y tamaño de la persona o animal a tratar, la frecuencia a la que el producto que se administrará y/o el tipo específico de trastorno o daño de la piel a tratar o prevenir o el efecto cosmético deseado.

45 Los presentes inventores han encontrado que la eficacia del ácido cicórico o un extracto que lo contenga según la presente invención es generalmente dependiente de la dosis y sigue una curva de respuesta a la dosis. Si generalmente se van a prevenir trastornos o daños de la piel y el producto se usará frecuentemente, en cantidades muy pequeñas de ácido cicórico o un extracto del mismo serán suficientes para alcanzar el efecto deseado. Si se va a tratar un trastorno grave del pigmento de la piel, serán más apropiadas mayores cantidades del ingrediente, aunque pequeñas cantidades también producirán un efecto.

50 En una realización preferida, el ingrediente se enriquece en ácido cicórico y/o derivados del mismo. Por ejemplo, el ingrediente y/o la composición pueden comprender ácido cicórico y/o derivados del mismo en una cantidad en el

intervalo de 0,001-99,99 % en peso de peso seco, preferentemente 0,1-50 % en peso de peso seco, más preferido 0,1-10 % en peso de peso seco. El ingrediente y/o la composición pueden comprender el microorganismo y/o la enzima capaz de hidrolizar ácido cicórico y/o derivados del mismo para generar ácido tartárico y/o cafeico en una cantidad en el intervalo de 0,001-99,99 % en peso de peso seco, preferentemente 0,1-50 % en peso de peso seco, lo más preferido 0,1-10 % en peso de peso seco.

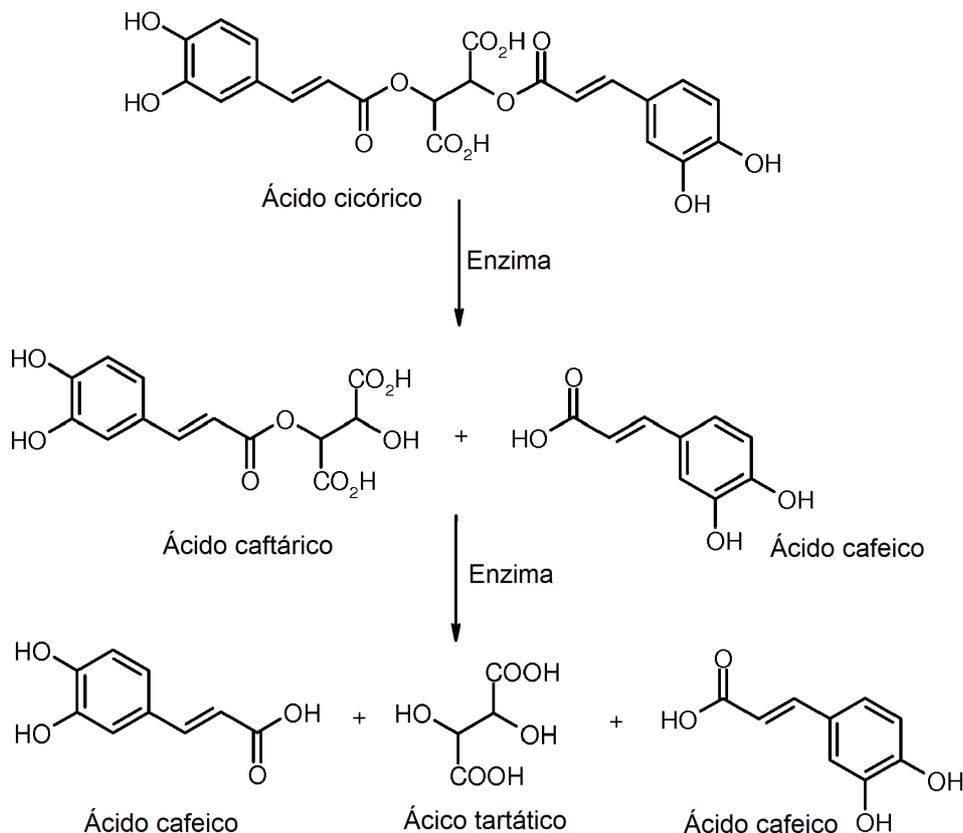
Generalmente, se prefiere si el producto contiene endivia o un extracto de la misma en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 0,1 g/L a 10 g/L, preferentemente en el intervalo de 0,5 g/L a 3 g/L del producto. Si la cantidad total de un producto no puede medirse en litros, se prefiere si el producto contiene endivia o un extracto de la misma en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 0,1 g/kg a 10 g/kg, preferentemente en el intervalo de 0,5 g/kg a 3 g/kg de producto. Preferentemente, el producto contiene endivia o un extracto de la misma en una dosis diaria de 0,01 g-100 g, preferentemente 0,25 g-10 g.

El ingrediente a mezclar con el ingrediente que contiene ácido cicórico y/o derivados del mismo comprende una bacteria ácido láctica y/o una enzima capaz de hidrolizar ácido cicórico y/o derivados del mismo para generar ácido tartárico y/o cafeico. Estos dos ingredientes se pueden mezclar brevemente antes del consumo o se pueden proporcionar como una composición lista para su consumo.

Microorganismos o enzima capaces de hidrolizar ácido cicórico

El ácido cicórico y/o sus derivados se pueden entonces hidrolizar por una bacteria ácido láctica capaz de hidrolizar ácido cicórico y/o derivados del mismo. Esta etapa de hidrólisis generará ácido tartárico y/o ácido cafeico.

Sin desear quedar ligado a teoría, los inventores creen que esta hidrólisis ocurre como se describe en el siguiente esquema. Obsérvese que todas las etapas de reacción catalizadas por la "enzima" también se pueden catalizar por la bacteria ácido láctica descrita en la presente solicitud y/o combinaciones de la bacteria ácido láctica y enzimas.



Los inventores han descubierto sorprendentemente que tratar un ingrediente que comprende ácido cicórico y/o derivados del mismo con una bacteria ácido láctica o una enzima capaz de hidrolizar ácido cicórico y/o derivados del mismo para generar ácido tartárico y/o cafeico resulta, por ejemplo, en una actividad mejorada del ingrediente.

Además, se ha encontrado que este tratamiento puede tener lugar *in vivo* cuando un humano o un animal ingiere una composición que comprende ácido cicórico y/o derivados del mismo en combinación con una bacteria ácido láctica capaz de hidrolizar ácidos clorogénicos para generar ácidos fenólicos.

Una bacteria ácido láctica preferida capaz de hidrolizar ácido cicórico y/o derivados del mismo para generar ácido tartárico y/o cafeico es una bacteria ácido láctica probiótica que tiene una actividad de esterasa, tal como clorogenato esterasa y/o feruloil esterasa, preferentemente *Lactobacillus* o *Bifidobacterium*, por ejemplo *L. johnsonii*, *B. longum* y *B. lactis* (CNCM I-3446), aun más preferido *Lactobacillus johnsonii* La1 (CNCM I-1225), *B. longum* BB 536 y *B. lactis* BB12.

B. longum BB 536 está comercialmente disponible de Morinaga Nutritional Foods, Inc.

B. lactis BB12 está comercialmente disponible, por ejemplo, de Chr. Hansen, DK-2970 Horsholm.

En una realización de la presente invención, la bacteria ácido láctica se pueden usar en una forma no replicante.

Se puede probar la capacidad de una bacteria ácido láctica o de una fracción de la misma para hidrolizar ácido cicórico como se describe en detalle para *L. johnsonii* en los ejemplos.

En otra realización, se añade además una enzima capaz de hidrolizar ácido cicórico para generar ácido tartárico y/o cafeico a la bacteria ácido láctica. Preferentemente, dicha enzima se selecciona del grupo que consiste en esterases, tales como clorogenato esterasa, tanasa y/o feruloil esterasa. Se puede añadir en una cantidad tal que preferentemente al menos 5 %, tal como al menos 30 %, al menos 50 %, o al menos 75 % del ácido cicórico presente en la composición se hidrolice antes y/o durante el consumo.

Las enzimas adecuadas que se pueden usar en el marco de la presente invención incluyen, por ejemplo, esterases, por ejemplo, clorogenato esterasa derivada de *Aspergillus japonicus* (comercialmente disponible de Kikkoman, Japón) y tanasa de *Aspergillus oryzae* (EC 3.1.1.20) (comercialmente disponible de Kikkoman, Japón). La enzima puede estar presente como una enzima purificada (inmovilizada o no) o, por ejemplo, en forma de un lisado celular de un microorganismo. Las células adecuadas pueden ser, por ejemplo, células de los microorganismos mencionados anteriormente. Se conocen en la técnica métodos adecuados para producir un lisado celular.

La composición y/o los ingredientes adecuados para la invención se deben formular de forma que la cepa de la bacteria ácido láctica no fermente ni reaccione con la composición durante el almacenamiento. Esto se puede lograr, por ejemplo, formulando la composición como un polvo seco y/o encapsulando la bacteria ácido láctica de manera que solo se libere cuando la composición se mezcla con al menos otro ingrediente o durante la digestión.

La bacteria ácido láctica debe estar presente en una cantidad suficiente para hidrolizar una cantidad sustancial de ácido cicórico para generar ácido tartárico y/o cafeico durante la digestión. La cantidad de bacteria ácido láctica y/o enzima necesaria se puede determinar, por ejemplo, por los expertos en la técnica, por ejemplo, dependiendo del sujeto a tratar o de la velocidad a la que se debería liberar el ácido tartárico y/o cafeico. Preferentemente, al menos 5 %, tal como al menos 30 %, al menos 50 % o al menos 75 % del ácido cicórico presente en la composición se hidroliza antes y/o durante el consumo.

Las composiciones adecuadas para la invención pueden estar en cualquiera de las formas galénicas normalmente disponibles para el método de administración seleccionado.

Formas galénicas

Las composiciones adecuadas para la invención pueden estar en cualquiera de las formas galénicas normalmente disponibles para el método de administración seleccionado. El vehículo puede ser de naturaleza diversa, dependiendo del tipo de composición en consideración.

Un suplemento alimenticio para la administración por vía oral puede estar presente en cápsulas, cápsulas de gelatina, cápsulas blandas, comprimidos, comprimidos recubiertos de azúcar, píldoras, pastas o pastillas, gomas o disoluciones o emulsiones bebibles, un jarabe o un gel. Dicho suplemento podría también incluir un edulcorante, un estabilizador, un antioxidante, un aditivo, un agente saborizante y/o un colorante. La formulación del mismo se lleva a cabo por medio de los métodos usuales para producir comprimidos recubiertos de azúcar, cápsulas de gel, geles, hidrogeles para liberación controlada, emulsiones, comprimidos o cápsulas.

El presente documento describe además un kit para tratar y/o prevenir trastornos de la pigmentación de la piel y/o imperfecciones de la piel que comprende un tratamiento por vía oral con una composición que contiene al menos un ingrediente que contiene ácido cicórico y/o derivados y una bacteria ácido láctica y/o enzima capaz de hidrolizar ácido cicórico para generar ácido tartárico y/o cafeico en un suplemento alimenticio, combinado con un suplemento alimenticio oral o composición tópica que contiene opcionalmente un microorganismo probiótico en forma muerta, viva o semi-activa, o un agente hidratante o antienvjecimiento.

El kit descrito para preparar un suplemento alimenticio comprende al menos dos partes:

- a) una primera parte que comprende un ingrediente que contiene ácido cicórico y/o derivados del mismo; y
- b) una segunda parte que comprende una bacteria ácido láctica y/o una enzima capaz de hidrolizar ácido cicórico y/o derivados del mismo para generar ácido tartárico y/o cafeico.

Los expertos en la técnica entenderán que pueden combinar libremente todas las características de la presente invención descritas en el presente documento sin apartarse del alcance de la invención como se desvela. En particular, las características descritas para los usos de la presente invención se pueden aplicar a la composición y/o al kit adecuados para la presente invención y viceversa.

5 **Uso**

Los productos adecuados para la invención se pueden usar eficientemente para tratar o prevenir trastornos de la pigmentación de la piel o aclarar cosméticamente el tono de la piel, por ejemplo, disminuyendo la producción de melanina. De hecho, se mostró que el ingrediente que contiene ácido cicórico tratado con la bacteria probiótica La-1 redujo *in vitro* la síntesis de melanina (Ejemplo 1, Figura 1). La producción de tirosinasa también disminuyó pero hasta un grado limitado (Figura 2), sugiriendo que la disminución en melanina no se debió a la inhibición de tirosinasa, sino a mecanismos que actúan corriente arriba o corriente abajo de esta enzima.

Las composiciones adecuadas para la presente invención tienen además un efecto positivo en fortalecer la barrera de la piel y mantener la hidratación de la piel.

Como resultado, se reducen las imperfecciones del pigmento, la complejión se vuelve más brillante y más homogénea, sin áreas de discromía o de sequedad.

Así, el presente documento describe además el uso cosmético de una cantidad eficaz de al menos un ingrediente que contiene ácido cicórico y/o derivados y una bacteria láctica y/o una enzima capaz de hidrolizar ácido cicórico y/o derivados del mismo para generar ácido tartárico y/o caféico, como un agente activo para tratar y/o prevenir trastornos de la pigmentación de la piel, en particular aquellos debidos a la edad o factores ambientales tales como UV.

Las presentes composiciones también se pueden usar como agente activo para blanquear o aclarar el tono de la piel, que es particularmente deseable para la población asiática.

Un uso según la presente invención también puede comprender el uso de las composiciones en combinación con una cantidad efectiva de al menos un agente activo para mejorar la hidratación de la piel o el envejecimiento de la piel, en particular como se describe en lo sucesivo.

Por tanto, el presente documento describe además un método, en particular un método cosmético, para tratar y/o prevenir imperfecciones del tono de la piel y los trastornos asociados a la hiperpigmentación, en particular trastornos estéticos, en un individuo, que comprende al menos una etapa de administrar, a dicho individuo, las composiciones que se han descrito anteriormente.

El método de tratamiento cosmético de la invención se puede llevar a cabo en particular por la administración por vía oral de la composición que se ha descrito anteriormente. La administración por vía oral comprende ingerir, en una o más ingestas, una composición oral que se ha definido anteriormente.

Puede comprender una administración única. Según otra realización, la administración se repite, por ejemplo, 2 a 3 veces al día, durante un día o más, y generalmente durante un periodo sostenido de al menos 4, o incluso 1 a 15, semanas.

Además, se pueden prever combinaciones de tratamiento opcionalmente con formas orales o tópicas para complementar o reforzar la actividad de las composiciones como se definen en la invención.

Así, se puede imaginar como un kit un tratamiento tópico u oral con una composición que contiene ácido cicórico según la invención, combinado con una composición oral o tópica que contiene opcionalmente otro principio activo, en particular un microorganismo probiótico, u otros probióticos en forma muerta, viva o semi-activa o un agente hidratante o antienvjecimiento. Los ingredientes se mezclan, antes de ser formulados, en el orden y en las condiciones fácilmente determinadas por los expertos en la técnica.

Los ingredientes se mezclan, antes de ser formulados, en el orden y en las condiciones fácilmente determinadas por los expertos en la técnica.

Otras ventajas y características de la presente invención son evidentes a partir de los siguientes Ejemplos y Figuras. Los ejemplos en lo sucesivo son así presentados a modo de ilustración no limitante del campo de la invención. En estos ejemplos, a menos que se indique lo contrario, los porcentajes son porcentajes en peso y los intervalos de valores escritos en la forma "entre... y..." incluyen los límites superior e inferior especificados. El término "ufc" denota "unidad de formadora de colonias". Esta es la unidad de medida usada para cuantificar bacterias vivas.

50 **Figuras**

Figura 1: Producción de melanina por melanocitos murinos pretratados con ácido cicórico + La1 frente a controles (positivo/negativo).

Figura 2: Producción de tirosinasa por melanocitos murinos pretratados con ácido cicórico + La1 frente a controles (positivo/negativo).

Figura 3: Síntesis de filagrina por queratinocitos epidérmicos primarios humanos pretratados con ácido cicórico + La1 frente a controles (positivo/negativo).

5 **EJEMPLOS**

Ejemplo 1: Hidrólisis de ácido cicórico

1- Hidrólisis de ácido cicórico con clorogenato esterasa

Se añadió una disolución de clorogenato esterasa (0,8 mg, 24 U/g, de Kikkoman Japan) en 100 µL de tampón fosfato (50 mM, pH 7,0) a una disolución de ácido cicórico (0,57 mg) en 100 µL de tampón fosfato (50 mM, pH 7,0).
 10 Entonces, la mezcla se incubó a 37 °C durante 4 h. Después del tiempo de reacción, se detuvo la actividad enzimática mediante un tratamiento térmico (5 min, 90 °C) y se centrifugó la mezcla (Microcon YM10, 30 min, 14000 g). Entonces se analizó el sobrenadante por HPLC. Se llevó a cabo en paralelo en las mismas condiciones de reacción una reacción de control, pero sin la enzima.

2- Hidrólisis de ácido cicórico con células nuevas de *L. johnsonii* (La1)

15 Se cultivaron células de *L. johnsonii* (CNCM I-1225) (7,0 E08 ufc/mL) y se centrifugaron (5000 g, 10 min), los sedimentos se resuspendieron en tampón fosfato (50 mM, pH 7,0) a una concentración de 0,61 g/mL. A 100 µL de esta disolución de células se añadieron 100 µL de una disolución de ácido cicórico (12 mM) y la mezcla se incubó a 37 °C. Se extrajeron muestras en diferentes tiempos de reacción, se centrifugaron (3000 g, 5 min), se filtraron a través de filtros de jeringa de 0,45 µm de tamaño de poros (Millipore SLHA 025 BS) y se analizaron por HPLC.

20 Se llevó a cabo en paralelo en las mismas condiciones de reacción una reacción de control, pero sin bacteria.

3- Hidrólisis de ácido cicórico con extracto de *L. johnsonii* (células lisadas)

25 Se cultivaron células de *L. johnsonii* (CNCM I-1225) (7,0 E08 ufc/mL) y se centrifugaron (5000 g, 10 min), los sedimentos se resuspendieron en tampón fosfato (50 mM, pH 7,0) a una concentración de 0,61 g/mL. Entonces se lisaron las células usando el método de perlas de vidrio. Se pusieron 600 µL de preparación de células en un Mini-Beadbeater durante 1 min de agitación intensa, se enfriaron en hielo, y se pusieron otro 1 min en el Mini-Beadbeater. Entonces se añadió el extracto de células en bruto (100 µL) a 100 µL de una disolución de ácido cicórico (12 mM, tampón fosfato 50 mM, pH 7,0) y la mezcla se incubó a 37 °C. Se extrajeron muestras a diferentes tiempos de reacción, se centrifugaron (3000 g, 5 min), se filtraron a través de filtros de jeringa de 0,45 µm de tamaño de poros (Millipore SLHA 025 BS) y se analizaron por HPLC.

30 4- Hidrólisis de ácido cicórico con una preparación secada por pulverización de La1

35 Se disolvieron 10 mg de una preparación secada por pulverización de La1 (3,3 E09 ufc/g) en 100 µL de tampón fosfato (50 mM, pH 7,0). A esta disolución se añadieron 100 µL de una disolución de ácido cicórico (12 mM, tampón fosfato 50 mM, pH 7,0). Entonces se incubó la mezcla a 37 °C y se extrajeron muestras a diferentes tiempos de reacción. Después de la centrifugación (3000 g, 5 min) y filtración (filtros de jeringa de 0,45 µm de tamaño de poros, Millipore SLHA 025 BS), las muestras se analizaron por HPLC.

Análisis de HPLC

40 Se realizó análisis de HPLC-DAD de ácido cicórico y productos de hidrólisis en el sistema Agilent 1100 equipado con la columna de fase inversa Atlantis C18 (4,6 x 100 mm, tamaño de partículas 3 µm) y un detector de matriz de diodos. La columna se equilibró con agua que contenía 0,1 % de ácido fórmico. Después de la inyección, se realizó un gradiente lineal hasta una composición de disolvente final de 55 % de agua y 45 % de acetonitrilo (que contiene 0,1 % de ácido fórmico) en el plazo de 12 min a un caudal de 1 mL/min. Se monitorizaron ácido cicórico y ácido cafeico por UV a 320 nm y se cuantificaron usando curvas de calibración estándar.

RESULTADOS

Bacterias probadas

45 Tabla 1

Bacteria	Medios de cultivo
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG (NCC 4007)	MRS
<i>Lactobacillus johnsonii</i> La1 (CNCM I-1225)	MRS

Bacteria	Medios de cultivo
<i>Lactobacillus paracasei</i> ST11 (NCC 2461)	MRS + Cisteína
<i>Bifidobacterium longum</i> BB 536 (ATCC BAA-999)	MRS + Cisteína
<i>Bifidobacterium lactis</i> BB12 (CNCM I-3446)	MRS
<i>Streptococcus thermophilus</i> TH4 (NCC 2496)	HJL

En particular, *L. johnsonii* (La1), *B. longum* BB 536 y *B. lactis* BB12 fueron capaces de hidrolizar ácido cicórico. Los mejores resultados en términos de velocidad de reacción y rendimiento de reacción se obtuvieron con *L. johnsonii* (La1)

5 Enzimas probadas

Tabla 2

Enzima	Proveedor
Clorogenato esterasa	Kikkoman, Japón
Feruloil esterasa	Novozymes
Esterasa de hígado porcino	Sigma E-3019
Esterasa de hígado de cerdo inmovilizada en Eupergit C	Fluka 46064
Esterasa de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Fluka 46071
Esterasa de <i>L. johnsonii</i> (La1) CNCM I-1225	Producción interna

La clorogenato esterasa, feruloil esterasa y esterasa La1 fueron capaces de hidrolizar el ácido cicórico en ácidos cafeico y tartárico.

10 1- Hidrólisis de ácido cicórico con clorogenato esterasa

Tabla 3: Hidrólisis de ácido cicórico en ácidos cafeico y caftárico por clorogenato esterasa. Concentración en % con respecto a referencia sin tratar a t=0

Tabla 3

Tiempo (min)	0	15	30	60	120	240
Acido cicórico	98	85	83	77	65	50
Acido caftárico	0	6	7	10	16	24
Acido cafeico	2	9	10	13	19	26

15 2- Hidrólisis de ácido cicórico con células nuevas de La1

Después de 4 h de tiempo de reacción, se transformó todo el ácido cicórico en ácido cafeico y ácido tartárico como se analiza por HPLC.

3- Hidrólisis de ácido cicórico con extracto de La1 (células lisadas)

20 En comparación con las células completas, la hidrólisis de ácido cicórico con células lisadas produjo un aumento de la velocidad de reacción. De hecho, después de solo 2 h, todo el ácido cicórico se transformó en ácidos cafeico y tartáricos

4- Hidrólisis de ácido cicórico con una preparación secada por pulverización de La1

Tabla 4: Hidrólisis de ácido cicórico en ácidos cafeico y caftárico por una preparación secada por pulverización de *L. johnsonii* (CNCM I-1225). Concentración en % con respecto a referencia sin tratar a t=0

Tabla 4

	0 min	15 min	30 min	1 h	2 h	3 h
Ácido cítrico (mmoles)	365	172	137	91	49	23
Ácido ascórbico (mmoles)	0	62	63	50	31	15
Ácido cafeico (mmoles)	0	324	393	498	601	669

Ejemplo 2: Efecto sobre la pigmentación de la piel

5 Para evaluar el posible efecto beneficioso de los ingredientes hacia la despigmentación o propigmentación de la piel, los presentes inventores usaron un cultivo 2D de melanocitos murinos (B16) y realizaron 2 pruebas: 1- evaluación de la producción de melanina y 2- evaluación de la producción de tirosinasa.

1. Las condiciones del cultivo celular.

Se cultivaron células B16 en DMEM 1 g/L de glucosa sin rojo fenol complementado con 10 % de suero de ternera fetal, en una cámara humedecida a 37 °C y que contenía 5 % de CO₂.

10 2. La producción de melanina por la línea celular de melanocitos murinos B16.

Se incubaron células con los ingredientes seleccionados o las referencias de prueba (ácido cítrico a 400 µg/mL) durante 72 horas, en presencia o ausencia de NDP-MSH, un análogo de MSH. Se evaluó la cantidad total de melanina (extracelular e intracelular) por medición de la densidad óptica a 405 nm de cada muestra contra patrones de melanina en presencia o en ausencia de NDP-MSH.

15 3. La producción de tirosinasa por la línea celular de melanocitos murinos B16.

Se incubaron células con los ingredientes seleccionados o las referencias de prueba (ácido cítrico a 400 µg/mL) durante 48 horas. Se evaluó la producción de tirosinasa por inmunomarcado.

Ingredientes:

20 Los ingredientes seleccionados se enumeran en la Tabla 1 a continuación. El ácido cítrico ha sido pretratado con La-1 [(cultivo de *Lactobacillus johnsonii* CNCM I-1225 secado por pulverización, 1,19E10 ufc/g) durante 24 horas en una termomezcladora a 40 °C, en condiciones de agitación. Después de la incubación, las muestras se centrifugaron 5 minutos a 3000 g. Después de este tratamiento, el probiótico como tal ya no estaba presente en la muestra, sin embargo, no se puede excluir la presencia de sus metabolitos. También se indican las concentraciones probadas de ácido cítrico en la Tabla 5.

25 Tabla 5

Ingrediente	Conc. no citotóxica más alta en HDF (mg/mL)	Conc. no citotóxica más alta en HPEK (mg/mL)	Conc. probada en HDF (mg/mL)	Conc. probada en HPEK (mg/mL)
MS55 10 mg/mL en NaPO ₄ 10 mM pH 7,0 + 10 mg/mL de La1	2	10	0,4	10
Ácido cítrico 10 mM, es decir, 4,74 mg/mL + 60 mg de La1	0,2 mM	0,04 mM	0,2 mM	0,04 mM
La-1 (10EE11 ufc/g)	0,01	0,01	0,01	0,01

Resultados

30 Los resultados se expresan en porcentaje con respecto al control. La referencia de prueba (ácido cítrico) indujo, como era de esperar, una disminución en el contenido de melanina. La Figura 1 muestra la producción de melanina por melanocitos B16 tratados durante 72 horas con los ingredientes seleccionados.

El ácido cítrico tratado con el probiótico CNCM I-1225 pareció ser eficiente para la despigmentación de la piel. De hecho, el ácido cítrico tratado con el probiótico disminuyó la producción de melanina en 90 % (Figura 1). La producción de tirosinasa también disminuyó por este ingrediente, pero hasta un grado limitado (inferior a 20 %,

Figura 2), sugiriendo que la disminución en la melanina no era debida a la inhibición de tirosinasa, sino a mecanismos que actúan corriente arriba o corriente abajo de esta enzima.

Ejemplo 3: Efecto sobre la función de barrera de la piel e hidratación

5 Se evaluó el posible efecto beneficioso de los extractos del Ejemplo 2 hacia la función de barrera de la piel y la hidratación de la piel usando un cultivo 2D de queratinocitos epidérmicos primarios humanos y los presentes inventores evaluaron su síntesis de filagrina después del tratamiento con ingredientes seleccionados.

Las condiciones del cultivo celular.

Se cultivaron queratinocitos epidérmicos humanos en medio de queratinocitos-SFM de control, en una cámara humidificada a 37 °C y que contenía 5 % de CO2.

10 La síntesis de filagrina por queratinocitos epidérmicos humanos.

Se incubaron células con los ingredientes seleccionados o las referencias de prueba (CaCl2 a 1,5mM) durante 144 horas. Se evaluó la producción de filagrina por inmunomarcado.

Resultados

15 Los resultados se muestran en la Figura 3. El pretratamiento de las células con ácido cítrico + La1 mostró un aumento significativo de filagrina (500 % del control, Figura 3), sugiriendo que estos extractos pudieron fortalecer la barrera de la piel. Una barrera de la piel más fuerte asegura una mejor protección del cuerpo del entorno y ataque de patógenos. También limita la pérdida de agua a través de la epidermis, asegurando así una hidratación apropiada de la piel.

Ejemplo 4: Cápsula

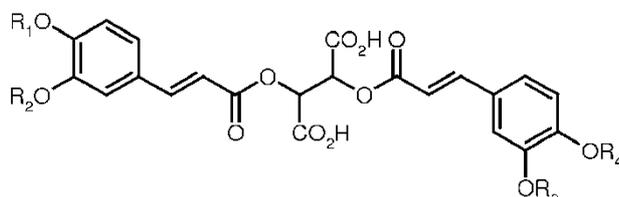
Ingredientes	Cantidad
	mg/cápsula
Extracto de endivia	300
<i>Lactobacillus johnsonii</i> CNCM I-1225	10 ⁹ ufc
Vitamina C	60
Estearato de magnesio	0,02

20

Pueden tomarse de una a tres de estas cápsulas al día.

REIVINDICACIONES

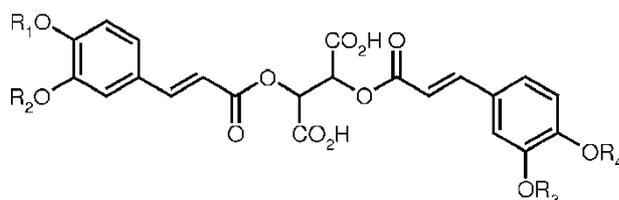
- 5 1. Uso cosmético de una cantidad eficaz de al menos un ingrediente que contiene ácido cicórico o derivados del mismo, en combinación con una bacteria ácido láctica y/o una enzima capaz de hidrolizar ácido cicórico para generar ácido tartárico o cafeico en un suplemento alimenticio oral, teniendo dichos derivados de ácido cicórico la fórmula:



en donde R_1 , R_2 , R_3 y/o R_4 son idénticos o se diferencian entre sí y se seleccionan del grupo que consiste en: H, CH_3 , alquilo C_1 - C_3 , arilo, acilo C_1 - C_3 , aminoácidos, monosacáridos, disacáridos u oligosacáridos;

para aclarar y/o blanquear el tono de la piel.

- 10 2. Uso cosmético según reivindicación 1, en donde el ingrediente que contiene ácido cicórico es un alimento natural tal como lechuga, endivia, diente de león, uva, orujo de uva; o combinaciones o extractos de los mismos.
3. Uso cosmético según una de las reivindicaciones precedentes, que contiene además una enzima capaz de hidrolizar ácido cicórico para generar ácido tartárico y/o cafeico.
- 15 4. Uso cosmético según una de las reivindicaciones precedentes, en donde la bacteria ácido láctica capaz de hidrolizar ácido cicórico para generar ácido tartárico y/o cafeico es una bacteria ácido láctica probiótica que tiene una actividad de esterasa, tal como actividad de clorogenato esterasa y/o feruloil esterasa.
5. Uso cosmético según una de las reivindicaciones precedentes, en donde la bacteria ácido láctica se selecciona del grupo que consiste en *L. johnsonii*, *B. longum* y *B. lactis*, en particular *Lactobacillus johnsonii* (CNCM I-1225), *B. longum* BB 536, *B. lactis* (CNCM I-3446) y *B. lactis* BB12.
- 20 6. Método cosmético de aclarado y/o blanqueamiento del tono de la piel, que comprende al menos una etapa de administrar, a un individuo, una cantidad eficaz de al menos un ingrediente que contiene ácido cicórico o derivados del mismo, en combinación con una bacteria ácido láctica y/o una enzima capaz de hidrolizar ácido cicórico para generar ácido tartárico o cafeico en un suplemento alimenticio, teniendo dichos derivados de ácido cicórico la fórmula:



- 25 en donde R_1 , R_2 , R_3 y/o R_4 son idénticos o se diferencian entre sí y se seleccionan del grupo que consiste en: H, CH_3 , alquilo C_1 - C_3 , arilo, acilo C_1 - C_3 , aminoácidos, monosacáridos, disacáridos u oligosacáridos.

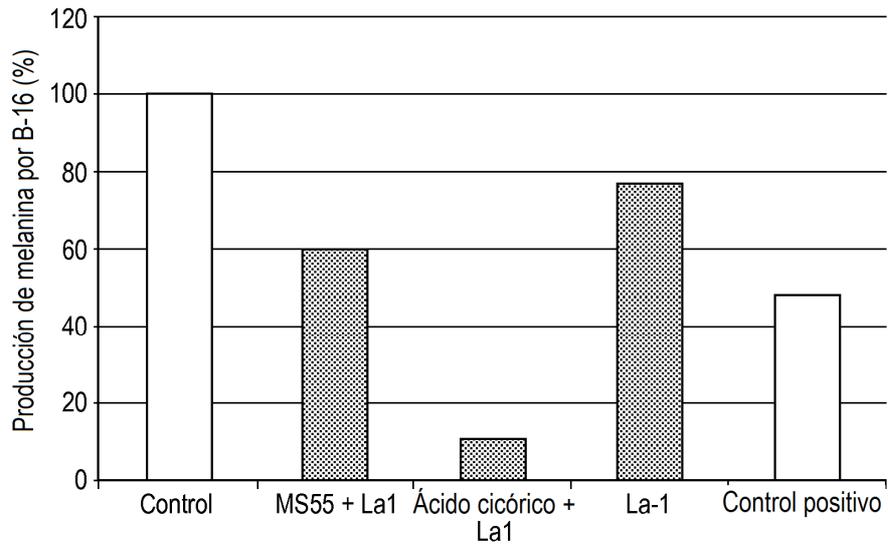


FIG. 1

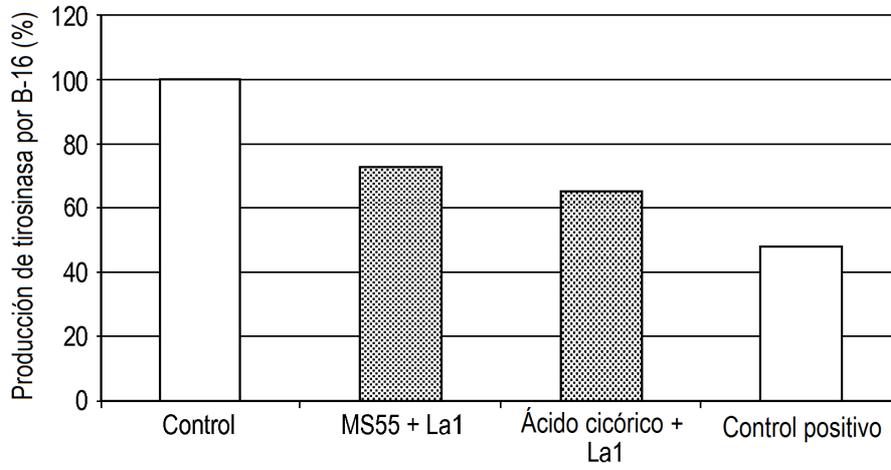


FIG. 2

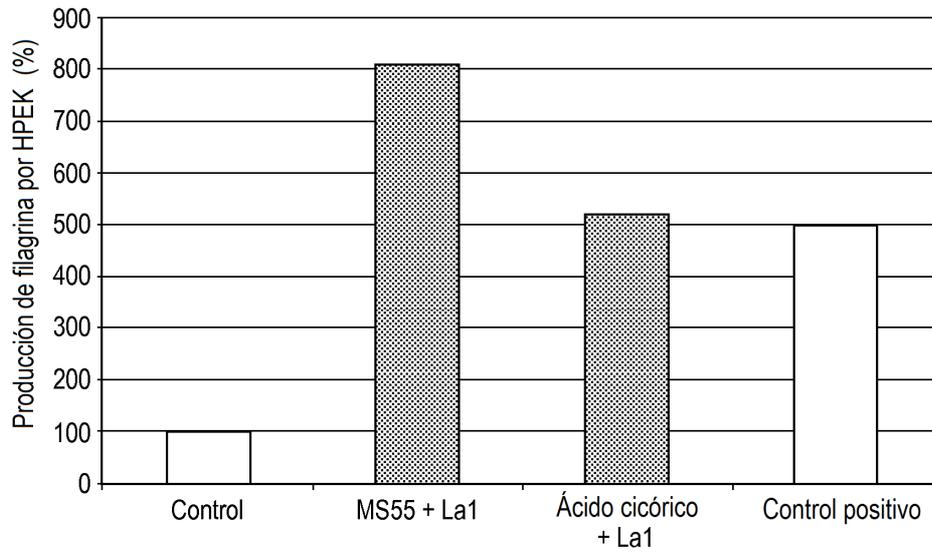


FIG. 3