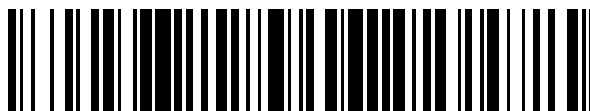


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 784 435**

51 Int. Cl.:

A61K 8/9706 (2007.01)
A61Q 19/02 (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01)
A61K 8/92 (2006.01)
A61K 8/04 (2006.01)
A61K 8/11 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.04.2017 PCT/EP2017/058131**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **12.10.2017 WO17174666**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.04.2017 E 17714495 (3)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.03.2020 EP 3439744**

54 Título: **Composiciones de chlorella y sus usos para reducir las ojeras**

30 Prioridad:

06.04.2016 EP 16382150

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
25.09.2020

73 Titular/es:

INFINITEC ACTIVOS, S.L. (100.0%)
Can Parellada 22, Nave 2-3
08170 Montornés del Vallès (Barcelona), ES

72 Inventor/es:

MOURELLE MANCINI, MARISABEL y
VASCONCELOS PACHECO, AIMÉE

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

Observaciones:

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

ES 2 784 435 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones de chlorella y sus usos para reducir las ojeras

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere en general al campo de tratamiento cosmético de las ojeras, y particularmente a composiciones de lípidos que contienen la *Chlorella vulgaris* y de a su utilidad en la mejora de las ojeras. La presente invención también proporciona métodos para preparar dichas composiciones.

10

Antecedentes

La presencia de los círculos oscuros bajo los ojos (ojeras), a menudo referidos como hipermelanosis periorbitaria, es una queja cosmética común en todo el mundo. Hiperpigmentación periorbitaria se define como máculas hipercrómicas homogéneas bilaterales y parches que implican principalmente los párpados inferiores de piel fina y también a veces se extienden hacia los párpados superiores, las cejas, las regiones malares, regiones temporal y la raíz nasal lateral. La edad de inicio es generalmente después de la pubertad o en la adultez temprana (16-25 años). Es más pronunciada en ciertos grupos étnicos y también se observa con frecuencia en varios miembros de una misma familia. Aunque no es raro en los hombres, las mujeres se ven afectadas en mayor medida debido a factores hormonales. Las ojeras son una preocupación importante para muchas personas, especialmente las mujeres, en algunos casos, incluso conducen a un deterioro en la calidad de vida.

15

20

25

30

35

Los círculos oscuros bajo los ojos (ojeras) pueden ser causados por una amplia variedad de factores, algunos de los cuales no son de naturaleza patológica, otros de los cuales si son de naturaleza patológica. Ejemplos de factores que conducen a las ojeras son la falta de sueño; estrés; fatiga; deshidratación; envejecimiento de la piel, principalmente envejecimiento cronológico, pero también fotoenvejecimiento; translucidez de la piel; expresiones faciales excesivas; la carcasa de la laxitud; desaceleración de microcirculación de la sangre o el estancamiento de la sangre, ya sea temporal, especialmente por la noche, lo que conduce a la formación de una congestión vascular transitoria o permanente o de reserva debajo de los ojos y una acumulación de pigmentos sanguíneos en el tejido conjuntivo, o patológica; vasodilatación; la exposición externa a factores tales como los rayos de calor, de tabaco o de UV; localización superficial de la vasculatura; el roce del ojo, lo que crea un traumatismo superficial permanente, tales como la alergia provocada al frotarse los ojos o crónica del roce; hiperpigmentación, tal como la resultante de lesiones no inflamatorias del área periorbital por ejemplo melasma, lentigo simple, efélides, nevos de unión, lentigos solares ("manchas del hígado") o nevos o condiciones sistémicas como trastornos metabólicos y endocrinos, o la que resulta de la inflamación, particularmente condiciones inflamatorias que alteran la unión dermo-epidérmica profunda; estrés oxidativo; dermatitis de contacto alérgica; anemia; edema periorbital.

40

Diversos cosméticos, tratamientos terapéuticos / quirúrgico y laser se emplean para mejorar la apariencia facial no deseada resultante de las ojeras. El láser y tratamientos quirúrgicos especialmente, a menudo, son invasivos para la persona que recibe el tratamiento. Por otro lado, la mayoría de los productos cosméticos diseñados para el tratamiento de las ojeras están teñidos con pigmentos de varios colores para cubrir más o compensar la oscuridad de los círculos y reflejan la luz incidente. Ellos simplemente cubren las ojeras existentes.

45

El uso de microalgas verdes o sus extractos en composiciones cosméticas para mejorar la apariencia de la piel es conocida. La presente invención se refiere en particular a composiciones de algas del género *Chlorella*. *Chlorella* ocurre tanto en agua dulce como agua marina, y tiene el mayor contenido de clorofila de cualquier planta conocida. También contiene vitaminas, por ejemplo, provitamina A, vitaminas B1, B2, B6, niacina, Bi2, biotina, vitamina C, vitamina K, ácido pantoténico, ácido fólico, colina, ácido lipoico, inositol, PABA; minerales, por ejemplo, P, K, Mg, S, Fe, Ca, Mn, Cu, Zn y Co; fibra dietética; ácidos nucleicos; y aminoácidos.

50

El uso de algas *Chlorella* ha sido reportado en la literatura. Por ejemplo, FR 1 125 342 reportó el uso de *Chlorella* en productos cosméticos tales como cremas.

55

Existe una necesidad continua de desarrollar composiciones y métodos que mejoren la apariencia de la piel, y en el contexto de la presente invención, reducir las ojeras de una manera no invasiva y eficaz.

60

Las composiciones y métodos de la invención están destinados a tratar las ojeras (es decir, máculas, homogéneas hipercrómicas bilaterales y parches en el área de los ojos) sin afectar cualquier posible condición patológica que puede ser la base de la aparición de dichas ojeras. Es decir, las composiciones y métodos de la invención tratan el efecto estético de las ojeras pero no sus causas patológicas

Resumen de la invención

65

Los autores de la presente invención sorprendentemente han encontrado que composiciones específicas que comprenden *Chlorella vulgaris* son capaces de reducir las ojeras en mayor grado que otras composiciones de *Chlorella vulgaris*.

En particular, en un primer aspecto, la presente invención está dirigida a una partícula que comprende:

- Un primer componente lipídico, en la que el punto de fusión está comprendido en el intervalo 7°C to 25°C, y se selecciona de aceite de semilla de uva;
- Un segundo componente lipídico, en la que el punto de fusión está comprendido en el intervalo 26°C to 36°C, y se selecciona de manteca de cacao;
- extracto de *ascophyllum nodosum* en un disolvente orgánico tal como disolventes lipídicos;
- *chlorella vulgaris*, en la que la partícula contiene un núcleo y una capa que rodea el núcleo; en el que el primer componente lipídico, el segundo componente lipídico y el extracto de *ascophyllum nodosum* están comprendidos en el núcleo; y en el que la *chlorella vulgaris* está comprendido en la capa.

Las partículas de la invención se preparan típicamente en forma de dispersiones y se incorporan en las composiciones cosméticas. Por lo tanto, en aspectos adicionales, la presente invención se refiere a dispersiones que comprenden las partículas antes mencionadas, así como a composiciones cosméticas que comprenden dichas partículas o dispersiones y un vehículo cosméticamente aceptable.

Como ya se ha mencionado, las composiciones cosméticas de la presente invención son útiles en la reducción de las ojeras sin afectar a sus causas patológicas subyacentes. Por lo tanto, otro aspecto de la presente invención se refiere a un método no terapéutico de reducir las ojeras, el método comprendiendo aplicar a una porción de piel humana que muestra los círculos oscuros debajo de los ojos una composición cosmética tal como se ha mencionado anteriormente.

En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a un método para la preparación de las dispersiones antes mencionadas, comprendiendo el método las etapas de:

- a) mezclar el primer componente lipídico, el segundo componente lipídico y el extracto de *ascophyllum nodosum*;
- b) añadir la *chlorella vulgaris*;
- c) calentar la mezcla resultante de la etapa b) a 37 °C o superior;
- d) en paralelo a las etapas a)-c), preparar el medio de dispersión y calentarlo a 37 °C o superior;
- e) mezclar, a 37 °C o superior, el medio de dispersión resultante de la etapa d) y la mezcla resultante de la etapa c).

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra una partícula de acuerdo con la invención.

La Figura 2 representa la distribución del tamaño de partícula para una dispersión de acuerdo con la invención.

La Figura 3 refleja los resultados obtenidos de oclusión a las 6, 24 y 48 h después de aplicar una composición cosmética según la invención.

La Figura 4 representa gráficamente el perfil de liberación de *Chlorella vulgaris* para una formulación de acuerdo con la presente invención.

La Figura 5 muestra el ángulo IWA observado para las personas a las que se aplicó una composición cosmética según la invención durante 28 días.

La Figura 6 representa la reducción del área de las ojeras en individuos a los que se aplicó una composición cosmética según la invención durante 28 días.

La Figura 7 representa gráficamente el perfil de liberación de *Chlorella vulgaris* para una formulación de acuerdo con la presente invención comparada con tres formulaciones diferentes de *Chlorella*.

Descripción detallada de la invención

La presente invención está dirigida a una partícula que comprende:

- un primer componente lipídico, que es aceite de semilla de uva;
- un segundo componente lipídico, que es manteca de cacao;
- extracto de *ascophyllum nodosum* en un disolvente orgánico tal como disolventes lipídicos;
- *chlorella vulgaris*, en la que la partícula contiene un núcleo y una capa que rodea el núcleo; en el que el primer componente lipídico, el segundo componente lipídico y el extracto de *ascophyllum nodosum* están comprendidos en el núcleo; y en el que la *chlorella vulgaris* está comprendido en la capa

La partícula de la invención contiene un núcleo y una capa que rodea al núcleo, como se muestra en la Figura 1. El primer componente lipídico, el segundo componente lipídico y el extracto de *ascophyllum nodosum* están comprendidos en el núcleo. La *Chlorella vulgaris* está comprendido en la capa.

El primer componente lipídico tiene un punto de fusión de 7 °C o superior. Más preferiblemente, el punto de la primera componente lipídica de fusión está comprendido en el intervalo de 7 °C a 25 °C, es decir, el punto de fusión del primer componente lipídico es un valor o intervalo comprendido en el intervalo de 7 °C a 25 °C.

5 El segundo componente lípido tiene un punto de fusión 36 °C o inferior. Más preferiblemente, el punto de fusión del segundo componente lipídico está comprendido en el intervalo de 26 °C a 36 °C, es decir, el punto de fusión del segundo componente lipídico es un valor o intervalo comprendido en el intervalo de 26 °C a 36 °C.

10 Los métodos para determinar puntos de fusión de lípidos y mezclas de lípidos son bien conocidos en la técnica. En el contexto de la presente invención, los puntos de fusión se refieren al punto de goteo Mettler (Método AOCS Cc 18-80 (09)). En el contexto de la presente invención, la temperatura ambiente se interpreta como 25 °C.

15 El lípido o lípidos en cualquier componente lípido de la presente invención son lípidos cosméticamente aceptables. El término lípido cosméticamente aceptable se refiere a un lípido que es adecuado para aplicación a la piel sin producir excesiva toxicidad, irritación o respuesta alérgica.

20 En la invención, el primer componente lipídico es aceite de semilla de uva y el segundo componente lipídico se selecciona de manteca de cacao.

25 El aceite de semilla de uva (también llamado aceite de semilla de uva o aceite de uva) es un aceite vegetal prensado de las semillas de diferentes variedades de uva, *Vitis vinifera*, un abundante producto de la elaboración del vino. El aceite de semilla de uva contiene típicamente triglicéridos derivados de los siguientes ácidos grasos: ácidos grasos omega-6 (linoleico) ácido 69-78%; omega-9 (oleico) de ácido 15 a 20%; 5-11% de ácido palmítico; 3-6% de ácido esteárico; omega-3 (linolénico) de ácido 0,1-3%; y 0,5-0,7% omega-7 (palmitoleico) ácido.

30 La manteca de cacao se obtiene de los granos de cacao enteros, que son fermentados, tostados y a continuación, separados de sus cascós. La manteca de cacao contiene típicamente triglicéridos derivados de los siguientes ácidos grasos: ácido esteárico 24-37%; 24-30% de ácido palmítico; 0-4% de ácido mirístico; 1% de ácido araquidónico; 0-1% de ácido láurico; 29-38% de ácido oleico; 0-2% ácido palmítico; 0-4% de ácido linoleico; 0-1% de ácido α -linolénico.

35 El punto de fusión de la manteca de cacao está comprendido en el intervalo de 26 °C a 36 °C. En una realización preferida, una o más de las formas polimórficas III, IV, V y V de la manteca de cacao son utilizadas.

40 En el contexto de la presente invención, *Ascophyllum nodosum* se refiere a la totalidad o parte de las algas *Ascophyllum nodosum*. *Ascophyllum nodosum* se refiere a cualquier extracto de la alga marina *Ascophyllum nodosum*. El extracto se puede obtener por métodos conocidos en la técnica.

45 En una realización preferida, se extrae el talo de *Ascophyllum nodosum*. Es decir, el extracto de *Ascophyllum nodosum* es un extracto de *Ascophyllum nodosum* del talo.

50 En una realización preferida, la extracción de *Ascophyllum nodosum* se realiza en disolventes orgánicos. Ejemplos de disolventes orgánicos adecuados son éteres, tales como diisopropil éter o dietil éter; cloroalcanos, tales como cloroformo, diclorometano, dicloroetano y tricloroetano; alcoholes inferiores, tales como alcoholes C1-C6, preferiblemente metanol o etanol; o combinaciones de los mismos.

55 En otra realización, la extracción de *Ascophyllum nodosum* se lleva a cabo en disolventes lipídicos, preferiblemente en un lípido con un punto de fusión comprendido en el intervalo de 7 °C a 25 °C, más preferiblemente en aceite de semilla de uva.

60 En una realización preferida, el extracto se obtiene por extracción de talos de *Ascophyllum nodosum* con el primer componente lípido descrito en cualquiera de las realizaciones anteriores.

65 Extractos de *Ascophyllum nodosum* están también disponibles comercialmente, por ejemplo a partir de Biogründl, S.L. (como D (40%) / OVE / T / extracto).

70 Ventajosamente, en una realización preferida, el primer componente lípido empleado para la extracción de *Ascophyllum nodosum* (por ejemplo, el primer componente lipídico que contiene el extracto) se emplea en las partículas de la invención como el primer componente lípido y el extracto de *Ascophyllum nodosum*. En la presente invención, el primer componente lipídico es aceite de semilla de uva.

75 En el contexto de la presente invención, *Chlorella vulgaris* (aquí también referida como *Chlorella*) se refiere a la totalidad o parte de las algas *Chlorella vulgaris*. Los productos obtenidos por extracción (es decir, los extractos) de la alga marina también se incluyen en el contexto de la presente invención. Una serie de productos de *Chlorella* están disponibles comercialmente, por ejemplo de Shaanxi Fuheng (FH) Biotecnología Co., Ltd. como pared celular de *Chlorella* polvo.

En una realización preferida, algas *Chlorella vulgaris* (y no un extracto de la misma) se emplean en las partículas de la invención. En una realización particular, las algas *Chlorella vulgaris* utilizadas en las partículas de la invención se han lavado con agua.

Más particularmente, el lavado con agua implica que el agua se elimina y se recoge el producto lavado. Esto se puede lograr por diferentes métodos conocidos en la técnica, por ejemplo al lavar el alga marina con agua sobre un tamiz de malla permeable al agua. Preferiblemente, el lavado de algas *Chlorella vulgaris* se somete además a un secado por pulverización. En una realización particular se somete además a un secado por pulverización para obtener el producto en forma de un polvo. En una realización particular el alga *Chlorella vulgaris* lavada se seca por pulverización a 160-180 °C.

En otras realizaciones, se extraen algas *Chlorella vulgaris* y el extracto se emplea en las partículas de la invención. En una realización más particular, el extracto se obtiene por hidrólisis alcalina de algas *Chlorella vulgaris*.

En la presente invención la mantequilla de cacao, aceite de semilla de uva y el extracto de *Ascophyllum nodosum* están comprendidos en el núcleo de la partícula, y la *Chlorella vulgaris* está comprendida en la capa de la partícula.

Las partículas de la invención pueden comprender otros agentes, por ejemplo, un agente formador de película, un aglutinante, un agente de carga, un disgregante, un agente lubricante, un diluyente, un regulador de la presión osmótica, un agente de ajuste del pH, un dispersante, un emulsionante, un agente antiséptico, un estabilizador, un antioxidante, un colorante, un espesante, un potenciador de la actividad, un desinfectante, una fragancia, un agente aromatizante o un agente de odorización. Las partículas también pueden comprender otros ingredientes activos o componentes cosméticos tales como una crema hidratante, un agente para aclarar la piel o de los componentes de maquillaje (por ejemplo, bases de maquillaje, maquillaje, los polvos cara, colorete, sombra de ojos, lápiz de ojos, rímel y similares).

Las formas de realización de partículas descritas anteriormente pueden combinarse entre sí sin limitación, siempre que no se excluyen mutuamente.

La presente invención también se refiere a una dispersión que comprende partículas como se describe en cualquiera de las realizaciones anteriores dispersas en un medio de dispersión.

El término dispersión se utiliza aquí como un término genérico en su sentido más amplio, y describe la distribución de una fase discontinua en una fase continua. Las partículas de la invención se dispersan preferiblemente en un medio acuoso, preferiblemente en agua. En una realización preferida, la dispersión es una dispersión de aceite-en-agua, en donde las partículas de la invención están comprendidas en, o preferentemente formadas, de la fase de aceite discontinua.

En una realización particular, la dispersión de la invención comprende además un tensioactivo. Cuando la dispersión se prepara el tensioactivo se adhiere al menos parcialmente a la superficie de las partículas dispersas. Preferiblemente, el tensioactivo es un tensioactivo anfifílico. Son ejemplos no limitantes de tensioactivos anfifílicos adecuados son neutros, cargados positivamente o negativamente, natural o sintético fosfolípidos moléculas tales como, pero no limitados a, fosfolípidos naturales, incluyendo lecitinas (por ejemplo, lecitina de soja o lecitina de huevo), fosfatidilglicerol, fosfatidilinositol, fosfatidiletanolamina, ácido fosfatídico, esfingomiélna, difosfatidilglicerol, fosfatidilserina, fosfatidilcolina y cardiolipina; fosfolípidos sintéticos que incluyen dimiristoilfosfatidilcolina, hidróxido de etil-N-dimetil propil dimiristoilfosfatidil amonio, dimiristoilfosfatidilglicerol, diestearilfosfatidilglicerol y dipalmitoilfosfatidilcolina; y lecitinas parcialmente hidrogenadas o hidrogenadas y fosfolípidos. En una realización preferida, el tensioactivo es una lecitina. En una realización preferida la lecitina se selecciona del grupo que consiste en lecitina de soja y lecitina de girasol.

En una realización, la *Chlorella vulgaris* en la dispersión está presente en un porcentaje en peso de 0,05% a 5% con respecto al peso total de la dispersión. En una realización preferida, está presente en un porcentaje en peso de 0,5% a 3% con respecto con el peso total de la dispersión. Más particularmente, está presente en un porcentaje en peso de 2% con respecto al peso total de la dispersión.

En una realización, el primer componente lipídico que contiene el extracto de *Ascophyllum nodosum* está presente en un porcentaje en peso de 0,5% a 10% con respecto al peso total de la dispersión. En una realización preferida, está presente en un porcentaje en peso de 3% a 7% con respecto al peso total de la dispersión. Más particularmente, está presente en un porcentaje en peso del 5% con respecto al peso total de la dispersión.

En una realización, el segundo componente lipídico está presente en un porcentaje en peso de 0,5% a 10% con respecto al peso total de la dispersión. En una realización preferida, está presente en un porcentaje en peso de 3% a 7% con respecto al peso total de la dispersión. Más particularmente, está presente en un porcentaje en peso del 5% con respecto al peso total de la dispersión.

Cuando un tensioactivo está presente en la dispersión, el tensioactivo está presente en un porcentaje en peso de 0,05% a 3% con respecto al peso total de la dispersión. En una realización preferida, está presente en un porcentaje en peso de 0,5% a 1,5% con respecto al peso total de la dispersión. Más particularmente, está presente en un porcentaje en peso de 1% con respecto al peso total de la dispersión.

5 En realizaciones más particulares, los porcentajes en peso descritos anteriormente para los diferentes componentes de la dispersión de la invención se pueden combinar.

10 En la presente invención, la manteca de cacao, aceite de semilla de uva y extracto de *Ascophyllum nodosum* están comprendidas en el núcleo de la partícula, y la *Chlorella vulgaris* está comprendida en la capa de la partícula; las partículas se dispersan en agua; y la dispersión comprende, además, la lecitina. En una realización aún más particular, las cantidades de cada uno componente son los siguientes:

	Chlorella ex.	Ascophyllum nodosum ex./ Aceite semilla de uva	Manteca de cacao	Lecitina	agua q.s.
p/p (dispersión) %	2	5	5	1	100

15 El medio de dispersión puede comprender agentes tales como un agente formador de película, un aglutinante, un agente de carga, un disgregante, un agente lubricante, un diluyente, un regulador de la presión osmótica, un agente de ajuste del pH, un dispersante, un emulsionante, un agente antiséptico, un estabilizador, un antioxidante, un colorante, un espesante, un potenciador de la actividad, un desinfectante, una fragancia, un agente aromatizante o un agente de odorización. El medio de dispersión puede comprender también otros ingredientes activos o componentes

20 estéticos, como una crema hidratante, un agente para aclarar la piel o componentes de maquillaje (por ejemplo, bases de maquillaje, maquillaje, los polvos de cara, colorete, sombra de ojos, lápiz de ojos, rímel y similares).

La presente invención también está dirigida a composiciones cosméticas que comprenden las partículas o la dispersión se describe en cualquiera de las realizaciones anteriores, y un vehículo cosméticamente aceptable.

25 El término vehículo cosméticamente aceptable se refiere a un soporte que es adecuado para aplicación a la piel sin producir excesiva toxicidad, irritación o respuesta alérgica.

Ejemplos de vehículos adecuados son agua; dimetil isosorbida; miristato de isopropilo; agentes tensioactivos de tipo catiónico, aniónico y no iónico; aceites vegetales; aceites minerales; ceras; goma; agentes gelificantes sintéticos y naturales; alcanoles; glicoles; y polioles. Ejemplos de glicoles incluyen, pero no se limitan a, glicerina, propilenglicol, butilenglicol, pentaleno, hexilenglicol, polietilenglicol, polipropilenglicol, dietilenglicol, trietilenglicol, glicol caprílico, glicerol, butanodiol y hexanotriol, y copolímeros o mezclas de los mismos. Ejemplos de alcanoles incluyen, pero no se limitan a, los que tienen de aproximadamente 2 átomos de carbono a aproximadamente 12 átomos de carbono (por ejemplo, de aproximadamente 2 átomos de carbono a aproximadamente 4 átomos de carbono), tales como isopropanol y etanol. Ejemplos de polioles incluyen, pero no se limitan a, aquellos que tienen de aproximadamente 2 átomos de carbono a aproximadamente 15 átomos de carbono (por ejemplo, de aproximadamente 2 átomos de carbono a aproximadamente 10 átomos de carbono) tales como propilenglicol.

40 La composición cosmética de la presente invención se puede formular como una loción, crema, suero, gel, barra, aerosol, pomada, de lavado líquido, pastilla de jabón, pasta, espuma, mousse, polvo, limpie, parche, tira, hidrogel, aerosol y no aerosol spray y formas similares, para la aplicación tópica a la piel de la cara. En una realización preferida, la composición cosmética está en forma de una crema o loción. Los métodos de formulación de composiciones cosméticas son bien conocidos en la técnica. En una realización particular, la dispersión o partículas de la invención se mezclan simplemente con una crema placebo convencional.

La composición cosmética de la presente invención puede comprender aditivos adicionales, tales como un agente formador de película, un aglutinante, un agente de carga, un disgregante, un agente lubricante, un diluyente, un regulador de la presión osmótica, un agente de ajuste del pH, un dispersante, un emulsionante, un agente antiséptico, un estabilizador, un antioxidante, un colorante, un espesante, un potenciador de la actividad, un desinfectante, una fragancia, un agente aromatizante y un agente de odorización. El producto cosmético puede comprender también otros ingredientes activos o componentes estéticos, como una crema hidratante, un agente para aclarar la piel o de los componentes de maquillaje (por ejemplo, bases de maquillaje, maquillaje, los polvos cara, colorete, sombra de ojos, lápiz de ojos, rímel y similares).

55 El vehículo cosméticamente aceptable puede emplearse en combinación con otros vehículos. Las cantidades del vehículo pueden variar de 80% a 99,5% en peso con respecto al peso total de la composición cosmética, preferiblemente de 90 a 98%, y, en particular, puede ser 96%.

La dispersión de la invención se puede usar en una cantidad de 0,5% a 10% en peso con respecto al peso total de la composición cosmética, preferiblemente de 2 a 5%, y en particular de 4%

La presente invención se refiere además a un método para preparar una dispersión como se describe en cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, comprendiendo el método las etapas de:

- a) mezclar el primer componente lípido, el segundo componente lípido y el extracto de *ascophyllum nodosum*;
- b) añadir la *chlorella vulgaris*;
- c) calentar la mezcla resultante de la etapa b) a 37 °C o superior;
- d) en paralelo a las etapas a)-c), preparar el medio de dispersión que comprende un tensioactivo y calentándolo a 37 °C o superior;
- e) mezclar, a 37°C o superior, el medio de dispersión resultante de la etapa d) y la mezcla resultante de la etapa c).

En una realización, se añade el medio de dispersión que comprende un tensioactivo (preferiblemente agua que comprende un tensioactivo) en la cantidad necesaria para alcanzar la concentración deseada de todos o cualquiera de los otros componentes en la dispersión final.

En una realización preferida, la mezcla en la etapa e) se lleva a cabo por homogeneización de alta cizalladura. En una realización, la mezcla de la etapa e) implica la adición gota a gota del medio de dispersión resultante de la etapa d) a la mezcla resultante de la etapa c).

En otra realización, la temperatura en las etapas c), d) y e) es 37-50 °C, preferiblemente 40 °C.

En una realización, el método de preparación comprende además una etapa f) de enfriamiento de la mezcla resultante de la etapa e) a temperatura ambiente (25 °C).

En una realización preferida, el primer componente lípido empleado para la extracción de *Ascophyllum nodosum* (por ejemplo, la primera componente lipídica que contiene el extracto) se emplea en el método de preparación de la invención como la primera componente de lípido y el extracto *Ascophyllum nodosum*.

El método de preparación de la presente invención permite la preparación de dispersiones en el que las partículas de la invención tienen un tamaño de partícula de 50 a 1000 nm, y un tamaño medio de partícula de 200 a 300 nm, que es ventajosamente óptimo para la aplicación dérmica.

Además, los valores de polidispersidad (PI) de las partículas obtenidas con el método de preparación es de alrededor de 0,4-0,3. La alta homogeneidad en el tamaño de partícula permite la formación de una capa lipídica sobre la superficie de la piel que también es ideal para aplicación dérmica.

Además, las partículas obtenidas con el método de preparación de la invención poseen buenos potenciales zeta, en particular en el rango de -30 a -40 mV, que, ventajosamente, las hace estables frente a la agregación de partículas (en virtud de la repulsión electrostática entre las partículas), evitando en última instancia la pérdida de la función cosmética.

Además, las partículas obtenidas por el método de preparación de la presente invención son partículas de liberación sostenida (con respecto a la liberación de *Chlorella*).

La invención también se refiere a dispersiones que pueden obtenerse por el método de preparación de la invención en cualquiera de sus formas de realización descritas anteriormente.

Adicionalmente, la invención se dirige además a un método para preparar las partículas de la invención, que comprende eliminar el medio de dispersión de una dispersión de la invención para aislar las partículas del mismo. Esto se puede lograr por métodos conocidos en la técnica, por ejemplo por evaporación del medio, por ejemplo, mediante secado por congelación. Del mismo modo, la invención también se refiere a partículas que pueden obtenerse por este método.

Los presentes inventores han descubierto de forma inesperada que las partículas de la invención, las dispersiones de la invención, y las composiciones cosméticas de la invención estimulan la expresión de Hemo Oxigenasa tipo 1 (HO-1) en la piel ayudando de este modo en la eliminación del catabolismo del hemo conocido por ser el responsable de las ojeras. También se ha encontrado sorprendentemente que la producción de colágeno se estimula después de la aplicación de las partículas de la invención, las dispersiones de la invención, o las composiciones cosméticas de la invención a la piel, reduciendo de este modo la aparición de líneas finas y arrugas.

Por lo tanto, la presente invención está dirigida a un método no terapéutico (cosmético) de reducción de las ojeras, el método comprendiendo aplicar a una porción de piel humana que muestra las ojeras las partículas de la invención, las dispersiones de la invención, o las composiciones cosméticas de la invención. En realizaciones particulares, la

aplicación es para los párpados inferiores, párpados superiores, las cejas, las regiones malares, regiones temporales y / o de la raíz nasal lateral.

5 El término "no terapéutico" (cosmético) denota un uso previsto principalmente para proporcionar un efecto estético deseado (reducción de ojeras) o la prevención de un efecto estético deseado (aparición de ojeras).

10 En una realización particular de la presente invención se aplica el tratamiento no terapéutico (cosmético) de la invención a una persona que no sufre de una condición patológica que conduce a las ojeras, o a una persona que no ha sido diagnosticado con una condición patológica que conduce a las ojeras.

15 En una realización particular, las ojeras son consecuencia del envejecimiento de la piel. Más en particular, el envejecimiento de la piel es el envejecimiento cutáneo cronológico. En otra realización particular, las ojeras son consecuencia del estrés. En otra realización particular, las ojeras son una consecuencia de la fatiga, en particular, de la falta de sueño. En un caso particular, las ojeras son una consecuencia de la microcirculación sanguínea ralentizada temporal o estancamiento de la sangre, sobre todo en las venas de los párpados inferiores, los párpados superiores, las cejas, las regiones malares, regiones temporales y / o de la raíz nasal lateral. En una realización particular, las ojeras son una consecuencia de la deshidratación.

20 En una realización preferida, el tratamiento no terapéutico (cosmético) de la invención, además, reduce las arrugas de la piel, en particular las arrugas de la piel en los párpados inferiores, párpados superiores, las cejas, las regiones malares, regiones temporales y / o de la raíz nasal lateral.

25 Se entiende que la cantidad de composición cosmética aplicada es una cantidad eficaz cosméticamente, es decir, una cantidad que puede lograr una reducción de las ojeras.

La composición cosmética de la invención se aplica durante un tiempo suficiente para conseguir la reducción deseada de las ojeras. En una realización particular, se aplica dos veces al día durante un período de 14 a 28 días.

30 En una realización preferida, la composición cosmética se aplica una vez o dos veces por día.

En una realización, se aplican aproximadamente 100 mg / día de la composición cosmética que comprende 2- 5% en peso de las partículas de la invención.

35 En una realización, la composición cosmética se aplica a un sujeto femenino.

En otra realización, la composición cosmética se aplica a un sujeto 36 años o más, más en particular el sujeto es de 36 años a 57 años de edad.

40 La invención se refiere también al uso de las partículas de la invención, las dispersiones de la invención, o las composiciones cosméticas de la invención, como se describe en cualquiera de las realizaciones anteriores, para tratar y / o prevenir las ojeras o una condición patológica que conduce a las ojeras.

45 La invención también se refiere a las partículas de la invención, las dispersiones de la invención, o las composiciones cosméticas de la invención, como se describe en cualquiera de las realizaciones anteriores, para uso como un medicamento, más particularmente para su uso en el tratamiento y / o profilaxis de las ojeras o de una condición patológica que conduce a las ojeras.

50 La invención se refiere también a la utilización de partículas de la invención, las dispersiones de la invención, o las composiciones cosméticas de la invención, como se describe en cualquiera de las realizaciones anteriores, en la preparación de un producto para prevenir o reducir las ojeras o una condición patológica que conduce a las ojeras.

La invención se refiere también a la utilización de partículas de la invención, las dispersiones de la invención, o las composiciones cosméticas de la invención, como se describe en cualquiera de las realizaciones anteriores.

55 Métodos y ejemplos

Producción de la dispersión de homogeneización por alto cizallamiento

60 La dispersión de la invención se preparó mediante el método de homogeneización de alta cizalladura. *Ascophyllum nodosum*/aceite de semilla de uva (mezcla obtenida de Biogründl, S.L. como D (40%) / OVE / T / extracto) y manteca de cacao (obtenida de Natura Tec - Francia) se emplearon como la base de lípidos. Chlorella (obtenida de Shaanxi Fuheng (FH) Biotechnology Co., Ltd. como polvo de pared celular Chlorella) y la fase lipídica se mezclaron y se calentaron a 40 °C. Al mismo tiempo, la fase acuosa se calentó a la misma temperatura. La fase acuosa con lecitina tensioactivo se vertió en la fase lipídica Chlorella gota a gota y se mezcló con Ultra-Turrax a una velocidad de 24,000 rpm. La dispersión resultante se dejó enfriar a temperatura ambiente y las partículas de la dispersión solidificaron.

La composición de la dispersión obtenida (formulación A) en % en peso sobre el peso total de la dispersión se muestra a continuación y se compara con una dispersión que contiene *Chlorella* libre (es decir, *Chlorella* no incluida en las partículas de la invención; formulación B).

Formulación	Chlorella	Ascophyllum nodosum/ Aceite semilla Vitis vinifera	Mantec a cacao	Lecitina	Agua q.s.
A Dispersión de la invención	2	5	5	1	100
B Dispersión comparativa	2	-	-	-	100

5 Tamaño de partícula, potencial zeta y análisis de la eficiencia de encapsulación

Se analizaron el tamaño y el potencial zeta de las partículas de la dispersión obtenida.

10 El análisis del tamaño de partículas se realizó mediante espectroscopia de correlación de fotones (PCS). PCS se obtiene el tamaño medio de partículas (Z-ave) y el índice de polidispersidad (PI) que es una medida de la anchura de la distribución de tamaños. El potencial zeta (Zpot) se determinó por movilidad electroforética.

Z-ave y Zpot se analizaron mediante un nano Zetasizer ZS (Malvern Instruments, Malvern, Reino Unido).

15 La eficiencia de encapsulación (EE) de *Chlorella* en las partículas de la invención se determinó indirectamente por el método de ultrafiltración usando tubos de filtración centrífuga con un peso molecular de 100 kDa de corte. La cantidad de *Chlorella* encapsulado se calculó por la diferencia entre la cantidad total utilizada para preparar los sistemas y la cantidad de *Chlorella* que se mantuvo en la fase acuosa después del aislamiento de los sistemas, la aplicación ecuación 1. El análisis de *Chlorella* se realizó por el método de UV-espectrofotométrica a la longitud de onda de 394 nm.

$$E. E = \frac{\text{Cantidad total de Chlorella} - \text{Cantidad libre de Chlorella}}{\text{Cantidad total de Chlorella}}$$

Ecuación 1

25 Los resultados fueron los siguientes:

Formulación	Z-ave (nm)	PI	Zpot (mV)	EE (%)
A	263,1±3,7	0,340±0,032	-35,5±8,1	89,2±5,7

30 El tamaño de partícula media observada es apropiado para la aplicación dérmica. La alta homogeneidad en el tamaño de las partículas de la invención facilita la formación de una capa lipídica sobre la superficie de la piel conduce a la oclusión y fácil estrato corneo de penetración de la *Chlorella*. La Figura 2 representa la distribución de tamaño de partícula observada.

35 El análisis del Zpot es una herramienta útil para predecir la estabilidad en el almacenamiento físico de los sistemas coloidales. El valor negativo Zpot observada para las partículas de la invención estaba en el rango -30 mV / -40 mV, lo que demuestra que las partículas deben poseer una buena estabilidad física ya que la agregación de partículas no es probable que ocurra debido a la repulsión electrostática entre las partículas.

40 Perfil de liberación in vitro de *Chlorella* de la cápsula lipídica determinado por diálisis

Se usaron celdas de difusión de Franz estática para evaluar la cantidad de *chlorella* liberado por dispersión (formulación B) y de dispersión que contiene *Chlorella* como parte de las partículas de la invención (formulación A). El área superficial de la piel de cerdo fue de 2,5 cm² y el volumen de la fase receptora fue de aproximadamente 18 ml.

45 La temperatura del ensayo fue controlado con precisión a 32 °C para imitar la piel humana. El medio aceptor se compone de un tampón PBS (pH 7,4), se agitó por la barra magnética a 700 rpm para evitar diferentes concentraciones dentro del medio aceptor y reducir al mínimo las capas estancadas. 25 µl de la formulación A o B se colocó sobre la membrana en el compartimiento del donante. Las muestras de 500 µl se retiraron a intervalos de tiempo adecuados

durante 24 horas usando una aguja de jeringa, y los mismos volúmenes se sustituyeron con medio acceptor recién preparado. Las muestras se analizaron por el método de UV-espectrofotométrico. El experimento se realizó por triplicado.

5 La Figura 4 representa gráficamente los resultados obtenidos. En particular, se puede observar que el 100% de *Chlorella* se libera rápidamente cuando el activo se aplica en la forma libre (formulación B). Sin embargo, cuando la *Chlorella* se administra como parte de las partículas de la invención (formulación A) la liberación es más lenta. Por lo tanto, la administración de *Chlorella* en forma de partículas según la presente invención es óptima para lograr una liberación prolongada de *Chlorella*.

10 Formulación de la crema

Para probar el efecto in vivo las cremas se prepararon mezclando la crema placebo convencional con la formulación A o B de la siguiente manera:

- 15
- 4% de A (dispersión de la invención) crema
 - 4% of B (*Chlorella* libre; dispersión comparativa) crema

En ambos casos el contenido de *Chlorella* era el mismo.

20 Test Oclusión *In vitro*

Esta prueba se realizó para comparar las capacidades oclusivas in vitro de la crema que contiene *Chlorella* libre (crema de la formulación B) y de la crema que contiene *Chlorella* como parte de las partículas de la invención (formulación A). La prueba se llevó a cabo utilizando viales de 10 ml, llenos con 5 ml de agua destilada y sellados con filtro de acetato de celulosa con un tamaño de poro de 0,45 micrómetros. De la muestra se extendió sobre el filtro y se almacenó a 25 ° C durante 6, 24 y 48 h. El factor de oclusión F se calculó usando la siguiente ecuación (ecuación 2):

$$F = 100 \times \left[\frac{A - B}{A} \right]$$

30 *Ecuación 2*

donde: A es la cantidad de agua que se evapora a través de la membrana de acetato de celulosa sin la aplicación de una formulación y B es la cantidad de agua que se evapora a través de la membrana de acetato de celulosa después de la aplicación de una muestra de una formulación.

35 Los resultados obtenidos se representan en la Figura 3. Como se puede observar, el factor de oclusión para la crema que contiene *Chlorella* como parte de las partículas de la invención (formulación A) fue sustancialmente mayor a la de la crema que contiene *Chlorella* libre (crema de formulación B). Las partículas de la invención favorecen la formación de una película lipídica en la superficie de la piel y promueven la penetración de *Chlorella*.

40 Prueba de eficacia *In vivo*

El objetivo del estudio es evaluar la eficacia de una crema según la presente invención para reducir la pigmentación / oscurecimiento de las bolsas bajo los ojos con el fin de obtener un aspecto mejorado. El estudio que se llevó a cabo será doble ciego, aleatorizado de 15 mujeres voluntarias con edades comprendidas entre los 36 y 57 años.

45 La crema cosmética de acuerdo con la presente invención (crema de la formulación A), la crema que contiene *Chlorella* libre (crema de la formulación B) o placebo se aplicaron dos veces al día.

50 La evaluación de la pigmentación de la piel se hizo a través de los datos cuantitativos recogidos durante todas las visitas de voluntarios: la línea base y la visita final a los 28 días de evaluación. La pigmentación de la piel se realizó a través del análisis de imágenes de fotografías de la cara de polarización cruzada. Los detalles de la maquinaria, la captura de información y el procesamiento de los datos es el siguiente:

55 Se tomaron fotografías de la cara a 0° y ± 45 ° con una Nikon D300 en una estructura diseñada específicamente en un banco de la captura, la Visio 4D (Eotech, Francia), con el fin de asegurarse de que la altura de la cámara, el ángulo y la distancia al voluntario permaneció constante durante el estudio. El posicionamiento voluntario también se llevó a cabo en el banco de Visio 4D, gracias a una estructura de cabeza que reposiciona el voluntario en base a su oreja y la barbilla del paciente.

60 Se obtuvieron iluminaciones difusa homogénea y polarizada transversal a través de dos Elinchrom Style RX 600 flashes y filtros de gel lineal de polarización cuando se requería. Otro filtro de polarización lineal se añadió a la lente de la cámara en estas ocasiones.

65 El análisis de imágenes se realizó con el software FrameScan 2,9,9 (Orio Concept, Francia) con el fin de obtener imágenes de pigmentación y cuantificar las coordenadas de color:

Se realizó un análisis de imagen para evaluar tanto el área ocupada por el círculo oscuro, así como la gravedad de la círculo oscuro. Severidad del círculo oscuro se analizó mediante el cálculo de la IWA_{Newton}.

5 El IWA_{Newton} (con el nombre en inglés, Individual Whiteness Angle) tiene en cuenta, al mismo tiempo, la concentración de melanina y hemoglobina.

Por lo tanto, la piel clara significa una piel menos pigmentados y / o una piel con menos enrojecimiento. Cuanto mayor sea el IWA_{Newton}, el más ligero la piel.

10

Los resultados observados se muestran en las figuras 5 y 6.

15 Los resultados muestran que la crema que contiene *Chlorella* como parte de las partículas de la invención (formulación A) aligera notablemente las ojeras en comparación con una crema que contiene *Chlorella* libre (crema de la formulación B): IWA_{Newton} se incrementa considerablemente (Figura 5) ($p < 0.0005$) y el área cubierta por las ojeras se reduce sustancialmente (Figura 6) para la crema cosmética de la presente invención (crema de formulación A) ($p < 0.005$) en comparación con el efecto de la crema de la formulación B.

20 Comparación del perfil de liberación de formulaciones de *Chlorella*

Se testaron formulaciones de *Chlorella* adicionales. La dispersión de la invención y la formulación de *Chlorella* libre se prepararon como descrito anteriormente (véase, producción de la dispersión de homogeneización por alto cizallamiento).

25 Se preparó una formulación de triglicérido caprílico/cáprico (dispersión CTG). Dicha formulación se preparó según el procedimiento utilizado para preparar la formulación de la invención, pero añadiendo triglicérido caprílico/cáprico en lugar de *Ascohyllum nodosum* aceite de semilla de uva.

30 También se testó una nanoemulsión (emulsión aceite/agua). En dicha nanoemulsión el lípido sólido se sustituyó por triglicérido caprílico/cáprico.

A continuación se muestra la composición de cada formulación en % en peso de cada componente en relación al peso total de la dispersión.

Formulación	Chlorella	Ascohyllum nodosum/aceite de semilla de Vitis vinifera	Manteca de cacao	Triglicérido caprílico/cáprico	Lecitina	Agua q.s
Dispersión de la invención	2	5		5	-	100
Dispersión CTG	2	-		5	5	100
Emulsión aceite/agua de Chlorella	2	-		-	10	100
Chlorella libre	2	-		-	-	100

35 Para determinar el mecanismo de liberación de Chlorella de las diferentes formulaciones, se realizaron estudios de liberación *in vitro*. Se utilizaron celdas de difusión de Franz estáticas para evaluar la cantidad de Chlorella liberada de las formulaciones. El área de la superficie de piel de cerdo era de 2,5 cm² y el volumen de fase receptora de aproximadamente 18 mL. La temperatura del ensayo se controló cuidadosamente a 32 °C para mimetizar piel humana.

40 El medio aceptor estaba compuesto de tampón PBS (pH 7,4), agitándose mediante un agitador magnético a 700 rpm para evitar concentraciones diferentes en el mismo medio aceptor y para minimizar capas estanques. Se colocaron 25 µL de cada formulación conteniendo Chlorella, en la membrana del compartimento dador. Se retiraron muestras de 500 µL a tiempos definidos durante 24h, y se reemplazó dichos volúmenes con medio nuevo. Las muestras se analizaron mediante un método espectrofotométrico UV. Los experimentos se realizaron por triplicado.

45 Los resultados se muestran en la Figura 7. Como se puede observar, cuando se utiliza la disolución acuosa de Chlorella, la misma es rápidamente liberada. Se observan resultados idénticos para la emulsión aceite/agua; cuando la Chlorella está incorporada en una partícula lipídica, la liberación de Chlorella es más lenta; cuando la partícula lipídica es según la presente invención, la liberación controlada mejora dramáticamente.

REIVINDICACIONES

1. Partícula que comprende:
- un primer componente lipídico, que es aceite de semilla de uva;
 - un segundo componente lipídico, que es manteca de cacao;
 - extracto de *ascophyllum nodosum* en disolventes orgánicos tales como disolventes lipídicos;
 - *Chlorella vulgaris*.
- en las que la partícula contiene un núcleo y una capa que rodea el núcleo; en el que el primer componente lipídico, el segundo componente lipídico y el extracto de *ascophyllum nodosum* están comprendidos en el núcleo; y en el que la *chlorella vulgaris* está comprendida en la capa.
2. Partícula según la reivindicación 1, en la que el disolvente orgánico es un disolvente lipídico con un punto de fusión en el intervalo de 7 °C a 25 °C.
3. Partícula según la reivindicación 1, en la que el disolvente orgánico se selecciona de éteres; cloroalcanos; alcoholes C₁-C₆; o combinaciones de los mismos.
4. Partícula según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en la que el disolvente orgánico es aceite de semilla de uva.
5. Partícula según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el extracto de *ascophyllum nodosum* es un extracto de *ascophyllum nodosum* aceite de semilla de uva.
6. Dispersión que comprende las partículas tal como se definen en las reivindicaciones 1-5, dispersas en un medio de dispersión que comprende un tensioactivo, preferiblemente en un medio de dispersión acuoso que comprende un tensioactivo, más preferiblemente en agua que comprende un agente tensioactivo.
7. Dispersión según la reivindicación 6, en la que *Chlorella vulgaris* está presente en una cantidad de 0,05- 5% en peso con respecto al peso total de la dispersión.
8. Composición cosmética que comprende una dispersión tal como se define en las reivindicaciones 6 o 7; y un vehículo cosméticamente aceptable.
9. Composición cosmética según la reivindicación 8, en la forma de una crema.
10. Composición cosmética según la reivindicación 8 o 9, en la que la dispersión está presente en una cantidad de 2-6% en peso con respecto al peso total de la composición.
11. Método para la preparación de una dispersión tal como se define en las reivindicaciones 6 o 7, que comprende las etapas de:
- a) mezclar el primer componente lipídico, el segundo componente lipídico y el extracto *ascophyllum nodosum*;
 - b) añadir la *chlorella vulgaris*;
 - c) calentar la mezcla resultante de la etapa b) a 37 °C o superior;
 - d) en paralelo a las etapas a)-c), preparar el medio de dispersión que contiene un tensioactivo y calentarlo a 37 °C o superior;
 - e) mezclar, a 37 °C o superior, el medio de dispersión resultante de la etapa d) y la mezcla resultante de la etapa c).
12. Método según la reivindicación 11, en el que la mezcla en la etapa e) se lleva a cabo por homogeneización de alta cizalladura.
13. Método según la reivindicación 11 o 12, en el que la temperatura en las etapas c), d) y e) es 37-50 ° C, preferiblemente 40 °C.
14. Método no-terapéutico para reducir las ojeras, dicho método comprendiendo aplicar a una porción de la piel humana que muestra las ojeras, una composición cosmética tal como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10.
15. El método de la reivindicación 14, en el que la composición cosmética se aplica una vez o dos veces al día durante 28 días.

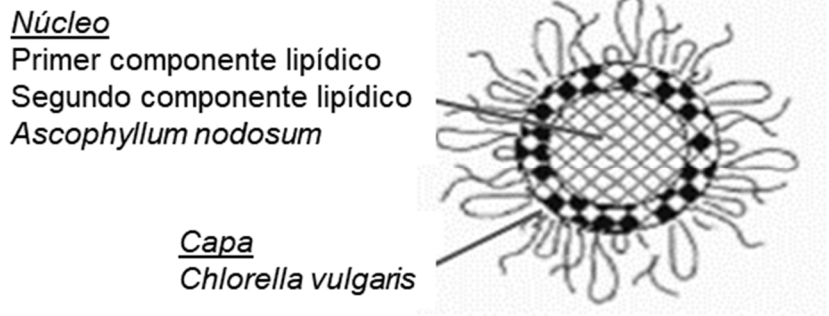


Figura 1

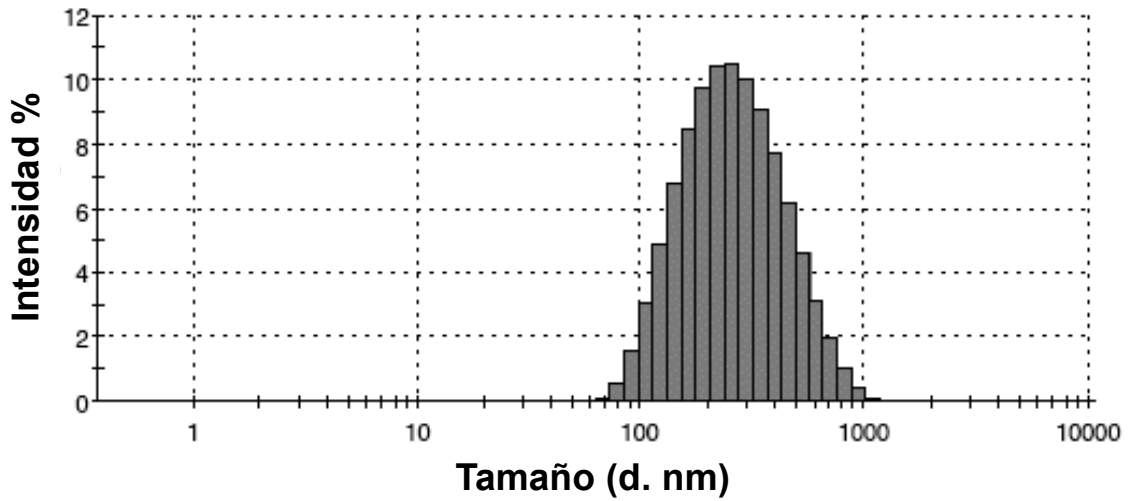


Figura 2

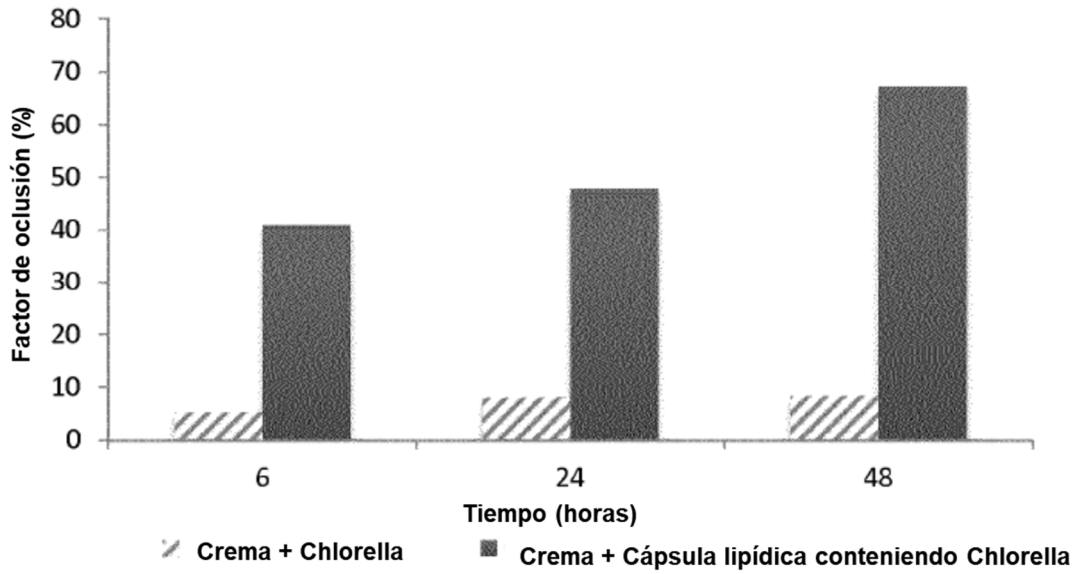


Figura 3

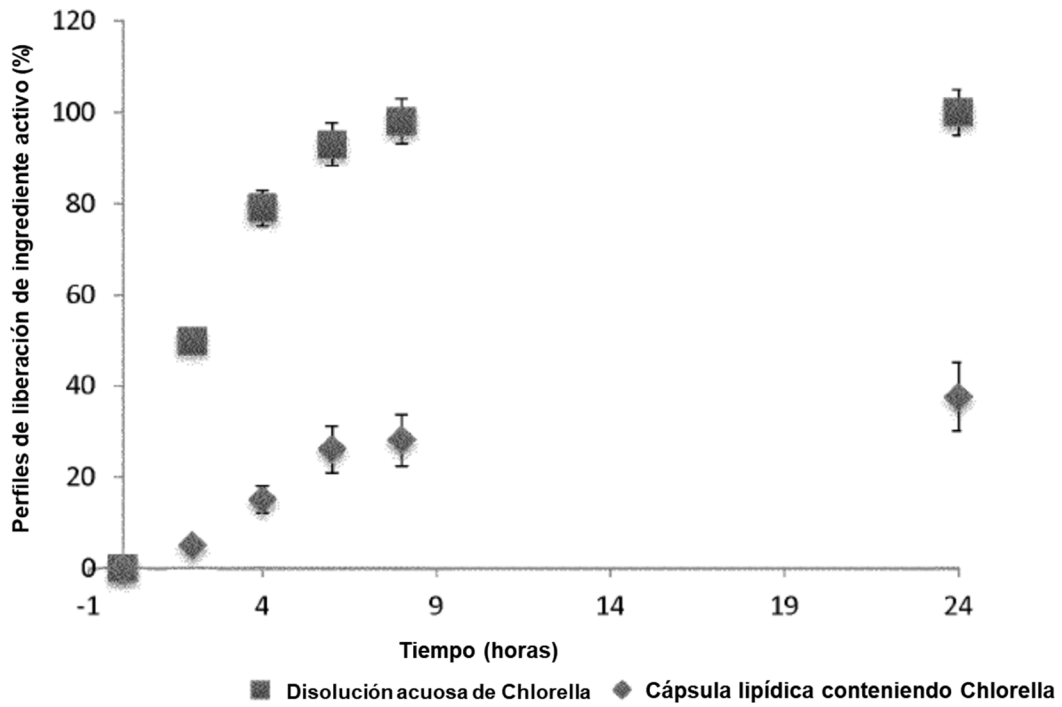


Figura 4

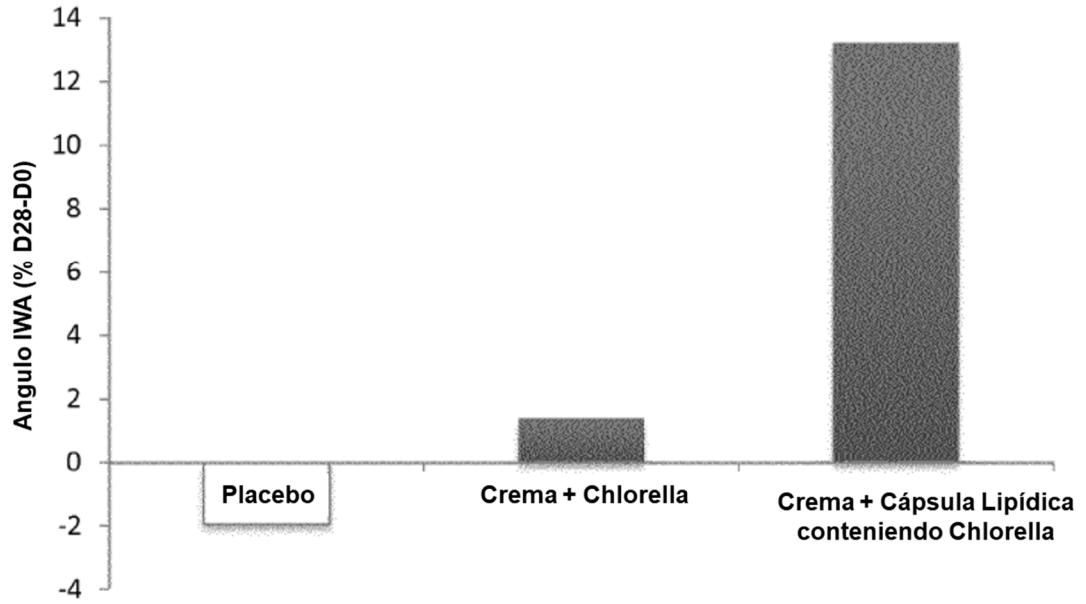


Figura 5

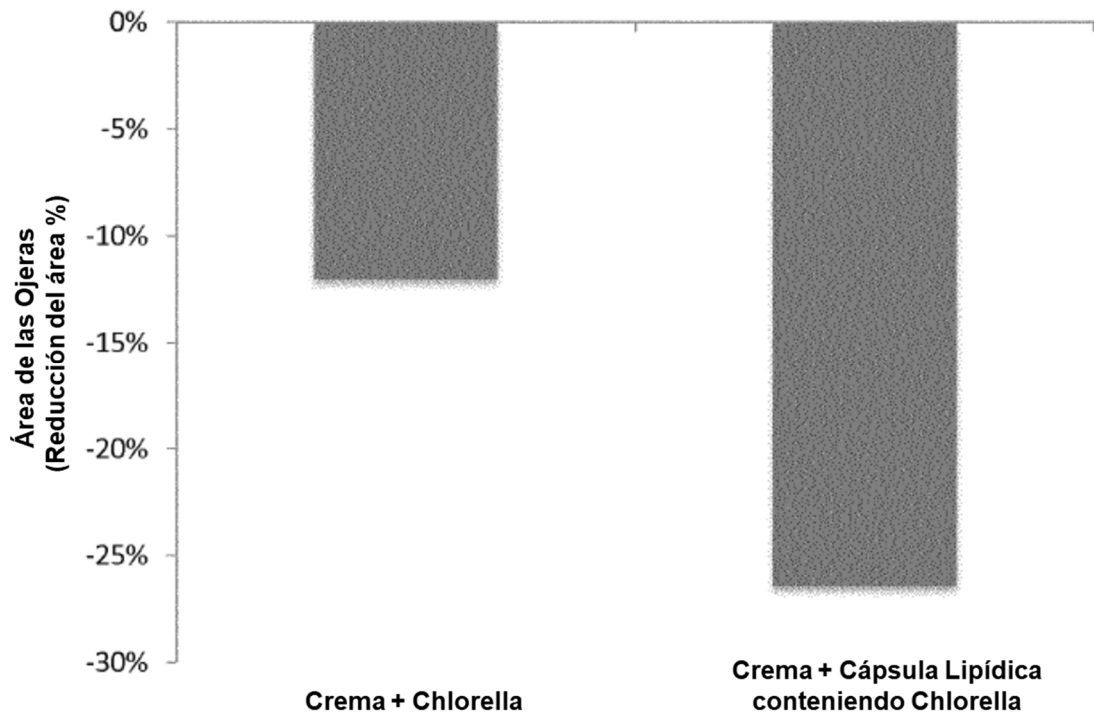


Figura 6

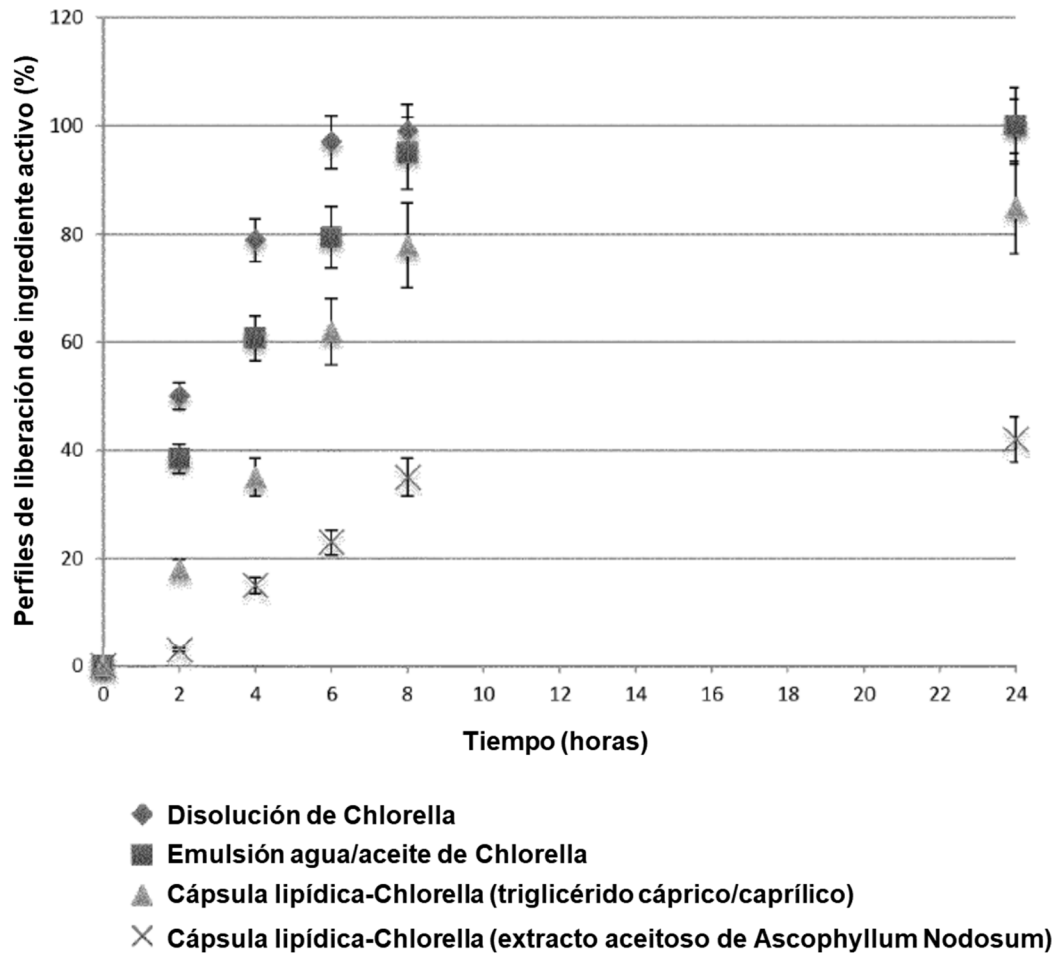


Figura 7