

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 010 500**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/164** (2006.01)  
**A61K 31/198** (2006.01)  
**A61K 31/401** (2006.01)  
**A61K 31/4172** (2006.01)  
**A61K 8/44** (2006.01)  
**A61K 8/60** (2006.01)  
**A61P 17/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.12.2021** **E 21215012 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.12.2024** **EP 4019015**

54 Título: **Composición cosmética apta para reforzar las uniones estrechas epidérmicas para la prevención y/o el tratamiento de la dermatitis atópica**

30 Prioridad:

**24.12.2020 FR 2014142**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**03.04.2025**

73 Titular/es:

**NAOS INSTITUTE OF LIFE SCIENCE (50.00%)**  
**355 Rue Pierre-Simon Laplace**  
**13290 Aix-en-Provence, FR y**  
**THOREL, JEAN-NOËL (50.00%)**

72 Inventor/es:

**THOREL, JEAN-NOËL**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**ES 3 010 500 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

Composición cosmética apta para reforzar las uniones estrechas epidérmicas para la prevención y/o el tratamiento de la dermatitis atópica

5

Campo técnico de la invención

La invención se refiere al campo de los cuidados dermatológicos y, más particularmente, al tratamiento de las afecciones inflamatorias cutáneas. Más concretamente, la invención hace referencia a una composición, ventajosamente cosmética, para la prevención y/o el tratamiento de la dermatitis atópica.

10

Antecedentes de la técnica

La dermatitis atópica o atopia cutánea, es una dermatosis inflamatoria crónica pruriginosa, es decir, una afección inflamatoria de la piel que se manifiesta por un prurito intenso y crónico y por lesiones eccematosas recurrentes que se desarrollan por brotes (Mack y Kim, 2018; Weidinger *et al.*, 2018). Esta patología está relacionada con anomalías en la función de la barrera cutánea o incluso con la posible aparición de otros síntomas tales como rinitis alérgica, asma, hipersensibilidad a alérgenos ambientales que son normalmente tolerados en sujetos sanos. El documento JP2000264829 divulga una composición que comprende al menos un copolímero de ácido acrílico, una glucosilceramida; un ingrediente oleoso y al menos un aminoácido, en particular arginina útil para tratar la dermatitis atópica.

15

20

El deterioro de la función de barrera de la epidermis desempeña un papel clave en el inicio de la dermatitis atópica (Kuo *et al.*, 2013). En efecto, este defecto en la función de barrera de la epidermis induce un círculo vicioso de picores y rascado (Mochizuki *et al.*, 2019), lo que aumenta la permeabilidad a los alérgenos, bacterias y virus (Cipriani *et al.*, 2014; Halling-Overgaard *et al.*, 2017), que, a su vez, actúan como mediadores en el aumento del proceso inflamatorio.

25

Las uniones estrechas (o *zonula occludens*) son uniones intercelulares cruciales para la adhesión epitelial (o adhesión intercelular) y la función de barrera. Se trata de complejos transmembrana dinámicos que se abren y se cierran. Estas uniones estrechas están compuestas por proteínas estructurales, proteínas asociadas al citoesqueleto y proteínas que participan en los mecanismos de señalización y polaridad celular (Niessen, 2007).

30

En particular, las uniones estrechas están constituidas por proteínas transmembrana como las claudinas, las ocludinas, las moléculas de adhesión de unión (JAM) y las tricelulinas que son proteínas estructurales similares a las ocludinas; y las proteínas citosólicas como las proteínas *zonula occludens* (ZO), las cingulinas, la proteína *multiple-PDZ domain protein 1* (MUPP1, proteína 1 del dominio PDZ múltiple) o la proteína *Membrane-Associated Guanylate kinase with Inverted orientation* (MAGI, guanilato cinasa asociada a membrana con orientación invertida).

35

Las uniones estrechas se encuentran en particular en la capa granular (o *stratum granulosum*) de la epidermis (Brandner *et al.*, 2002).

40

La principal función de las uniones estrechas de la piel es el establecimiento de una segunda barrera cutánea que se activa inmediatamente durante la ruptura de la capa córnea de la piel (o *stratum corneum*).

45

Varios estudios científicos han demostrado que la expresión de varias proteínas que componen las uniones estrechas está modificada en la piel de los pacientes con dermatitis atópica, en concreto la expresión de la claudina-1 está reducida de manera significativa en las zonas de lesión de los pacientes con dermatitis atópica (Batista *et al.*, 2015; Gruber *et al.*, 2015; Yuki *et al.*, 2011).

50

De lo anterior se desprende que la restauración de la expresión y de la funcionalidad de las uniones estrechas ofrece una nueva vía para reforzar o restablecer la función de barrera de la piel y, por tanto, prevenir y/o tratar la dermatitis atópica.

55

A título de ejemplo, los documentos EP2 691 090 y EP 2 704 704 describen respectivamente el uso de principios activos cosméticos (polifenol vegetal, flavonoides o ácido cis-urocánico) y bacterias probióticas para reforzar las uniones estrechas con el objetivo de tratar la dermatitis atópica.

No obstante, las soluciones propuestas por estos documentos corresponden a composiciones no definidas de extractos vegetales y lisados bacterianos que pueden dar lugar a reacciones alérgicas o inflamatorias tras la aplicación a la piel humana y cuya composición puede variar de forma significativa de un lote a otro.

60

Por lo tanto, existe una clara necesidad de desarrollar una composición que comprenda compuestos activos dermatológicos puros que contribuyan a restablecer la funcionalidad de las uniones estrechas en las pieles preatópicas y atópicas, que igualmente estén altamente titulados en moléculas activas que permitan prevenir y/o tratar la dermatitis atópica, en concreto a largo plazo y que sean seguros para uso tópico humano, es decir, perfectamente compatibles con la piel e idealmente biomiméticos, es decir, idénticos a los constituyentes de la piel humana.

65

Descripción de la invención

5 El solicitante comprobó que, de manera sorprendente, varios principios activos dermatológicos, que son perfectamente seguros y adecuados para uso cosmético humano, permiten superar los inconvenientes y satisfacer las necesidades descritas anteriormente.

10 La invención tiene por objeto, de manera general, satisfacer una necesidad real, en concreto cosmética, hidratando y calmando la piel, reduciendo la sensación de incomodidad y, en definitiva, mejorando el aspecto de la piel.

En particular, la invención tiene por objeto tratar la dermatitis atópica a fin de mejorar el aspecto de la piel y reducir las imperfecciones.

15 Más concretamente, el solicitante comprobó que los compuestos o principios activos comprendidos en la composición según la invención actúan de manera sinérgica para inducir la expresión de la claudina-1, una proteína estructural clave en las uniones estrechas. Estos compuestos, que son perfectamente biomiméticos, son adecuados para su uso en la formulación de productos dermocosméticos adecuados para la prevención y/o el tratamiento de la dermatitis atópica.

20 En el sentido de la invención, por "principio activo" se denomina una sustancia o un compuesto que posee propiedades biológicas y/o terapéuticas que sustentan un efecto fisiológico.

El principio activo debe distinguirse de al menos un excipiente, presente en la composición según la invención.

25 Por "excipiente" se denomina una sustancia distinta del principio activo que confiere a la composición propiedades, en concreto, de consistencia, galénicas y/o de vectorización del principio activo.

30 En el sentido de la invención, por "compuesto biomimético" se denomina un compuesto que existe de forma natural sobre/en la piel sana y sus anexos o que, tras hidrólisis u oxidación/reducción, se transforma en compuestos que también existen de forma natural sobre/en la piel sana y sus anexos. Según la invención, este compuesto se considera en estado aislado, en una forma idéntica a su forma natural o modificada en relación con su forma natural, pero que sigue siendo citocompatible con la piel independientemente de cómo se obtenga o produzca.

35 De esta manera y según un primer aspecto, la invención hace referencia a una composición que comprende,

- al menos un aminoácido básico, ventajosamente seleccionado del grupo que constituido por arginina, lisina, histidina, ornitina e hidroxiprolina; y

40 - al menos una glicosilceramida.

Según un modo de realización particular, la composición según la invención es una composición cosmética o dermofarmacéutica, ventajosamente cosmética.

45 Los aminoácidos son activos totalmente biomiméticos ya que se encuentran en todos los organismos vivos, bien como constituyentes de proteínas, bien en forma libre como consecuencia de un proceso de degradación de un organismo vivo.

50 En el sentido de la invención, por "aminoácido básico" se denomina todas las formas del aminoácido, incluyendo cualquier sal.

55 Las glicosilceramidas son glicolípidos constituidos por una ceramida unida por un enlace beta-osídico ( $\beta$ -osídico) a una sola osa neutra (monoglicosilceramida) o a varias osas neutras (poliglicosilceramida), siendo una ceramida la amida de una esfingosina y un ácido graso. Ventajosamente, la osa neutra es una hexosa o una desoxihexosa seleccionada del grupo constituido por alosa, altrosa, glucosa, manosa, gulosa, idosa, galactosa, fucosa, fructosa. El ácido graso es ventajosamente de cadena larga y contiene en general de 16 a 18 átomos de carbono, pudiendo la cadena estar opcionalmente hidroxilada. Preferentemente, las ceramidas se eligen del grupo que comprende ceramida 1, ceramida 2, ceramida 3, ceramida 4, ceramida 5, ceramida 6, ceramida 7.

60 Las glicosilceramidas se encuentran en todos los organismos, en concreto en los seres humanos, donde son particularmente abundantes en los tejidos nervioso y cerebral como constituyentes de la vaina de mielina. Por ello, las glicosilceramidas se consideran como compuestos biomiméticos.

65 Según un modo de realización particular, el aminoácido básico comprendido en la composición según la invención es arginina o una de sus sales.

Las diferentes formas de arginina son, en general, D-arginina, D,L-arginina y L-arginina. De entre las sales de ácido

orgánico o mineral de arginina, se puede hacer mención, por ejemplo, a los clorohidratos, los glutamatos, butiratos y glicolatos.

Ventajosamente, la composición según la invención contiene L-arginina.

Según un modo de realización particular, la arginina utilizada en la composición según la invención está en forma purificada, preferentemente con una pureza al menos igual al 60 %, preferentemente al menos igual al 70 %, ventajosamente al menos igual al 80 %, aún más ventajosamente al menos igual al 90 %, o incluso al menos igual al 95 % o incluso al 98 %. La arginina contenida en la composición según la invención puede ser de origen vegetal, químico o bien obtenido por biotecnología. Así, la materia prima cosmética L-arginina, comercializada por la empresa Kyowa Hakko Kogyo Co, Ltd y correspondiente a la denominación INCI arginina puede utilizarse en la composición según la invención.

Según un modo de realización particular, la composición según la invención comprende al menos una glicosilceramida que se presenta en forma de una monoglicosilceramida y/o de una poliglicosilceramida, ventajosamente de una monoglicosilceramida y/o tetraglicosilceramida.

Según un modo de realización preferido, la composición según la invención comprende glicosilceramidas en forma de monoglicosilceramida y tetraglicosilceramida.

Según un modo de realización particular, la composición comprende una monoglicosilceramida correspondiente a un ácido glucurónico (o ácido glucónico) unido covalentemente por un enlace  $\beta$ -osídico a una ceramida.

Según un modo de realización particular, la poliglicosilceramida según la invención corresponde a un oligosacárido unido covalentemente por un enlace  $\beta$ -osídico a una ceramida.

Ventajosamente, la poliglicosilceramida según la invención es una tetraglicosilceramida cuyo oligosacárido corresponde a la siguiente secuencia de osas: ácido glucurónico-glucosamina-galactosa-manosa (o GlcA-GlcN-Gal-Man).

Según un modo de realización particular, la o las glicosilceramidas según la invención están en forma purificada, con una pureza al menos igual al 60 %, preferentemente al menos igual al 70 %, ventajosamente al menos igual al 80 %, aún más ventajosamente al menos igual al 90 %, o incluso al menos igual al 95 %.

La o las glicosilceramidas comprendidas en la composición según la invención pueden ser de origen vegetal, químico o bien obtenido por biotecnología.

Ventajosamente, la composición según la invención comprende al menos una glicosilceramida de origen biotecnológico.

Ventajosamente, todas las glicosilceramidas comprendidas en la composición según la invención son de origen biotecnológico.

Según un modo de realización particular, las glicosilceramidas de la invención son de origen biotecnológico, en concreto como resultado de la extracción de las membranas de las especies bacterianas que las sintetizan, como, por ejemplo, *Pseudomonas spp.* Ventajosamente, las glucosilceramidas se obtienen a partir de la especie bacteriana *Pseudomonas paucimobilis*. De este modo, las materias primas cosméticas Glicoesfingolípido y Bioesfingo, comercializadas respectivamente por las empresas THREE B CO., INC Y KIKKOMAN BIOCHEMIFA COMPANY y correspondientes a la denominación INCI glicoesfingolípidos, pueden utilizarse en la composición según la invención.

Según un modo de realización particular, el al menos un aminoácido básico, ventajosamente arginina o una de sus sales, representa entre el 0,001 % y el 2 % del peso total de la composición, ventajosamente entre el 0,01 % y el 0,5 %.

Según otro modo de realización particular, al menos una glicosilceramida, ventajosamente glicosilceramidas en forma de monoglicosilceramida y tetraglicosilceramida, representa entre el 0,0001 % y el 1 % del peso total de la composición, ventajosamente entre el 0,001 % y el 0,1 %.

En un modo de realización particular, la composición según la invención comprende, al menos un saponósido triterpénico o uno de sus derivados elegido del grupo constituido por ácido glicirretínico, glicirricina, glicirretinato estearílico y diglicirricinato dipotásico.

Estos compuestos, procedentes del regaliz, tienen propiedades antiinflamatorias y se emplean habitualmente en el tratamiento tópico de la dermatitis atópica para combatir el prurito asociado con esta condición de la piel. A título de ejemplo, las materias primas cosméticas 18 $\beta$ -ácido glicirrético, glicirricinato dipotásico y ácido glicirrético y que corresponden respectivamente a las denominaciones INCI ácido glicirretínico, glicirrizato dipotásico y ácido glicirrético

## ES 3 010 500 T3

y al glicerretinato estearílico (todos ellos designados por su denominación INCI y disponibles en el mercado entre los productores enumerados, por ejemplo, en la Guía Internacional de Compradores de la INCI) pueden utilizarse en las composiciones según la invención.

5 Ventajosamente, la composición según la invención comprende, además, aminoácido básico y al menos una glicosilceramida, una combinación de ácido glicerretínico y diglicirricinato dipotásico como agentes antiinflamatorios.

10 Según un modo de realización particular, al menos un saponósido triterpénico o uno de sus derivados representa entre el 0,0001 % y el 10 % del peso total de la composición, ventajosamente entre el 0,01 % y el 5 %, preferentemente entre el 0,05 % y el 1 %.

Según un modo de realización, la composición según la invención comprende, además, al menos un tensioactivo no iónico seleccionado de entre ésteres de sacarosa y/o ésteres de sorbitán.

15 Según un modo de realización particular, el al menos un tensioactivo no iónico según la invención representa el 0,1 % y el 5 % del peso total de la composición, ventajosamente entre el 1 % y el 3 %.

20 Los ésteres de sacarosa y/o ésteres de sorbitán adecuados según la invención se describen en detalle en el documento WO2014/023895 incorporado totalmente por referencia. Estos agentes, solos o en asociación, permiten reducir la adhesión y/o la proliferación de estafilococos aureus en la piel y/o en la mucosa nasal, mejorando posteriormente el cuadro clínico general de la dermatitis atópica.

25 Según un modo de realización preferido, el tensioactivo no iónico de la invención correspondiente a un éster de sorbitán es polisorbato 20 (INCI) o polisorbato 80 (INCI), ventajosamente polisorbato 20.

30 Según otro modo de realización preferido, el tensioactivo no iónico de la invención correspondiente a un éster de sacarosa es un sucroestearato que tiene un valor de equilibrio hidrófilo-lipófilo (HLB) de al menos 16, lo que corresponde a una proporción relativa de monoésteres de sacarosa y ácido esteárico comprendida entre el 75 % y el 80 % en peso de estearato de sacarosa (INCI).

Según un modo de realización particular, el tensioactivo no iónico de la invención representa entre el 0,1 % y el 5 % en peso de la composición, ventajosamente entre el 1 % y el 3 %.

35 Según un modo de realización particular, la composición según la invención comprende, además, al menos un lípido apto para restaurar la barrera cutánea, ventajosamente seleccionado del grupo constituido por:

- al menos un lípido exógeno a la piel, ventajosamente un aceite vegetal;
- una mezcla de constituyentes presentes de forma natural en la piel que comprende ceramidas 1, 3, 6; colesterol; ácidos grasos libres y fitoesfingosina; y
- escualeno.

45 En un modo de realización particular, los lípidos exógenos a la piel corresponden al aceite de girasol (INCI: aceite de semillas de *Helianthus annuus*), aceite de colza (INCI: aceite de canola) y/o aceite de jojoba (INCI: aceite de semillas de *Simmondsia chinensis* (jojoba)). Estos tres aceites vegetales tienen propiedades emolientes y antiinflamatorias conocidas.

50 En un modo de realización particular, la mezcla de constituyentes presentes de forma natural en la piel se presenta en forma de una composición que contiene lípidos que responden a las siguientes denominaciones INCI: Lauroil lactilato de sodio, Ceramida NP, Ceramida AP, Fitoesfingosina, Colesterol, Ceramida EOP.

55 En un modo de realización particular, el lípido apto para restaurar la barrera cutánea es el escualeno, un lípido que se encuentra igualmente en la composición de la piel. El escualeno en el sentido de la invención es ventajosamente de origen vegetal.

Preferentemente, los lípidos aptos para restaurar la barrera cutánea representan entre el 0,01 % y el 25 % en peso de la composición, ventajosamente entre el 1 % y el 15 %.

60 Según un modo de realización particular, la composición de la invención comprende, además, al menos un compuesto polihidroxilado adicional elegido del grupo que comprende ramnosa, xilitol y manitol. Estos compuestos polihidroxilados contribuyen a reducir la adhesión de las bacterias patógenas, como *S. aureus*, en la piel y las mucosas de los seres humanos, incluida la mucosa nasal. El manitol, en lo que respecta al mismo, posee una actividad antirradicalaria.

65 En un modo de realización particular de la invención, la composición comprende una mezcla de los tres compuestos

## ES 3 010 500 T3

polihidroxilados adicionales mencionados anteriormente. Ventajosamente, la ramnosa representa entre el 0,01 % y el 1 % del peso total de la composición, el xilitol representa entre el 0,05 % y el 2 % del peso total de la composición y el manitol representa entre el 0,005 % y el 1 % del peso total de la composición.

5 De manera ventajosa, la composición de la invención comprende, además, vitamina PP, también conocida como vitamina B3, nicotinamida o niacinamida o uno de sus derivados, compuestos conocidos por estimular la síntesis de los lípidos de la capa córnea, tales como las ceramidas, los ácidos grasos libres y el colesterol. La vitamina PP actúa estimulando la actividad de la serina palmitoil transferasa, una enzima clave en la síntesis de la esfingosina, molécula precursora de las ceramidas.

10 Según un modo de realización particular, la niacinamida y/o uno de sus derivados representan entre el 0,001 % y el 10 % del peso total de la composición, ventajosamente entre el 0,01 % y el 5 %, preferentemente entre el 0,1 % y el 2 %.

15 Según un modo de realización particular, la composición de la invención comprende sustancias prebióticas, en concreto oligosacáridos como fructooligosacáridos o FOS (INCI), dextrinas (INCI) de cadena corta, arabinogalactanos (INCI), inulina (INCI) o lactulosa (INCI). En un modo de realización preferido, la composición según la invención contiene FOS, es decir, oligómeros de fructosa y sacarosa con un grado de polimerización comprendido entre 2 y 10. Los FOS contribuyen a la inducción de  $\beta$ -defensinas e igualmente son metabolizados por la flora saprofita. Los FOS tienen propiedades antimicrobianas y permiten reducir el uso de conservantes artificiales como se describe en el documento FR 2 831 059.

20 Ventajosamente, los FOS representan entre el 0,001 % y el 20 % del peso total de la composición, ventajosamente entre el 0,01 % y el 10 %, preferentemente entre el 0,1 % y el 5 %.

25 Según un modo de realización particular, la composición según la invención comprende, además, al menos un inductor de péptidos antimicrobianos, es decir, un principio activo capaz de inducir la síntesis y/o secreción de los péptidos antimicrobianos en los seres humanos (en concreto,  $\beta$ -defensinas) o por la microbiota. Estas propiedades se detectaron en concreto en extractos vegetales, tales como el extracto de *Peumus boldus* (boldo) o el extracto de *Filipendula ulmaria* (reina de los prados).

30 Ventajosamente, el inductor de péptidos antimicrobianos es el extracto de boldo, el extracto de reina de los prados o su mezcla.

35 Según un modo de realización particular, el inductor de péptidos antimicrobianos representa entre el 0,001 % y el 5 % del peso total de la composición, preferentemente entre el 0,01 % y el 1 %.

40 Según un modo de realización particular, la composición según la invención se presenta en una forma adecuada para ser cosmética y/o dermatológicamente aceptable, es decir, compatible con la piel, las mucosas, el cabello, las uñas y/o el cuero cabelludo.

Según un modo de realización preferido, la composición según la invención se presenta en una forma adecuada para una administración por vía tópica.

45 En otro modo de realización, la composición ventajosamente cosmética según la invención comprende además, un sistema bioactivo que combina, por una parte, una forma estable en solución acuosa de un nucleótido elegido de entre ATP (adenosín trifosfato), Gp4G (diguanosín tetrafosfato) y Ap4A (diadenosín tetrafosfato); y, por otra parte, al menos un péptido biomimético que comprenda como máximo seis aminoácidos, ventajosamente diferentes al de la invención, que imite un polipéptido cutáneo o una proteína cutánea o una biomolécula agonista o antagonista de dicho péptido o de dicha proteína. En la práctica, la combinación de estos principios activos permite catalizar la actividad metabólica de las células de la piel al tiempo que obtiene un efecto dermocosmético o terapéutico gracias al uso de los péptidos biomiméticos. Estos últimos pueden seleccionarse a fin de obtener el efecto deseado, por ejemplo, un efecto inhibidor de las irritaciones de origen neurogénico, una actividad despigmentante, un efecto inhibidor de cualquier intolerancia o sensibilización, etc.

55 En la práctica, en el sistema bioactivo según la invención, el nucleótido representa como máximo el 10 % del peso total de la composición, preferentemente entre el 0,001 % y el 5 %; y el péptido biomimético representa entre el 0,001 % y el 1 % del peso total de la composición.

60 Según otro modo de realización, la composición según la invención puede comprender, además, un extracto de la bacteria *Arthrobacter agilis*, en concreto un extracto rico en carotenoides INCI: lisado de *Micrococcus*). Ventajosamente, la composición según la invención comprende un extracto seco de este tipo que representa entre el 0,00001 % y el 0,1 % del peso total de la composición, preferentemente entre el 0,0001 % y el 0,001 %.

65 Según otro modo de realización, la composición según la invención comprende, además, otros componentes que pueden contribuir a la protección interna por una acción que puede consistir en una protección del ADN, una reducción

## ES 3 010 500 T3

de la inmunosupresión inducida por las radiaciones UV, una acción antirradicalaria o un efecto combinado de estas acciones.

5 La acción protectora de una preparación según la invención contra el estrés oxidativo o contra el efecto de los radicales libres puede mejorarse aún más si comprende, además, uno o más antioxidantes, fácilmente seleccionados por los expertos en la materia de entre las materias primas utilizadas en el campo cosmético.

10 En un modo de realización particular de la invención, la composición según la invención contiene igualmente principios activos aptos para estimular la proliferación de las células cutáneas, ventajosamente fibroblastos y/o queratinocitos, preferentemente fibroblastos humanos o animales. En particular y según este modo de realización, la composición según la invención comprende, además:

- ácido  $\alpha$ -lipoico o una de sus sales;

15 - un derivado de la vitamina C elegido de entre ácido etil ascórbico y ascorbato de sodio o su mezcla; y

- ácido hialurónico, cuyo peso molecular (Mw) está ventajosamente comprendido entre 0,5 y 15 kDa, preferentemente 0,5 y 10 kDa.

20 Ventajosamente, el ácido  $\alpha$ -lipoico o una de sus sales representa menos del 0,1 % del peso total de la composición, ventajosamente menos del 0,01 %, preferentemente entre el 0,001 % y el 0,0005 %.

25 Ventajosamente, el derivado de la vitamina C elegido de entre ácido etil ascórbico y ascorbato de sodio o su mezcla, ventajosamente ácido etil ascórbico, preferentemente 3-O éter de ácido ascórbico etílico, representa entre el 0,001 % y el 10 % del peso total de la composición, ventajosamente entre el 0,01 % y el 5 %, preferentemente entre el 0,1 % y el 1 %.

30 Ventajosamente, el ácido hialurónico, cuyo peso molecular (Mw) está ventajosamente comprendido entre 0,5 y 15 kDa, preferentemente 0,5 y 10 kDa, representa entre el 0,001 % y el 10 % del peso total de la composición, ventajosamente entre el 0,01 % y el 5 %, preferentemente entre el 0,1 % y el 1 %.

35 Según otro modo de realización de la invención, la composición comprende, además, al menos uno, o incluso todos los constituyentes siguientes que ejerzan una actividad biológica *in vivo* sobre las células de la piel, labios, cabello y/o mucosas expuestas a una radiación UV-A y/o UV-B, respectivamente:

- un agente antirradicalario que preserva las estructuras celulares, tal como, por ejemplo, la vitamina E y/o sus derivados liposolubles o hidrosolubles, en particular tocotrienol y/o tocoferol, que representan ventajosamente entre el 0,001 % y el 10 % del peso total de la composición, aún más ventajosamente entre el 0,02 % y el 2 %, preferentemente 0,04 %;

40 - un agente limitador de la inmunosupresión, tal como, por ejemplo, la vitamina PP, que representa ventajosamente entre el 0,001 % y el 1 % del peso total de la composición, preferentemente entre el 0,01 % y el 0,3 %;

45 - un agente protector de la proteína p53, tal como, por ejemplo, el galato de epigallocatequina (EGCG), que representa ventajosamente entre el 0,001 % y el 0,1 % del peso total de la composición, preferentemente entre el 0,005 % y el 0,05 %.

La composición según la invención igualmente puede comprender, además, extractos peptídicos de soja y/o trigo.

50 En la práctica, los extractos peptídicos que proceden de granos de soja o de trigo se obtienen por una hidrólisis enzimática de dichos granos mediante peptidasas que permite recuperar péptidos con un tamaño promedio de 700 Da. De manera preferente, el extracto peptídico de soja es el extracto identificado con el número CAS 68607-88-5 y/o el extracto peptídico de trigo es el extracto identificado con el número CAS 70084-87-6. Los extractos de trigo y soja pueden corresponder a las denominaciones INCI proteína de trigo hidrolizada y proteína de soja hidrolizada, respectivamente.

55 En un modo de realización particular, se utilizan conjuntamente extractos peptídicos de soja y trigo, por ejemplo en una relación ponderal comprendida entre 80/20 y 20/80, respectivamente, ventajosamente comprendida entre 70/30 y 30/70, preferentemente igual a 60/40.

60 En un modo de realización ventajoso, los extractos peptídicos de soja y/o trigo están exentos de tripéptidos sintéticos GHK (glicil-histidil-lisina; INCI: Tripéptido-1). En la práctica, los extractos peptídicos de soja y/o trigo representan entre el 0,01 % y el 20 % del peso total de la composición, ventajosamente entre el 0,1 % y el 10 %, preferentemente entre el 0,2 % y el 0,7 %.

65 Según un método de realización alternativo y de manera ventajosa, la composición según la invención comprende,

## ES 3 010 500 T3

además, al menos un filtro UV. La filtración de la luz UV es conocida por mejorar el estado general de la piel de los individuos que padecen dermatitis atópica.

5 En el sentido de la invención, la expresión "filtro UV" engloba los compuestos orgánicos o minerales capaces de filtrar los rayos UV-A, UV-B y/o UV-C.

Según la invención, también pueden ser filtros minerales, filtros químicos u orgánicos.

10 Las composiciones según la invención pueden contener uno o más filtros UV de amplio espectro, es decir, compuestos o mezclas que absorben los rayos UV-A, UV-B, UV-C y posiblemente la luz visible.

15 De entre los filtros orgánicos de amplio espectro, en el contexto de la invención pueden utilizarse filtros correspondientes a las siguientes designaciones INCI: tris bifenil triazina, bis etilhexiloxifenol metoxifenil triazina, metilen bis-benzotriazolil tetrametilbutilfenol. Otro ejemplo de filtro de amplio espectro adecuado para la composición según la invención responde a la designación INCI dietilhexil butamido triazona.

20 De esta manera y en un modo de realización particular, la composición según la invención comprende al menos un filtro elegido del siguiente grupo de compuestos identificados por su designación INCI: tris bifenil triazina, bis etilhexiloxifenol metoxifenil triazina y metilen bis-benzotriazolil tetrametilbutilfenol, dietilhexil butamido triazona o sus mezclas.

Ventajosamente, la composición comprende el filtro bis-etilhexiloxifenol metoxifenil triazona.

25 Según otro modo de realización, en lugar de o además del filtro o filtros de amplio espectro, la composición contiene al menos un filtro UV-A y/o UV-B, orgánico y/o mineral, que puede presentarse en fase acuosa (lipófila) y/o aceitosa (liposoluble).

30 De este modo y como ejemplo, la composición según la invención puede contener filtros UV-B liposolubles, que pueden contribuir a la estabilización o a la solubilización de los filtros de amplio espectro o incluso a estabilizarse recíprocamente y, por este hecho, aumentar el factor de protección solar (FPS o "SPF" en inglés).

Ventajosamente, dichos filtros corresponden a las siguientes denominaciones INCI: homosalato, octocrileno, salicilato de etilhexilo, etilhexil triazona.

35 En un modo de realización preferido, la composición según la invención comprende etilhexil triazona.

40 En otro modo de realización, el filtro UV-B liposoluble es  $\alpha$ -(trimetilsilil)- $\omega$ -(trimetilsililoxi)poli[oxi(dimetil)silileno]-co-[oxi(metil)(2-{4-[2,2-bis(etoxicarbonil)vinil]fenoxi}-1-metilenetil)silileno]-co-[oxi(metil)(2-(4-[2,2-bis(etoxicarbonil)vinil]fenoxi)prop-1-enil)silileno], un polímero de silicona capaz de filtrar los rayos UV-B (INCI: polisilicona-15).

45 En un modo de realización preferido, la composición según la invención comprende al menos un filtro UV-B elegido del siguiente grupo de compuestos identificados por su denominación INCI: homosalato, salicilato de etilhexilo, etilhexil triazona, polisilicona-15 o sus mezclas.

En un modo de realización particular, la composición está exenta de los siguientes filtros: 4-metilbenciliden alcanfor, benzofenona-2, benzofenona-3, metoxicinamato de etilhexilo, octocrileno.

50 En un modo de realización ventajoso, la composición según la invención comprende al menos un filtro UV-A, a fin de garantizar una filtración completa de la parte nociva del espectro solar.

Los filtros UV-A ventajosos en el sentido de la presente invención son butil metoxidibenzoilmetano (INCI) y dietilamino hidroxibenzoil hexil benzoato (INCI).

55 En un modo de realización particular, el filtro UV-A es bis-(dietilaminohidroxibenzoil benzoil) piperazina (INCI) (número CAS 919803-06-8).

60 De esta manera y en un modo de realización preferido, la composición según la invención comprende al menos un filtro elegido del siguiente grupo de compuestos identificados por su designación INCI: butil metoxidibenzoilmetano, dietilamino hidroxibenzoil hexil benzoato, bis-(dietilaminohidroxibenzoil benzoil) piperazina o sus mezclas.

Otros filtros UV ventajosos en el sentido de la presente invención son los filtros hidrosolubles, como, por ejemplo:

- 65
- el filtro correspondiente a la denominación INCI tetrasulfonato disódico de fenil dibenzimidazol.
  - el filtro correspondiente a la denominación INCI ácido fenilbenzimidazol sulfónico,

## ES 3 010 500 T3

- 5 En un modo de realización preferido, la composición según la invención comprende al menos un filtro hidrosoluble elegido del siguiente grupo de compuestos identificados por su denominación INCI: tetrasulfonato disódico de fenil dibenzimidazol, ácido fenilbenzimidazol sulfónico o sus mezclas.
- 10 Ventajosamente, los filtros minerales inorgánicos o pantallas minerales, son óxidos metálicos y/u otros compuestos difícilmente solubles o insolubles en agua, en particular óxidos de titanio ( $\text{TiO}_2$ ), de zinc ( $\text{ZnO}$ ), de hierro ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ), de zirconio ( $\text{ZrO}_2$ ), de silicio ( $\text{SiO}_2$ ), de manganeso (por ejemplo  $\text{MnO}$ ), de aluminio ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) o de cerio ( $\text{Ce}_2\text{O}_3$ ).
- 15 Según un modo de realización particular, los filtros minerales inorgánicos pueden utilizarse en forma de predispersión oleosa o acuosa disponible en el mercado. Estas predispersiones pueden complementarse ventajosamente con auxiliares de dispersión y/o mediadores de solubilización.
- Los filtros minerales inorgánicos pueden igualmente tratarse en superficie o encapsularse, a fin de conferirles un carácter hidrófilo, anfílico o hidrófobo. Este tratamiento de superficie puede consistir en dotar a los filtros minerales de una fina película inorgánica y/u orgánica hidrófila y/o hidrófoba.
- 20 En un modo de realización preferido, la composición según la invención comprende al menos una pantalla mineral elegida del siguiente grupo de compuestos identificados por su denominación INCI: Óxido de zinc, Dióxido de titanio o sus mezclas.
- Las listas de filtros UV mencionadas que pueden implementarse en el sentido de la presente invención se dan, por supuesto, a título indicativo y no limitativo.
- 25 De manera ventajosa, los filtros UV como se ha descrito anteriormente, presentes en la composición según la invención, representan entre el 0,1 % y el 30 % del peso total de la composición, ventajosamente entre el 0,5 % y el 20 %, aún más ventajosamente entre el 1 % y el 15 %.
- 30 Según un modo de realización particular, la composición según la invención presenta un factor de protección solar ("SPS" o FPS) superior o igual a 10, preferentemente, superior o igual a 20, ventajosamente superior o igual a 30, aún más ventajosamente superior o igual a 50.
- 35 Según un modo de realización preferido, la composición según la invención incluye una relación de protección UV-A/UV-B igual o superior a 1/3.
- La composición solar según la invención comprende al menos un solubilizante de filtros solares.
- 40 La composición según la invención, puede además comprender un "potenciador" de SPF, es decir, un agente amplificador del factor de protección solar y/o un fotoestabilizador, es decir, un ingrediente que permite aumentar el SPF o fotoestabilizar los filtros, dado que dicho ingrediente no se considera en sí mismo un filtro solar. Se puede hacer mención a por ejemplo:
- 45 - butiloctil salicilato (INCI), fotoestabilizador que representa ventajosamente entre el 0,01 % y el 10 % del peso total de la composición, aún más ventajosamente entre el 0,1 % y el 2 %;
  - benzotriazolil dodecil p-cresol (INCI), fotoestabilizador que representa ventajosamente entre el 0,01 % y el 10 % del peso total de la composición, aún más ventajosamente entre el 0,1 % y el 2 %.
  - pongamol (INCI), una molécula vegetal que absorbe los UV-A, que representa ventajosamente entre el 0,5 y el 2 % del peso total de la composición, aún más ventajosamente del orden del 1 %.
  - 50 - etilhexil metoxicrileno (INCI), fotoestabilizador, solubilizante y "potenciador" de SPF que representa ventajosamente entre el 1 % y el 5 % del peso total de la composición;
  - un copolímero de estireno y acrilato (INCI: copolímero de estireno/acrilato), que representa preferentemente entre el 1 % y el 10 % del peso total de la composición según la invención.
  - 55 - dietilhexil siringilideno malonato (INCI), que representa ventajosamente entre el 1 % y el 10 % del peso total de la composición.
  - un poliéster hidrodispersable, correspondientes a las denominaciones INCI poliéster-5 (y) silicoaluminato de sodio, que representa ventajosamente entre el 1 % y el 10 % del peso total de la composición,
  - 60 - un copolímero de acrilato con una temperatura de transición vítrea de  $-5\text{ }^\circ\text{C}$  a  $-15\text{ }^\circ\text{C}$ , medida por calorimetría diferencial de barrido, representando dicho copolímero ventajosamente entre el 1 % y el 10 % del peso total de la composición.
- 65 Según un modo de realización particular, la composición de la invención comprende, además, una partícula ventajosamente coloreada con efecto difuminador o una mezcla de varias partículas con efecto difuminador. Estas

partículas con efecto difuminador igualmente se conocen como "partículas con efecto de enfoque suave" o incluso "partículas con efecto de desenfoque".

5 En el sentido de la invención, por "partícula con efecto difuminador", se designa una partícula, ventajosamente coloreada, destinada a dar más transparencia a la tez y un efecto de desenfoque. En particular, la partícula con efecto difuminador permite a la composición que la contiene atenuar, por efecto óptico, el microrrelieve cutáneo y, en particular, los defectos de la piel tales como manchas, arrugas, líneas de expresión.

10 Varias partículas con efecto de enfoque suave o difuminador están disponibles en los mercados. A título de ejemplo, se puede hacer mención a las materias primas de la gama Ronasphere a base de sustratos de sílice, comercializada por la empresa MERCK, así como varias materias primas comercializadas por las empresas JGC-C&C (gama Coverleaf a base de sustratos de sericita o sericita/talco), NIHON KOKEN (gama Relief Color, Silséem a base de un sustrato de mica/sílice) o MIYOSHI KASEI (gama PC-Bail a base de un sustrato de sílice).

15 Según todavía otro modo de realización, la materia prima KSP-100 comercializada por la empresa SHINETSU correspondiente a la denominación INCI polímero cruzado de vinil dimeticona/silsesquioxano de meticona puede utilizarse como partícula con efecto difuminador.

20 Preferentemente, las partículas con efecto difuminador comprendidas en la composición de la invención representan entre el 0,5 % y el 20 % del peso total de la composición, ventajosamente entre el 1 % y el 10 %, aún más ventajosamente entre el 1 % y el 5 %.

25 Según un modo de realización particular, la composición según la invención puede comprender, además, cualquier sustancia grasa utilizada normalmente en el campo cosmético. Se puede hacer mención en concreto a las sustancias grasas a base de silicona, tales como aceites, gomas y ceras de silicona; así como las sustancias grasas no siliconadas tales como aceites y ceras de origen vegetal, mineral, animal y/o sintético. Los aceites pueden ser volátiles o no volátiles. Se puede hacer mención incluso a los hidrocarburos, ésteres y éteres sintéticos, alcoholes grasos y ácidos grasos.

30 Según un modo de realización particular, la composición puede comprender, además, un medio acuoso, un medio hidroalcohólico que contenga un alcohol como el etanol o un medio orgánico que comprenda disolventes orgánicos convencionales como los alcoholes C1-6, en concreto etanol e isopropanol, glicoles tales como propilenglicol, cetonas.

35 Según un modo de realización particular, la composición según la invención comprende, además, al menos un emulsionante convencional, elegido de entre emulsionantes anfóteros, aniónicos, catiónicos o no iónicos, utilizados solos o como mezcla.

40 Según un modo de realización particular, la composición según la invención comprende, además, los adyuvantes habituales en el campo en cuestión, tales como espesantes o gelificantes hidrófilos o lipófilos, aditivos hidrófilos o lipófilos, activos, en concreto cosméticos, conservantes, antioxidantes, perfumes, cargas, pigmentos, absorbentes de olores, colorantes, hidratantes (glicerina), vitaminas, ácidos grasos esenciales, polímeros liposolubles, en concreto polímeros hidrocarbonados, opacificantes, estabilizantes, secuestrantes, acondicionadores y agentes propulsores.

45 Por supuesto, el experto en la materia se encargará de elegir este o estos posibles adyuvantes o excipientes complementarios y/o su cantidad, de tal manera que las propiedades ventajosas de la composición según la invención no sean o sustancialmente no sean, alteradas por la adición prevista.

50 La composición según la invención se formula ventajosamente para ser cosméticamente aceptable, es decir, compatible con la piel, las mucosas, el cabello y el cuero cabelludo. Preferentemente, la composición de la invención es una composición para aplicación cutánea o de uso tópico.

Por "composición para aplicación cutánea" o "de uso tópico" se designa una composición compatible con una aplicación sobre la piel, las mucosas, el cabello y/o el cuero cabelludo, preferentemente piel humana.

55 La composición de la invención puede presentarse en cualquier forma galénica apropiada para una aplicación tópica, en concreto en forma de solución acuosa, hidroalcohólica, orgánica o aceitosa; de suspensión o de dispersión en disolventes o sustancias grasas, de tipo loción o suero; en forma de dispersión vesicular; en forma de emulsión de agua en aceite (AG/AC), aceite en agua (AC/AG) o múltiple tal como una emulsión de agua en aceite en agua (AG/AC/AG). La emulsión puede ser más o menos espesa y se presenta en forma de crema o leche; la composición de la invención también puede presentarse en forma de pomada, gel, barra sólida, productos anhidros pastosos o sólidos, espuma, en concreto aerosol, de composición bifásica o incluso de composición pulverizable.

65 La forma galénica de la composición y su modo de preparación y, por consecuencia, los excipientes apropiados para la composición de la invención, pueden elegirse por el experto en la materia basándose en su conocimiento general en función del tipo de composición requerida.

Puede ser particularmente ventajoso formular la composición de la invención de modo que sea pulverizable. Esto puede lograrse, por ejemplo, formulando emulsiones específicas que comprendan combinaciones particulares de excipientes. Según otro aspecto, la invención se refiere a un procedimiento de tratamiento cosmético que consiste en aplicar sobre la piel una composición como se ha definido anteriormente. Según otro aspecto, la invención hace referencia a una composición, ventajosamente cosmética, que comprenda al menos una glicosilceramida, ventajosamente una monoglicosilceramida y/o una poliglicosilceramida, para la prevención y/o el tratamiento de la dermatitis atópica.

Según un modo de realización particular, la al menos una glicosilceramida, ventajosamente una monoglicosilceramida y/o una poliglicosilceramida, es tal como se ha descrito anteriormente.

La invención se refiere igualmente a la composición como se ha definido anteriormente para el uso en un método de tratamiento de la dermatitis atópica mediante una aplicación a la piel.

Según otro aspecto, la invención hace referencia a una composición, ventajosamente cosmética, que comprende:

- al menos un aminoácido básico seleccionado del grupo constituido por arginina, lisina, histidina, ornitina, hidroxiprolina y una de sus sales y
- al menos una glicosilceramida,

para su uso en la prevención y/o el tratamiento de la dermatitis atópica.

Según otro aspecto particular, la invención hace referencia a una composición que comprende al menos una glicosilceramida, ventajosamente una monoglicosilceramida y/o una poliglicosilceramida, preferentemente en combinación con al menos un aminoácido básico seleccionado del grupo constituido por arginina, lisina, histidina, ornitina, hidroxiprolina y una de sus sales, para su uso para:

- inducir la expresión o aumentar la expresión, de al menos un gen que codifique una proteína transmembrana constitutiva de las uniones estrechas, ventajosamente la claudina-1; y/o
- inducir un aumento del contenido de al menos una proteína transmembrana constitutiva de las uniones estrechas, ventajosamente la claudina-1; y/o
- mejorar la integridad de las uniones estrechas; y/o
- reforzar, mejorar, la función de barrera de la piel.

Según un modo de realización particular, el aminoácido básico comprendido en la composición para su uso según la invención es arginina o una de sus sales.

Ventajosamente, la composición para su uso según la invención contiene L-arginina.

Según un modo de realización particular, la composición para su uso según la invención comprende al menos una glicosilceramida correspondiente a una monoglicosilceramida y/o poliglicosilceramida, ventajosamente una monoglicosilceramida y/o tetraglicosilceramida.

Según un modo de realización preferido, la composición para su uso según la invención comprende glicosilceramidas en forma de monoglicosilceramida y tetraglicosilceramida.

Según un modo de realización particular, la composición para su uso según la invención comprende una monoglicosilceramida correspondiente a un ácido glucurónico (o ácido glucónico) unido covalentemente por un enlace  $\beta$ -osídico a una ceramida.

Según un modo de realización particular, la poliglicosilceramida comprendida en la composición para su uso según la invención corresponde a un oligosacárido unido covalentemente por un enlace  $\beta$ -osídico a una ceramida.

Ventajosamente, la poliglicosilceramida comprendida en la composición para su uso según la invención es una tetraglicosilceramida cuyo oligosacárido corresponde a la siguiente secuencia de osas: ácido glucurónico-glucosamina-galactosa-manosa (o GlcA-GlcN-Gal-Man).

La o las glicosilceramidas comprendidas en la composición para su uso según la invención pueden ser de origen vegetal, químico o bien obtenido por biotecnología.

Ventajosamente, la composición para su uso según la invención comprende al menos una glicosilceramida de origen biotecnológico.

## ES 3 010 500 T3

Ventajosamente, todas las glicosilceramidas comprendidas en la composición para su uso según la invención son de origen biotecnológico.

5 Según un modo de realización particular, el al menos un aminoácido básico, ventajosamente arginina o una de sus sales, representa entre el 0,001 % y el 2 % del peso total de la composición, ventajosamente entre el 0,01 % y el 0,5 %.

10 Según otro modo de realización particular, la al menos una glicosilceramida, ventajosamente glicosilceramidas en forma de monoglicosilceramida y tetraglicosilceramida, representa entre el 0,0001 % y el 1 % del peso total de la composición, ventajosamente entre el 0,001 % y el 0,1 %.

Según un modo de realización particular, la composición para su uso según la invención es la descrita anteriormente (véase el primer aspecto de la invención).

15 Ventajosamente y en relación con estas diferentes aplicaciones terapéuticas, la composición de la invención está en una forma galénica adecuada para una administración por vía tópica.

20 Una forma de demostrar el efecto de la composición según la invención en la prevención y/o el tratamiento de la dermatitis atópica es, por ejemplo, una evaluación de la expresión de al menos un gen que codifica una proteína transmembrana constitutiva de las uniones estrechas como la claudina-1. Como alternativa, esto puede implicar el análisis cualitativo y/o cuantitativo de al menos una proteína transmembrana constitutiva de las uniones estrechas como la claudina-1. A título de ejemplo, se puede hacer mención a un análisis por cromatografía y/o espectrometría de masas, por inmunoelectrotransferencia o por marcaje inmunohistoquímico.

25 La forma en que puede realizarse la invención y las ventajas que de ella se derivan quedarán más claras a partir de los siguientes ejemplos de realización, proporcionados con carácter indicativo y no limitante, basándose en la figura adjunta.

30 Descripción de las figuras

La figura 1 muestra el efecto de la arginina (A), de las glicosilceramidas (GC) y de sus combinaciones (A + GC) sobre la expresión de la claudina-1 en un modelo celular de dermatitis atópica. Las condiciones de "control" corresponden al control negativo (no inhibido o C<sup>-</sup>) y al control positivo (inhibido o C<sup>+</sup>). El porcentaje de inducción de la síntesis de claudina-1 está relacionado con el control positivo inhibido (100 %). \*\* indica un nivel de significación estadística p comprendido entre 0,001 y 0,01 (altamente significativo) y \*\*\* indica un nivel de significación estadística p < 0,001 (extremadamente significativo).

Ejemplos de realización

40 EJEMPLO 1: COMPOSICIÓN COSMÉTICA EN EL SENTIDO DE LA INVENCION - PULVERIZACION

En la tabla 1 se describe una composición según la invención.

Ingrediente (INCI)	Peso (en %)
Aqua/water/agua	csp 100
Glicerina	15,00
Dipropilenglicol	9,00
Isoestearato de isostearilo	2,00
Caprilato de propilheptilo	1,999
Escualano	1,00
Cocoil glutamato sódico	0,8825
Ácido glicirretínico	0,50
Pentilenglicol	0,50
Ornitina	0,30
EDTA disódico	0,20
Ácido cítrico	0,17
Propanodiol	0,125
Goma xantana	0,10

## ES 3 010 500 T3

(continuación)

Ingrediente (INCI)	Peso (en %)
Tocoferol	0,036
Lecitina	0,0201
Aceite de semilla de <i>Helianthus annuus</i> (girasol)	0,015
Glicosfingolípidos	0,007

### EJEMPLO 2: COMPOSICIÓN COSMÉTICA EN EL SENTIDO DE LA INVENCION - GEL

5 En la tabla 2 se describe una composición según la invención.

Ingrediente (INCI)	Peso (en %)
Aqua/Water/Agua	csp 100
Glicerina	2,00
Copolímero de acrilato de hidroxietilo/acriloldimetil taurato de sodio	1,125
Isohexadecano	0,765
Dióxido de titanio [Nano]	0,375
Fenoxietanol	0,35
1,2-hexanodiol	0,26
Lisina	0,20
Polisorbato 20	0,165
Alúmina	0,045
Glicosfingolípidos	0,005

### EJEMPLO 3: COMPOSICIÓN COSMÉTICA EN EL SENTIDO DE LA INVENCION - EMULSION DE AC/AG

10 En la tabla 3 se describe una composición según la invención.

Ingrediente (INCI)	Peso (en %)
Aqua/water/agua	csp 100
Glicerina	13,00
Aceite de semillas de <i>Brassica campestris</i> (colza)	11,00
Paraffinum liquidum/mineral oil/aceite mineral	8,00
Alcohol behenílico	2,00
Dipropilenglicol	2,00
Estearato de sacarosa	2,00
Aceite de semillas de <i>Simmondsia chinensis</i> (jojoba)	1,00
Copolímero de acrilato de hidroxietilo/acriloldimetil taurato de sodio	0,616
Pentilenglicol	0,50
Polímero cruzado de acrilatos/acrilato de alquilo C10-C30	0,30
Caprilil glicol	0,2545
1,2-hexanodiol	0,25
Arginina	0,20
Citrato sódico	0,20
Glicirrizato dipotásico	0,10
Ácido glicirretínico	0,10
Lauroil lactilato de sodio	0,10
Polisorbato 60	0,042

(continuación)

Ingrediente (INCI)	Peso (en %)
Isoestearato de sorbitán	0,042
Ácido cítrico	0,040
Tocoferol	0,035
Metilpropanodiol	0,0246
Fitoesfingosina	0,02
Trietil citrato	0,02
Aceite de semilla de <i>Helianthus annuus</i> (girasol)	0,015
Ceramida NP	0,01
Ceramida AP	0,006
Colesterol	0,005
Carbómero	0,004
Goma xantana	0,004
Glicosfingolípidos	0,003
Fenilpropanol	0,0009
Ceramida EOP	0,00001

EJEMPLO 4: EFECTO DE LA COMPOSICIÓN SEGÚN LA INVENCION SOBRE LA EXPRESIÓN DE LA PROTEÍNA CLAUDINA-1 EN UN MODELO CELULAR *IN VITRO* DE DERMATITIS ATOPICA

5

1. Material y métodos

1.1. Modelo biológico y líneas celulares

10 Línea celular:

- tipo celular: Queratinocitos epidérmicos humanos normales (NHEK; referencia: Bioalternatives K341), utilizados en la 3ª pasada - condiciones de cultivo: 37 °C, con CO<sub>2</sub> al 5 %
- medio de cultivo: Queratinocito-SFM complementado con el factor de crecimiento epidérmico (*Epidermal Growth Factor* o EGF) a una concentración de 0,25 ng/ml, un extracto pituitario (EP) a una concentración de 25 µg/ml y gentamicina a una concentración de 25 µg/ml
- medio de ensayo implementado para este ejemplo: Queratinocito-SFM complementado con gentamicina a una concentración de 25 µg/ml.

20 Se realiza un cultivo de queratinocitos humanos normales a fin de analizar las sustancias; brevemente el protocolo es el siguiente:

- inducción de la diferenciación de los queratinocitos por calcio a 0,75 mM durante 24 horas;
- tratamiento con el compuesto 1 hora antes de la inducción por alarminas;
- tratamiento con las siguientes alarminas: histamina, IL-33 e IL-1β, en las siguientes concentraciones respectivas: 50 µM, 100 ng/ml y 100 ng/ml, a fin de inducir el fenotipo de dermatitis atópica, caracterizado por una disminución de la expresión de la claudina-1.

30

A continuación, se realiza un inmunomarcaje de claudina-1.

1.2. Compuestos activos de la composición según la invención

35 Los compuestos implementados, solos o en combinación, en este ejemplo se representan en la tabla 4 a continuación.

Compuestos activos según la invención	Solución madre	Concentraciones analizadas
Arginina	10 % de agua ultrapura	0,02 %, 0,04 %, 0,1 % y 0,2 %
Glicosilceramidas	5 % de agua ultrapura	0,0003 %, 0,0006 %, 0,0015 % y 0,003 %

### 1.3. Prueba de citotoxicidad

Se realizan pruebas preliminares de citotoxicidad en queratinocitos humanos normales en un medio de ensayo que comprende además  $\text{CaCl}_2$  a una concentración de 0,75 mM. Estas pruebas preliminares combinan el método de reducción de la sal de tetrazolio MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolio) con observaciones morfológicas microscópicas.

Al final del tratamiento (72 h de incubación), las células se incubaron en presencia de MTT, cuya transformación en cristales azules de formazán es proporcional a la actividad de la succinato deshidrogenasa (enzima mitocondrial). Tras la disociación de las células y la solubilización del formazán mediante la adición de DMSO, la densidad óptica (DO), representativa del número de células vivas y de su actividad metabólica, se midió con un espectrofotómetro (VERSAmax, Molecular Devices) a 540 nm.

Los resultados de la prueba de viabilidad con MTT y la observación de las capas celulares condujeron a la selección de las concentraciones de compuestos activos según la composición de la invención a analizar en el resto del estudio para el compuesto de interés (véase la tabla 2).

### 1.4. Cultivo y tratamiento

Se sembraron queratinocitos en placas de 96 pocillos y se cultivaron en medio de cultivo durante 72 horas, a continuación, en medio de ensayo que contenía el inductor de diferenciación  $\text{CaCl}_2$  (0,75 mM) durante otras 24 horas. A continuación, el medio se sustituyó por un medio de ensayo que contenía el inductor  $\text{CaCl}_2$  (0,75 mM) y que contenía o no (control) los compuestos activos de la invención, solos o en combinación o el disolvente de control (DMSO analizado al 0,02 %), después se preincubaron las células durante 1 hora. A continuación se añadió la mezcla de alarminas: histamina, IL-33 e IL-1 $\beta$  (en las siguientes concentraciones respectivas: 50  $\mu\text{M}$ , 100 ng/ml y 100 ng/ml) y se incubaron las células durante 72 horas. En paralelo, se realizó una condición de control no estimulada/diferenciada y no inhibida (medio de ensayo sin  $\text{CaCl}_2$  y sin alarminas) y una condición de control no inhibida (medio de ensayo con  $\text{CaCl}_2$  y sin alarminas).

Para cada condición, el análisis se realizó a partir de 30 cuantificaciones de imágenes (n = 30), excepto para las condiciones de control realizadas a partir de 60 cuantificaciones de imágenes (n = 60). Se realizó una primera explotación de los resultados teniendo en cuenta todas las cuantificaciones, seguido de una segunda únicamente los resultados por réplicas de cultivo, es decir, por triplicados (n = 3), excepto para las condiciones de control realizadas por hexuplicados (n = 6).

### 1.5. Inmunomarcaje in situ

Después de la incubación, se eliminó el medio y las células se enjuagaron, fijaron y permeabilizaron. A continuación, las células se marcaron con el anticuerpo primario dirigido contra la claudina-1. A continuación, este anticuerpo se reveló mediante un anticuerpo secundario acoplado a un fluorocromo (GAM-Alexa 488). En paralelo, los núcleos celulares se tificaron con Hoechst 33258 (bis-benzimida).

### 1.6. Observaciones microscópicas y análisis de imágenes

La adquisición de imágenes se realizó con un sistema de formación de imágenes de alta resolución, INCell Analyzer™2200 (GE Healthcare; objetivo x20). Para cada pocillo, se efectuaron 10 capturas de imágenes escaneadas.

Los marcajes se cuantificaron midiendo la intensidad de fluorescencia de las proteínas en relación con el número total de células identificadas mediante tinción con bis-benzimida (integración de datos digitales utilizando el software Developer Toolbox 1.5), GE Health care).

### 1.7. Tratamiento de datos

Los datos brutos se transfirieron y procesaron con el software Microsoft Excel®.

Las comparaciones entre grupos se realizaron mediante la prueba de la t de Student bilateral no apareada. Los análisis estadísticos pueden interpretarse si  $n \geq 5$ . Sin embargo, para  $n < 5$ , los datos calculados solamente se facilitan a título indicativo.

Fórmulas utilizadas en este informe:

- El error típico de la media (etm) representa la desviación de la media de la muestra con respecto a la media de la población real. El etm se calcula dividiendo la desviación típica (DT) por la raíz cuadrada del tamaño de la muestra mediante la siguiente fórmula:  $\text{etm} = \text{desviación típica (DT)} / \sqrt{n}$ ;

- El porcentaje de viabilidad se calcula según la fórmula siguiente:  $\text{viabilidad (\%)} = (\text{DO de compuesto} / \text{DO de control})$

x 100;

- El nivel de significación estadística es el siguiente: ns: > 0,05 (no significativo); \* = 0,01 a 0,05 (significativo); \*\* = 0,001 a 0,01 (altamente significativo); \*\*\* = < 0,001. (extremadamente significativo). La significación se calculó comparando estadísticamente la diferencia entre los resultados de los activos solos y la combinación en cada dosis.

Los resultados se representan en la figura 1.

## 2. Resultados

En condiciones de control no estimuladas/no diferenciadas por calcio ( $\text{CaCl}_2$ ), el inmunomarcaje de claudina-1 está presente en algunas células de forma puntiforme en el citoplasma y a veces en las membranas.

Como se esperaba, la diferenciación por  $\text{CaCl}_2$  a una concentración de 0,75 mM indujo un aumento de la expresión de la proteína de uniones estrechas analizada (claudina-1). Esta inducción es fuerte y claramente significativa y se traduce por un aumento importante de la expresión de claudina-1 tanto a nivel de membrana como citoplasmático.

El tratamiento con la mezcla de alarminas (histamina + IL-1 + IL-33 analizadas a 50  $\mu\text{M}$  + 100 ng/ml + 100 ng/ml) en queratinocitos estimulados/diferenciados por calcio ( $\text{CaCl}_2$ ) a 0,75 mM, indujo un efecto inhibitor significativo sobre la expresión de claudina-1 (media de alrededor del 61,5 % del control).

El efecto del tratamiento con los compuestos activos de la invención, solos o en combinación, sobre la expresión de claudina-1 se representan en la figura 1.

De estos resultados se deduce que la arginina (A) y las glicosilceramidas (GC) analizadas solas (% con respecto a  $\text{C}^+$ ) revierten significativamente el efecto inhibitor de la mezcla de alarminas sobre la expresión de claudina-1.

La combinación de arginina y glicosilceramidas (A + GC) ejerce un mayor efecto de inducción de la expresión de claudina-1 que cuando se analizaron estos compuestos solos. En todas las combinaciones de concentración analizadas, el aumento fue muy significativo (\*\*\*) o extremadamente significativo (\*\*) y, en cada caso más que complementario, lo que significa una inesperada sinergia potenciadora de la combinación de arginina y glicosilceramidas en la inducción de la expresión de claudina-1 y, por consiguiente, en el refuerzo de la función de barrera de la piel y en la prevención y/o el tratamiento de la dermatitis atópica.

## BIBLIOGRAFÍA

Batista, D.I.S., Perez, L., Orfali, R.L., Zaniboni, M.C., Samorano, L.P., Pereira, N.V., Sotto, M.N., Ishizaki, A.S., Oliveira, L.M.S., Sato, M.N., *et al.* (2015). Profile of skin barrier proteins (filaggrin, claudins 1 and 4) and Th1/Th2/Th17 cytokines in adults with atopic dermatitis. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 29: 1091-1095.

Brandner, J.M., Kief, S., Grund, C., Rendl, M., Houdek, P., Kuhn, C., Tschachler, E., Franke, W.W., y Moll, I. (2002). Organization and formation of the tight junction system in human epidermis and cultured keratinocytes. *Eur. J. Cell Biol.* 81: 253-263.

Cipriani, F., Dondi, A., y Ricci, G. (2014). Recent advances in epidemiology and prevention of atopic eczema. *Off. Publ. Eur. Soc. Pediatr. Allergy Immunol.* 25: 630-638.

Gruber, R., Börnchen, C., Rose, K., Daubmann, A., Volksdorf, T., Wladykowski, E., Vidal-Y-Sy, S., Peters, E.M., Danso, M., Bouwstra, J.A., *et al.* (2015). Diverse regulation of claudin-1 and claudin-4 in atopic dermatitis. *Am. J. Pathol.* 185: 2777-2789.

Halling-Overgaard, A.-S., Kezic, S., Jakasa, I., Engebretsen, K.A., Maibach, H., y Thyssen, J.P. (2017). Skin absorption through atopic dermatitis skin: a systematic review. *Br. J. Dermatol.* 177: 84-106.

Mack, M.R., y Kim, B.S. (2018). The Itch-Scratch Cycle: A Neuroimmune Perspective. *Trends Immunol.* 39: 980-991.

Mochizuki, H., Lavery, M.J., Nattkemper, L.A., Albornoz, C., Valdes Rodriguez, R., Stull, C., Weaver, L., Hamsher, J., Sanders, K.M., Chan, Y.H., *et al.* (2019). Impact of acute stress on itch sensation and scratching behaviour in patients with atopic dermatitis and healthy controls. *Br. J. Dermatol.* 180: 821-827.

Weidinger, S., Beck, L.A., Bieber, T., Kabashima, K., e Irvine, A.D. (2018). Atopic dermatitis. *Nat. Rev. Dis. Primer* 4: 1.

REIVINDICACIONES

1. Composición que comprende:
- 5       - al menos un aminoácido básico seleccionado del grupo constituido por arginina, lisina, histidina, ornitina, hidroxiprolina y una de sus sales; y  
      - al menos una glicosilceramida que se presenta en forma de una monoglicosilceramida correspondiente a un ácido glucurónico unido covalentemente a una ceramida y/o de una poliglicosilceramida correspondiente a un oligosacárido unido covalentemente a una ceramida.
- 10       2. Composición según la reivindicación 1, caracterizada por que el aminoácido básico es arginina o una de sus sales.
3. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que la poliglicosilceramida se presenta en forma de una tetraglicosilceramida.
- 15       4. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, caracterizada por que la glicosilceramida se presenta en forma de una monoglicosilceramida y de una tetraglicosilceramida.
5. Composición según la reivindicación 4, caracterizada por que:
- 20       - el oligosacárido unido covalentemente a la ceramida es ácido glucurónico-glucosamina-galactosa-manosa.
6. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que la al menos una glicosilceramida se obtiene por extracción a partir de membranas de al menos una especie bacteriana.
- 25       7. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que el al menos un aminoácido básico, ventajosamente arginina, representa entre el 0,001 % y el 2 % del peso total de la composición, ventajosamente entre el 0,01 % y el 0,5 %.
- 30       8. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que la al menos una glicosilceramida, representa entre el 0,0001 % y el 1 % del peso total de la composición, ventajosamente entre el 0,001 % y el 0,1 %.
9. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que comprende, además:
- 35       - al menos un saponósido triterpénico o uno de sus derivados elegido del grupo constituido por ácido glicirretínico, glicirricina, glicirretinato estearílico y diglicirricinato dipotásico; y/o  
      - al menos un tensioactivo no iónico seleccionado de entre ésteres de sorbitán y/o ésteres de sacarosa.
- 40       10. Composición según la reivindicación 9, caracterizada por que:
- el al menos un saponósido triterpénico o uno de sus derivados representa entre el 0,0001 % y el 10 % del peso total de la composición, ventajosamente entre el 0,01 % y el 5 %, preferentemente entre el 0,05 % y el 1 %; y/o  
      - el al menos un tensioactivo no iónico representa el 0,1 % y el 5 % del peso total de la composición, ventajosamente entre el 1 % y el 3 %.
- 45       11. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 10, caracterizada por que el tensioactivo no iónico es polisorbato 20 o un sucroestearato que tiene un valor de equilibrio hidrófilo-lipófilo (HLB) de al menos 16.
- 50       12. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que comprende, además, al menos un lípido apto para restaurar la barrera cutánea, ventajosamente seleccionado del grupo constituido por:
- al menos un lípido exógeno a la piel, ventajosamente un aceite vegetal;  
      - una mezcla de constituyentes presentes de forma natural en la piel que comprende ceramidas 1, 3, 6; colesterol;  
55       - ácidos grasos libres y fitoesfingosina; y  
      - escualeno.
13. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que se trata de una composición cosmética.
- 60       14. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que se presenta en una forma adecuada para una administración por vía tópica.
15. Composición que comprende:
- 65       - al menos un aminoácido básico seleccionado del grupo constituido por arginina, lisina, histidina, ornitina,

hidroxiprolina y una de sus sales; y

- al menos una glicosilceramida que se presenta en forma de una monoglicosilceramida correspondiente a un ácido glucurónico unido covalentemente a una ceramida y/o de una poliglicosilceramida correspondiente a un oligosacárido unido covalentemente a una ceramida,

5

para la prevención y/o el tratamiento de la dermatitis atópica.

16. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, para su uso en la prevención y/o el tratamiento de la dermatitis atópica.

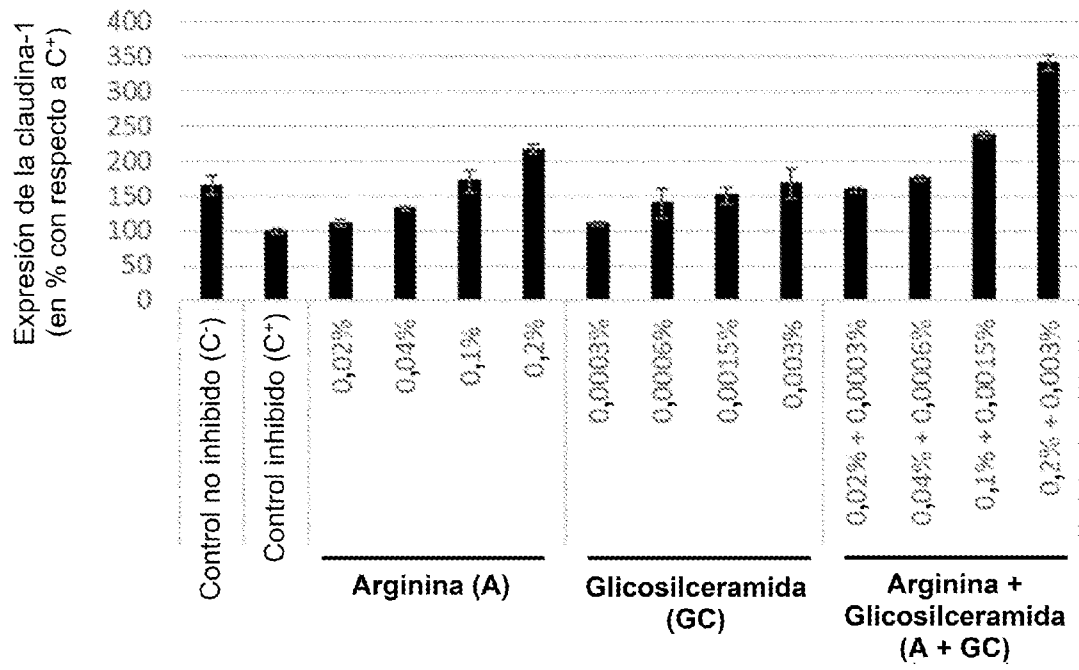


Figura 1