



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 292 917**

51 Int. Cl.:

A61K 8/67 (2006.01)

A61Q 19/00 (2006.01)

A61Q 19/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **03290275 .1**

86 Fecha de presentación : **04.02.2003**

87 Número de publicación de la solicitud: **1334714**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **13.08.2003**

54 Título: **Utilización de ácido ascórbico para reforzar la cohesión de la unión dermoepidérmica.**

30 Prioridad: **07.02.2002 FR 02 01510**

73 Titular/es: **L'ORÉAL**
14, rue Royale
75008 Paris, FR

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.03.2008

72 Inventor/es: **Bernerd, Francoise**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.03.2008

74 Agente: **Ungría López, Javier**

ES 2 292 917 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

Utilización de ácido ascórbico para reforzar la cohesión de la unión dermoepidérmica.

5 La presente invención se relaciona con la utilización en un medio cosméticamente aceptable del ácido ascórbico o de uno de sus análogos para reforzar la cohesión de la unión dermoepidérmica.

10 El ácido ascórbico (o vitamina C) es habitualmente utilizado en las composiciones tópicas, ya que se sabe que tiene un efecto beneficioso para la piel. En particular, estimula la síntesis del tejido conjuntivo, refuerza las defensas del tejido cutáneo contra las agresiones exteriores tales como las radiaciones ultravioleta y la polución, compensa la deficiencia en vitamina E de la piel, despigmenta la piel y posee una función anti-radicales libres.

15 Otra actividad de la vitamina C descrita en la literatura es su acción sobre los fibroblastos. Trabajos han mostrado que la vitamina C permite aumentar la producción de colágeno de tipo I y III, con una acción sobre diferentes niveles de regulación. La vitamina C tiene especialmente una actividad post-traducción al interaccionar con las enzimas de maduración de los colágenos I y III como cofactor para la prolil-hidroxilasa.

20 Estudios más recientes han tratado también sobre el efecto de la vitamina C a nivel transcripcional. La vitamina C regula así la transcripción del gen del colágeno I (Slack JL, Liska DJ, Bornstein P. Regulation of the expression of the tipo I collagen genes. Am. J. Med. Genet. 1993, 45(2): 140-51) y de los ARNm del colágeno III en fibroblastos de piel (Geesin JC, Darr D, Kaufman R, Murad S, Pinnell SR. Ascorbic acid specifically increases tipo I and tipo III procollagen mRNA levels in human skin fibroblast. J. Invest. Dermatol. 1988, 90(4): 420-4). En cambio, parece que el ácido ascórbico no tenga más que poco efecto sobre la transcripción del gen del colágeno de tipo IV (Tajima y Pinnell, 1996). Finalmente, trabajos más recientes han mostrado que la adición de vitamina C a los cultivos de 25 epidermis reconstruida tenía una influencia sobre la función de barrera, mejorando el perfil lipídico de las células epidérmicas (Ponec M, Weerheim A, Kempenaar J, Mulder A, Gooris GS, Bouwstra J, Mommaas AM. The formation of competent barrier lipids in reconstructed human epidermis requires the presence of vitamin C. J. Invest. Dermatol. 1997, 109(3): 348-55).

30 La piel humana está constituida por dos tejidos, uno de ellos superficial, la epidermis, y el otro profundo, la dermis.

La epidermis humana natural está compuesta principalmente por tres tipos de células, que son los queratinocitos, muy mayoritarios, los melanocitos y las células de Langerhans. Cada uno de estos tipos celulares contribuye por sus funciones propias al papel esencial desempeñado en el organismo por la piel, especialmente el papel de protección del 35 organismo frente a las agresiones exteriores (clima, rayos ultravioleta, tabaco . . .), llamado "función barrera".

La dermis proporciona a la epidermis un soporte sólido. Es también su elemento nutricional. Está principalmente constituida por fibroblastos y por una matriz extracelular compuesta mayoritariamente por colágeno, elastina y una 40 sustancia llamada sustancia fundamental. Estos componentes son sintetizados por los fibroblastos. También se encuentran en ella leucocitos, células cebadas o también macrófagos tisulares. Finalmente, la dermis es atravesada por vasos sanguíneos y fibras nerviosas.

La cohesión entre la epidermis y la dermis está asegurada por la unión dermoepidérmica. Se trata de una región 45 compleja de un espesor de 100 nm aproximadamente que comprende el polo basal de los queratinocitos basales, la membrana epidérmica y la zona sub-basal de la dermis superficial (Bernard P. Structure de la unión dermoepidérmica. Objectif peau. 2001, 68: 87-93).

Desde un punto de vista estructural, están repartidos hemidesmosomas, en los que se insertan filamentos de queratina (complejo hemidesmosoma-tonofilamentos), sobre la membrana plasmática de los queratinocitos basales. 50

Con respecto a estos complejos hemidesmosoma-tonofilamentos, se encuentran filamentos de anclaje que atraviesan la membrana basal epidérmica. Los filamentos de anclaje están unidos a la laminina 5 por el lado epidérmico.

Finalmente, la red sub-basal está constituida por fibrillas de anclaje. Se trata de estructuras curvilíneas que nacen 55 y acaban sobre la cara profunda de la membrana basal y con las que se engranan fibras de colágeno I, III y V.

Se ha mostrado que estas fibrillas de anclaje, perfectamente visualizables por microscopía electrónica, están compuestas por colágeno de tipo VII (en adelante colágeno VII). El colágeno VII es sintetizado por los queratinocitos y los fibroblastos, pero de manera más importante por los queratinocitos (Aumailley M, Rousselle P. laminins of the 60 dermo-epidermal junction. Matrix Biology. 1999, 18: 19-28; Nievers M, Schaapveld R, Sonnenberg A. Biology and function of hemidesmosomes. Matrix Biology, 1999, 18: 5-17).

Los colágenos son las proteínas mayoritarias de las matrices extracelulares. Al día de la fecha, se han identificado 20 tipos de colágenos y se han designado como de I a XX. Se distinguen diferentes familias entre estos tipos en función 65 de las estructuras formadas:

- la familia de los colágenos fibrilares (tipos I, II, II V/XI), que forman, pues, fibras;

- la familia de los colágenos que forman la red de las membranas basales, que comprende el colágeno de tipo IV y de tipo XVII;

5 - los colágenos que forman redes hexagonales (tipo VIII y tipo X), filamentos perlados (tipo VI) y FACIT (tipos IX, XII, XIV, XVI, XIX y XX);

- las fibrillas de anclaje, que corresponden al tipo VII;

10 - las multiplexinas (tipos XV y XVII), y

- el colágeno de tipo XIII, del que no se conocen las funciones precisas hasta el día de hoy.

15 En la piel, los colágenos mayoritariamente presentes en el conjunto de la dermis son los colágenos de tipo I y III, que forman la matriz extracelular del conjunto de la dermis (son estos colágenos los que constituyen el 70-80% del peso seco de la dermis).

20 Los colágenos representan una familia de una diversidad muy grande; en efecto, cada tipo de colágeno y las cadenas que lo constituyen proceden de genes diferentes. Por ejemplo, los colágenos de tipo I están compuestos por dos cadenas COL1A1 y COL1A2 cuyos genes se localizan, respectivamente, sobre los cromosomas 17q y 7q. El colágeno de tipo VII está compuesto por una sola cadena y su gen se localiza sobre el cromosoma 3p. Además, los colágenos no son todos ellos sintetizados por los mismos tipos celulares; los colágenos de tipo I y III son esencialmente producidos por el fibroblasto dérmico, mientras que el colágeno de tipo VII es producido por el queratinocito epidérmico. Finalmente, la regulación de su expresión difiere de un colágeno otro; por ejemplo, los colágenos I y VII no están regulados de la misma manera por ciertas citokinas; en efecto, el TNF alfa y la leucorregulina estimulan el colágeno VII y regulan negativamente el colágeno I.

La cohesión entre los dos tejidos, epidermis y dermis, es esencial para la integridad de la piel en su conjunto y permite una resistencia a las agresiones externas de tipo mecánico (frotaciones, cortes, etc.).

30 La unión dermoepidérmica es también una estructura que condiciona el estado de la superficie de la piel.

35 Así, una unión dermoepidérmica que presente estructuras de anclaje íntegras se mantiene plegada, permitiendo de este modo aumentar la superficie de la zona de contacto entre la dermis y la epidermis, favorecer los intercambios entre estos dos tejidos, reforzar su cohesión y mejorar el aspecto de la epidermis.

40 En casos en los cuales las estructuras de anclaje están alteradas (deficiencia de la síntesis de colágeno VII o de tenascina, envejecimiento . . .), esto provoca un aplanamiento de la unión dermoepidérmica. Los intercambios están disminuidos, los dos tejidos son menos solidarios, la epidermis se pliega y al ser la piel menos firme y menos extendida, aparecen las arrugas y aumenta la fragilidad de la piel a las agresiones mecánicas.

La ausencia o la falta de funcionalidad de la unión dermoepidérmica provoca patologías de tipo epidermolisis bullosa. La zona de desnivel es determinada por la localización de la proteína deficiente.

45 Es especialmente el caso para personas que presentan mutaciones situadas en el gen codificante del colágeno VII. Estas mutaciones inducen epidermolisis bullosas (EB), tales como el tipo Hallopeau-Siemens de EB distrófica recesiva, el tipo leve de EB distrófica recesiva y la EB distrófica dominante. Estas enfermedades genéticas se caracterizan por la ausencia de estas fibrillas de anclaje, cuyo resultado es una fragilidad extrema de la piel con separación de los dos tejidos (dermis - epidermis) que da lugar a la formación de "bullas". Otras epidermolisis bullosas pueden también tener un origen autoinmune, con producción de autoanticuerpos dirigidos contra el colágeno VII, como la epidermolisis bullosa adquirida, el lupus eritematoso sistémico bulloso y la enfermedad de Bowel. En todos los casos, las epidermolisis bullosas generan anomalías que son muy invalidantes, ya que las personas afectadas deben extremadamente prudentes y no provocar ninguna tensión o traumatismo que pudiera generar un efecto mecánico a nivel de la unión dermoepidérmica.

55 Akiyama y col. describieron además que el colágeno VII también desempeñaba un papel importante a nivel del folículo piloso humano, especialmente a nivel de las membranas basales de la matriz (zona peripapilar) y a nivel de la membrana de la protuberancia (abultamiento de la parte alta del bulbo). Estas dos zonas contienen células de gran potencial mitótico, en particular queratinocitos que dan lugar al tallo piloso. Ahora bien, estos autores indicaron que el colágeno VII presente en el folículo es indispensable para la expresión de esta actividad mitótica (Akiyama M, Dale BA, Sun TT, Holbrook KA. Characterisation of hair follicle bulge in human fetal skin: the human fetal bulge is a pool of undifferentiated keratinocytes. J. Invest. Dermatol. 1995, 105: 844-50).

Otro constituyente mayor de la unión dermoepidérmica es la tenascina.

65 La tenascina es una glicoproteína de la matriz extracelular, también llamada tenascina-C. Su función esencial reside en las interacciones epitelio-mesénquima, especialmente en el curso de la embriogénesis.

En la piel, se encuentra tenascina a nivel subepidérmico en la dermis papilar, pero también alrededor de los vasos y de los anexos. Su expresión aumenta mucho en las situaciones de hiperproliferación, como la psoriasis y los tumores, pero también en la cicatrización. La tenascina es producida en la piel por los dos tipos celulares mayores, el queratinocito y el fibroblasto. Una de sus funciones reside en la adhesión celular. En efecto, la fuerte regulación positiva de la tenascina en los queratinocitos en migración durante la cicatrización deja suponer fuertemente un papel esencial de adhesión de los queratinocitos sobre el tejido conjuntivo, que asegura una buena cohesión dermoepidérmica (Crossin KL. Tenascin: a multifunctional extracellular matrix protein with a restricted distribution in development and disease. J. Cell. Biochem. 1996, 61: 592-598; Latijnhouwers M, Bergers M, Ponc M, Dijkman H, Andriessen M, Schalkwijk J. Human epidermal keratinocytes are a source of tenascin-C during wound healing. J. Invest Dermatol., 1997, 108: 776-783; Steijlen PM, Maessen E, Kresse H, Van Vlijmen IMJJ, Verstraeten AA, Traupe H, Schalkwijk J. Expression of tenascin, biglycan and decorin in disorders of keratinization. Br. J. Dermatol., 1994, 130: 564-568).

La Solicitante ha puesto en evidencia de manera sorprendente que el ácido ascórbico (o vitamina C) permitía aumentar la síntesis de colágeno VII.

La vitamina C puede así ser utilizada en composiciones cosméticas para reforzar la cohesión de la unión dermoepidérmica del cuero cabelludo.

Por lo que sabe la Solicitante, sólo ciertos retinoides, especialmente el ácido retinoico o el retinol (Woodley DT, Zelickson AS, Briggaman RA, Hamilton TA, Weiss JS, Ellis CN, Voorhees JJ. Treatment of photoaged skin with topical tretinoin increases epidermal-anchoring fibrils. A preliminary report. JAMA. 1990, 263(22):3057-9), extractos de la planta *Potentilla erecta* (patente EE.UU. 6.193.975) y extractos de levadura *Saccharomyces cerevisiae* (extracto de levadura vendido bajo la denominación comercial Toniskin por Silab), permitan hasta el día de la fecha obtener los mismos efectos. Se conocía además el efecto irritante de los retinoides sobre la piel.

La solicitud de patente EP 0.738.508 describe una composición que contiene un éster de osa del ácido ascórbico y un filtro UVA sulfónico útil para luchar contra las manchas pigmentarias y el envejecimiento; se describe en ella la vitamina C como un antioxidante y anti-radicales. La solicitud de patente WO 02/15860 describe por su parte una composición tópica antioxidante que contiene vitamina C descrita como un compuesto antioxidante y anti-radicales que favorece la acción de la vitamina E y estimula la síntesis de colágeno I. El objeto de esos dos documentos es proponer composiciones en las cuales el ácido ascórbico presenta una buena estabilidad.

Ningún documento del estado de la técnica describe el efecto beneficioso de la vitamina C sobre la unión dermoepidérmica, ya sea por aumento de la síntesis de tenascina o por aumento de la síntesis de colágeno VII.

La presente invención tiene, pues, por objeto la utilización cosmética del ácido ascórbico o de uno de sus análogos en una composición que contiene un medio cosméticamente aceptable para aumentar la síntesis de colágeno VII y la resistencia de la piel a las agresiones mecánicas seleccionadas entre frotaciones, tensiones y fricciones.

El objeto de la invención es la utilización cosmética en un medio cosméticamente aceptable del ácido ascórbico o de uno de sus análogos para aumentar la síntesis de colágeno VII.

Gracias a las propiedades de estas proteínas, colágeno VII y tenascina, que participan en la unión y el anclaje de los queratinocitos epidérmicos en la matriz extracelular dérmica, es el conjunto de la cohesión dermoepidérmica lo que así se asegura. Además, su implicación en el plano mecánico aumenta la resistencia de la piel al estrés mecánico, a las frotaciones y a las fricciones. Este aspecto está especialmente ilustrado por la formación de "bullas" o "ampollas" en las enfermedades (genéticas o autoinmunes antes citadas) ligadas a una deficiencia en colágeno VII. Más habitualmente, este aspecto está igualmente ilustrado por el hecho de que una piel que presenta deficiencias a nivel de la unión dermoepidérmica es menos firme y elástica.

También se ha mostrado que la tenascina, aunque también el colágeno VII, estaba disminuida o regulada negativamente por los glucocorticoides, que se conocen por inducir una fragilidad de la piel. Aumentar el colágeno VII permite, pues, oponerse a esta fragilidad.

También se menciona una atrofia de la piel en enfermedades ligadas a una deficiencia en colágeno VII.

Estas proteínas, el colágeno VII y la tenascina, de la unión dermoepidérmica tienen también funciones de mediadores de la adhesión celular, en particular de las células epidérmicas, y de mediadores para la migración de los queratinocitos sobre la matriz conjuntiva y participan en la transmisión de las señales de la matriz extracelular hacia la epidermis (Burgeson RE y Christiano A.M. Current Opinion in cell Biology, 1997, 9: 651-658).

La unión dermoepidérmica desempeña, pues, un papel de interfase dinámica entre el tejido conjuntivo y el epitelio. Governa la integridad estructural del órgano de la piel en su conjunto y controla el paso de moléculas entre la dermis y la epidermis.

Esta zona es esencial en los procesos de remodelado o de cicatrización de la piel.

Así, la composición cosmética estará, en particular, destinada a reforzar las estructuras de anclaje entre la dermis y la epidermis y/o mejorar la fijación y la adhesión de las células epidérmicas al soporte de la matriz y/o aumentar la resistencia de la piel a las agresiones mecánicas tales como las frotaciones, las tensiones y las fricciones.

- 5 En una variante particular, la invención se relaciona con la utilización cosmética del ácido ascórbico o de uno de sus análogos para cualquier aplicación en la que se busque aumentar la síntesis de colágeno VII.

Las composiciones cosméticas según la presente invención podrán contener una cantidad eficaz de ácido ascórbico o de sus análogos, es decir, la cantidad necesaria para obtener los efectos esperados según la invención. Para dar un
10 orden de magnitud, esta cantidad representa preferiblemente de un 0,001% a un 20% del peso total de la composición, preferiblemente de un 0,1% a un 15% del peso total de la composición y ventajosamente de un 1% a un 10% del peso total de la composición.

Además, la composición de la invención será también utilizada durante un tiempo suficiente para obtener los
15 efectos esperados según la invención. Para dar un orden de magnitud, esta duración puede ser como mínimo de 15 días, pero puede ser también de más de 4 semanas, por ejemplo de más de 8 semanas.

Para dar un orden de magnitud, esta cantidad representa preferiblemente de un 0,001% a un 20% del peso total de la composición, más preferiblemente de un 0,1% a un 15% del peso total de la composición y ventajosamente de un
20 1% a un 10% del peso total de la composición.

Para la preparación de las composiciones cosméticas de la invención, se podrá utilizar el ácido ascórbico, que está generalmente en forma L, ya que se le extrae más frecuentemente de productos naturales, o sus análogos.

25 Por su estructura química (alfa-cetolactona), que le hace muy sensible a ciertos parámetros del ambiente, tales como la luz, el calor y los medios acuosos, podrá ser ventajoso utilizar el ácido ascórbico en forma de un éster de osa del ácido ascórbico o de una sal metálica de ácido ascórbico fosforilado.

Los ésteres de osa del ácido ascórbico utilizables en la invención son especialmente los derivados glicosilados,
30 manosilados, fructosilados, fucosilados, galactosilados, N-acetilglucosaminados y N-acetilmurámi-cos del ácido ascórbico y sus mezclas y más especialmente el ascorbil-2-glucósido o el 2-O- β -D-glucopiranosilo del ácido L-ascórbico o también el 6-O- β -D-galactopiranosilo del ácido L-ascórbico. Estos últimos compuestos, así como sus procedimientos de preparación, están en particular descritos en los documentos EP-A-487.404, EP-A-425.066 y JP 05.213.736.

35 Por su parte, la sal metálica de ácido ascórbico fosforilado puede ser seleccionada entre los ascorbilfosfatos de metal alcalino, los ascorbilfosfatos de metal alcalinotérreo y los ascorbilfosfatos de metal de transición.

Los análogos del ácido ascórbico son, más particularmente, sus sales, tales como especialmente el ascorbato de sodio y el ascorbilfosfato de magnesio o de sodio; sus ésteres, tales como especialmente sus ésteres acético, propiónico
40 o palmítico; o sus azúcares, tales como especialmente el ácido ascórbico glicosilado.

Las composiciones cosméticas según la invención pueden presentarse en todas las formas apropiadas para una aplicación tópica, especialmente en forma de soluciones acuosas, hidroalcohólicas u oleosas, de dispersiones de tipo loción o suero, de geles acuosos, anhidros u oleosos, de emulsiones de consistencia líquida o semilíquida de tipo leche,
45 obtenidas por dispersión de una fase grasa en una fase acuosa (Ac/Ag) o a la inversa (Ag/Ac) o de una emulsión triple (Ag/Ac/Ag o Ac/Ag/Ac), de suspensiones o de emulsiones de consistencia blanda, semisólida o sólida de tipo crema o gel, de microemulsiones o también de microcápsulas, de micropartículas o de dispersiones vesiculares de tipo iónico y/o no iónico. Estas composiciones son preparadas según los métodos habituales bien conocidos por el experto en la técnica de este campo.

50 Según una forma de realización particular de la invención, las composiciones según la invención se presentan en forma de un soporte y de un sólido distintos, destinados a mezclarse extemporáneamente, consistiendo el sólido esencialmente en ácido ascórbico pulverulento. Tal disposición está descrita, por ejemplo, en la solicitud FR-94-03982, depositada por la Solicitante, y el ejemplo 1 de la presente solicitud ilustra este tipo de formulación.

55 De manera conocida, las composiciones cosméticas de la invención pueden contener también los adyuvantes habituales en los campos considerados, tales como los gelificantes hidrófilos o lipófilos, los agentes antiglicantes, los agentes que estimulan la síntesis de macromoléculas dérmicas o epidérmicas y/o que impiden su degradación, los agentes que estimulan la proliferación de los fibroblastos o de los queratinocitos y/o la diferenciación de los queratinocitos, los agentes tensores, los principios activos lipolíticos o que tienen una actividad favorable, directa o indirecta, sobre la disminución del tejido adiposo, los agentes que actúan sobre la microcirculación, los principios activos hidrófilos o lipófilos, los conservantes, los antioxidantes, los solventes, los perfumes, las cargas, los filtros, los pigmentos, los absorbentes de olor y las materias colorantes. Las cantidades de estos diferentes adyuvantes son las clásicamente utilizadas en el campo considerado, y por ejemplo del 0,01 al 20% del peso total de la composición. Estos adyuvantes,
60 según su naturaleza, pueden ser introducidos en la fase grasa, en la fase acuosa, en las vesículas lipídicas y/o en las nanopartículas. En cualquier caso, estos adyuvantes, así como sus proporciones, serán seleccionados de tal forma que no se perjudique a las propiedades buscadas según la invención.

Las composiciones de la invención pueden así incluir también principios activos, hidrófilos o lipófilos, y especialmente los principios activos susceptibles de completar el efecto del ácido ascórbico.

Por “agente antiglicante”, se entiende un compuesto que previene y/o disminuye la glicación de las proteínas de la piel, en particular de las proteínas de la dermis, tales como el colágeno.

Son ejemplos de agentes antiglicantes los extractos vegetales de la familia de las Ericaceae, tales como un extracto de mirtilo (*Vaccinium angustifolium*), la ergotioneína y sus derivados y los hidroxiestilbenos y sus derivados, tales como el resveratrol y el 3,3',5,5'-tetrahidroxiestilbeno. Estos agentes antiglicantes están descritos en las solicitudes FR 99/16166, FR 00/08158, FR 99/09267 y FR 99/16168, respectivamente. El resveratrol resulta particularmente preferido para una utilización en esta invención.

Entre los principios activos que estimulan las macromoléculas de la dermis, se pueden citar los que actúan:

- o bien sobre la síntesis del colágeno, tales como los extractos de *Centella asiatica*; los asiaticósidos y derivados; los péptidos de síntesis, tales como la iamina, el biopéptido CL o palmitoiloligopéptido comercializado por la sociedad SEDERMA; los péptidos extraídos de vegetales, tales como el hidrolizado de soja comercializado por la sociedad COLETICA bajo la denominación comercial Phytokine®, y las hormonas vegetales tales como las auxinas;

- o bien sobre la síntesis de elastina, tales como el extracto de *Saccharomyces cerevisiae* comercializado por la sociedad LSN bajo la denominación comercial Cytovitin® y el extracto de alga *Macrocystis pyrifera* comercializado por la sociedad SECMA bajo la denominación comercial Kelpadelie®;

- o bien sobre la síntesis de los glicosaminoglicanos, tales como el producto de fermentación de la leche por *Lactobacillus vulgaris* comercializado por la sociedad BROOKS bajo la denominación comercial Biomin yogourth®, el extracto de alga parda *Padina pavonica* comercializado por la sociedad ALBAN MÜLLER bajo la denominación comercial HSP3® y el extracto de *Saccharomyces cerevisiae* disponible especialmente gracias a la sociedad SILAB bajo la denominación comercial Firmalift® o a la sociedad LSN bajo la denominación comercial Cytovitin®;

- o bien sobre la síntesis de la fibronectina, tales como el extracto de zooplancton Salina comercializado por la sociedad SEPORGA bajo la denominación comercial GP4G®, el extracto de levadura disponible especialmente gracias a la sociedad ALBAN MÜLLER bajo la denominación comercial Drieline® y el pentapéptido de palmitoilo comercializado por la sociedad SEDERMA bajo la denominación comercial Matrixil®;

- o bien sobre la inhibición de metaloproteinasas (MMP) tales como, más particularmente, las MMP 1, 2, 3 y 9. Se pueden citar: los retinoides y derivados, los isoflavonoides, los oligopéptidos y los lipopéptidos, los lipoaminoácidos, el extracto de malta comercializado por la sociedad COLETICA bajo la denominación comercial Collalift®, los extractos de mirtilo o de romero, el licopeno, las isoflavonas, sus derivados o los extractos vegetales que los contienen, en particular los extractos de soja (comercializados, por ejemplo, por la sociedad ICHIMARU PHARCOS bajo la denominación comercial Flavostérone SB®), de trébol rojo, de lino, de kakkon o de salvia;

- o bien sobre la inhibición de las serina proteasas, tales como la elastasa leucocitaria o la cathepsina G. Se pueden citar: el extracto peptídico de semillas de leguminosas (*Pisum sativum*) comercializado por la sociedad LSN bajo la denominación comercial Parelástyl®, los heparinoides y los pseudodipeptidos.

Entre los principios activos que estimulan las macromoléculas epidérmicas, tales como la filagrina y las queratinas, se pueden citar especialmente el extracto de altramuza comercializado por la sociedad SILAB bajo la denominación comercial Structurine®, el extracto de yemas de haya *Fagus sylvatica* comercializado por la sociedad GATTEFOSSE bajo la denominación comercial Gatuline® y el extracto de zooplancton Salina comercializado por la sociedad SEPORGA bajo la denominación comercial GP4G®.

Los agentes que estimulan la proliferación de los fibroblastos utilizables en la composición según la invención pueden ser, por ejemplo, seleccionados entre las proteínas o polipéptidos vegetales, extraídos especialmente de la soja (por ejemplo, un extracto de soja comercializado por la sociedad LSN bajo la denominación Eleseryl SH-VEG 8® o comercializado por la sociedad SILAB bajo la denominación comercial Raffermin®), y las hormonas vegetales, tales como las giberelinas o las citokinas.

Los agentes que estimulan la proliferación de los queratinocitos utilizables en la composición según la invención incluyen especialmente los retinoides, tales como el retinol y sus ésteres, entre ellos el palmitato de retinilo; los extractos de tortas de nueces comercializados por la sociedad GATTEFOSSE, y los extractos de *Solanum tuberosum* comercializados por la sociedad SEDERMA.

Los agentes que estimulan la diferenciación de los queratinocitos incluyen, por ejemplo, los minerales tales como el calcio, el extracto de altramuza comercializado por la sociedad SILAB bajo la denominación comercial Photopréventine®, el beta-sitosteril sulfato de sodio comercializado por la sociedad SEPORGA bajo la denominación comercial Phytocohésine® y el extracto de maíz comercializado por la sociedad SOLABIA bajo la denominación comercial Phytovityl®.

Por "agente tensor", se entiende un compuesto capaz de ejercer una tracción sobre la piel, que tiene por efecto disimular temporalmente las irregularidades de la superficie de la piel, tales como las arrugas y pequeñas arrugas.

Entre los agentes tensores utilizables en la composición según la presente invención, se pueden citar especialmente:

(1) los látex de poliuretano o los látex de acrílico-silicona, en particular los descritos en la solicitud de patente EP-1.038.519, tales como un polidimetilsiloxano injertado con propiltio(poliacrilato de metilo), propiltio(polimetacrilato de metilo) y propiltio(poliácido metacrílico), o también un polidimetilsiloxano injertado con propiltio(polimetacrilato de isobutilo) y propiltio(poliácido metacrílico). Tales polímeros siliconados injertados son especialmente vendidos por la sociedad 3M bajo las denominaciones comerciales VS 80, VS 70 o LO21;

(2) las proteínas vegetales de soja o de trigo; y/o

(3) los silicatos de sodio y magnesio (Laponitas).

Entre los derivados susceptibles de favorecer la lipólisis, se pueden encontrar:

1) los inhibidores de la fosfodiesterasa, tales como:

- los derivados xánticos, como la cafeína y sus derivados, especialmente las 1-hidroxialquilxantinas descritas en el documento FR-A-2.617.401, el citrato de cafeína, la teofilina y sus derivados, la teobromina, la acefilina, la aminofilina, la cloroetilteofilina, la diprofilina, la diniprofilina, la etamifilina y sus derivados, la etofilina y la proxifilina;

- las asociaciones que contienen derivados xánticos, como la asociación de cafeína y de silanol (derivado metilsilanotriol de la cafeína), y por ejemplo el producto comercializado por la sociedad Exsymol bajo la denominación cafésilane C;

- los compuestos de origen natural que contienen bases xánticas y especialmente cafeína, tales como los extractos de té, de café, de guaraná, de mate, de cola (*Cola nitida*) y especialmente el extracto seco del fruto del guaraná (*Paulina sorbilis*), que contiene de un 8 a un 10% de cafeína;

- la efedrina y sus derivados, que pueden encontrarse especialmente en el estado natural en las plantas tales como el Ma Huang (planta *Ephedra*);

2) los extractos vegetales y los extractos de origen marino, que, o bien son activos sobre los receptores que hay que inhibir, tales como los β -2-bloqueantes y los NPY-bloqueantes (descritos en la patente EP 838.217), o bien inhiben la síntesis de los receptores para las LDL o VLDL, o bien son activos para estimular los receptores β y las proteínas G, dando lugar a la activación de la adenilciclase. Como extractos vegetales de este tipo, se pueden citar, por ejemplo:

- la *Garcinia cambogia*;

- los extractos de *Bupleurum chinensis*;

- los extractos de hiedra trepadora (*Hedera helix*), de árnica (*Arnica montana* L), de romero (*Rosmarinus officinalis* N), de maravilla (*Calendula officinalis*), de salvia (*Salvia officinalis* L), de ginseng (*Panax ginseng*), de corazoncillo (*Byperycum perforatum*), de brusco (*Ruscus aculeatus* L), de ulmaria (*Filipendula ulmaria* L), de ortosifón (*Orthosiphon stamineus* Benth), de abedul (*Betula alba*), de cecropia y de argán;

- los extractos de *Ginkgo biloba*;

- los extractos de cola de caballo;

- los extractos de escina;

- los extractos de cangzhu;

- los extractos de *Chrysanthellum indicum*;

- los extractos de dioscoreas ricas en diosgenina o la diosgenina o hecogenina pura y sus derivados;

- los extractos de las plantas del género *Armeniacea*, *Atractylodis platicodon*, *Sinom-menum*, *Pharbitidis* y *Flemingia*;

- los extractos de *Coleus* tales como *C. forskohlii*, *C. blumei*, *C. esquirolii*, *C. scutellaroides*, *C. xanthantus* y *C. barbatus*, tales como el extracto de raíz de *Coleus barbatus* que contiene un 60% de forskolina;

- los extractos de marrubio negro;

- los extractos de *Guioa*, de *Davallia*, de *Terminalia*, de *Barringtonia*, de *Trema* y de *Antirobia*;
- como extracto de origen marino, se pueden citar: los extractos de algas o de fitoplancton, tales como el rodosterol o el extracto de *Laminaria digitata* comercializado bajo la denominación PHYCOX75 por la sociedad Secma, el alga *Skeletonema* descrita en la patente FR 2.782.921 o las diatomeas descritas en la patente FR 2.774.292;

3) los péptidos o proteínas:

- los péptidos derivados de la hormona paratiroidea tales como los descritos en las patentes FR 2.788.058 y FR 2.781.231 de Séderma o los péptidos descritos en el documento FR 2.786.693, incluso cualquier otro péptido que tenga propiedades lipolíticas;
- las protaminas y sus derivados, tales como los descritos en el documento FR-A-2.758.724.

La cantidad de principio(s) activo(s) lipolítico(s) puede variar en gran medida y depende de la naturaleza del o de los principios activos utilizados. En general, el o los principios activos adelgazantes están presentes en una concentración que va del 0,001 al 20% y preferiblemente del 0,1 al 10% en peso con respecto al peso total de la composición.

Como principios activos que actúan sobre la microcirculación (vasoprotectores o vasodilatadores), se pueden citar los flavonoides, las ruscogeninas, los esculósidos, la escina extraída del castaño de Indias, los nicotinatos, la heperidina metilchalcona, el acebillo, los aceites esenciales de lavanda o de romero y los extractos de *Ammi visnaga*.

Los principios activos preferidos según la presente invención son los extractos de maíz y de soja, los extractos del alga *Macrocystis pyrifera*, la polisilicona-8, la cafeína y los extractos de hiedra y de *Terminalia sericea*. Están particularmente adaptados a las composiciones destinadas a redibujar el contorno de la cara.

Cuando la composición de la invención es una emulsión, la proporción de fase grasa puede ir del 5 al 80% en peso y preferiblemente del 5 al 50% en peso con respecto al peso total de la composición. Los aceites, los emulsores y los coemulsores utilizados en la composición en forma de emulsión son seleccionados entre los clásicamente utilizados en el campo cosmético o dermatológico. El emulsor y eventualmente el coemulsor están presentes en la composición en una proporción que va del 0,3 al 30% en peso y preferiblemente del 0,5 al 20% en peso con respecto al peso total de la composición.

Como aceites utilizables en la invención, se pueden citar los aceites minerales (aceite de vaselina), los aceites vegetales (fracción líquida de la manteca de karité), los aceites animales, los aceites de síntesis (aceite de Purcellin, poliisobuteno hidrogenado), los aceites siliconados y los aceites fluorados (perfluoropoliéteres). También se pueden utilizar como materias grasas alcoholes grasos, ácidos grasos y ceras.

Como emulsores utilizables en la invención, se pueden citar, por ejemplo, los ésteres de ácido graso y de poliol, tales como los ésteres grasos de sorbitol, como el triestearato de sorbitán vendido bajo la denominación de Span 65 por la sociedad ICI, o también los ésteres grasos de glicerol tales como el monoestearato de glicerol, o también los ésteres de PEG, tales como el estearato de PEG-40 vendido bajo la denominación de Myrj 52 por la sociedad ICI. Puede tratarse también de emulsores siliconados tales el cetildimeticona copoliol vendido bajo la denominación de Abil EM90 por la sociedad Goldschmidt.

La Solicitante ha observado, en efecto, que la adición de vitamina C al medio de cultivo de una piel reconstruida durante toda la fase de emersión induce un aumento muy importante del número de fibroblastos en la malla. Este aumento se asocia a una producción más importante de ciertas proteínas de la matriz extracelular, en particular en la zona subepidérmica. Los resultados más espectaculares se sitúan a nivel de esta región de la unión dermoepidérmica, con una disposición más perpendicular de los queratinocitos basales y un aumento de la síntesis de componentes mayores de la membrana basal, como la tenascina y el colágeno VII.

Esta utilización permite así obtener un neto mejoramiento del modelo. Las pieles reconstruidas obtenidas están más próximas a la piel humana normal; en particular los fenómenos observados sobre las pieles reconstruidas son más predictivos de los fenómenos que se observarán *in vivo*.

Esto resalta especialmente en las figuras 1 a 3 adjuntas, comentadas en el ejemplo 3 siguiente y en las cuales:

La figura 1 representa fotografías de corte transversal de piel reconstruida: para los clichés A, la piel reconstruida es cultivada en ausencia de vitamina C y para los clichés B, la piel reconstruida es cultivada en presencia de vitamina C. Para los clichés de la izquierda, la piel ha recibido dos tipos de coloración, una dirigida a los núcleos de las células (esferoides sobre la parte alta de las fotografías) y la otra que evidencia la presencia de colágeno VII (línea horizontal). En los dos clichés de la derecha, sólo se representa la coloración que pone en evidencia la presencia de colágeno VII.

La figura 2 representa fotografías de corte transversal de piel reconstruida: para los clichés A, la piel reconstruida es cultivada en ausencia de vitamina C y para los clichés B, la piel reconstruida es cultivada en presencia de vitamina

ES 2 292 917 T3

C. Para los clichés de izquierda, la piel ha recibido dos tipos de coloración, una que se dirige a los núcleos de las células (esferoides sobre la parte alta de las fotografías) y la otra que pone en evidencia la presencia de tenascina (línea horizontal). En los dos clichés de la derecha, sólo se representa la coloración que evidencia la presencia de tenascina.

La figura 3 es una representación esquemática de un corte transversal de piel reconstruida; la parte de la izquierda del esquema representa una piel reconstruida cultivada sin vitamina C y la parte de la derecha representa una piel reconstruida cultivada en presencia de vitamina C.

Ejemplos

Los ejemplos siguientes ilustran la invención sin limitar en modo alguno su alcance. Los porcentajes vienen dados en peso con respecto al peso total de la composición.

Ejemplo 1

Gel con vitamina C tamponado a pH = 4

- Gel:

• Fase A

- Carragenina	1,5%
- Lubrajel	28,5%
- Conservante	0,2%
- Agua permutada	csp 95%
- Sosa	0,5%

• Fase B

- Agua permutada	5,3%
- Germall 115	0,3%
- Dequest 2046	0,1%

- Sólido:

- Ácido ascórbico	5%
-------------------	----

Se fabrica el gel de forma clásica preparando por separado, por simple mezcla, las fases A y B, respectivamente, a 70°C y 40°C, añadiendo luego la fase B a la fase A con agitación a 40°C y dejando enfriar el conjunto con agitación lenta hasta la temperatura ambiente.

(Tabla pasa a página siguiente)

ES 2 292 917 T3

Ejemplo 2

Emulsión de agua-en-aceite

Fase oleosa:

Dimeticona copoliol y ciclometicona («3225C Formulation Aid», vendido por Dow Corning)	8%
Feniltrimetilsiloxitrisiloxano («556 Fluid» vendido por Dow Corning)	15%
Tocoferol	0,5%

Fase acuosa:

Propilenglicol	39,4%
Polietilenglicol 400	13%
Sal disódica del ácido etilendiamina- tetracético (agente quelante)	0,1%
Ácido ascórbico	3%
Agua	21%

El modo operativo para preparar la emulsión es el siguiente: se prepara la fase acuosa por una parte y la fase oleosa por otra y se emulsiona la fase acuosa en la fase oleosa a temperatura ambiente con agitación en homogeneizador.

Ejemplo 3

Observación del efecto de la asociación de vitamina C sobre la síntesis de la tenascina y del colágeno VII en el modelo de piel reconstruida

El presente ejemplo describe los efectos de la asociación de ácido ascórbico sobre una piel reconstruida por observación al microscopio de un corte de piel con un marcaje inmunohistoquímico de las proteínas de tenascina y colágeno VII.

1. Preparación de la piel reconstruida

Se prepara la piel reconstruida utilizada según el protocolo descrito en Asselineau y col. (Models in Dermato. Editions Loire and Maibach, 1987, Vol III., 1-7). Las modificaciones de este protocolo son:

- la utilización de fibroblastos dermis humanas normales adultas a razón de 106 células por equivalente de dermis;

- se hace la siembra de los queratinocitos a razón de 50.000 células por anillo de 1,5 cm de diámetro; los queratinocitos utilizados proceden de un mismo donante y están en el pase 1 en el momento de la siembra de los equivalentes de dermis;

- la duración de la fase de inmersión es de 7 días;

- la duración de la fase de emersión es de 7 días.

2. Adición de la vitamina C

La molécula utilizada es el ascorbifosfato de magnesio (en adelante vitamina CPMg) utilizada a una concentración final de $2,8 \cdot 10^{-4}$ M.

Se realiza el último cambio de medio de la fase de inmersión en presencia de vitamina CPMg. Se monta entonces el cultivo sobre una rejilla para la fase de emersión (7 días) y durante esta fase se efectúan todos los cambios de medio (cada 2 días) en presencia de vitamina CPMg.

3.a. Análisis del colágeno VII

Se hace el análisis de las pieles reconstruidas al final de la fase de emersión. Se toma sistemáticamente una muestra control (ausencia de vitamina CPMg) y se analiza en paralelo.

Se recogen las muestras y se congelan en nitrógeno líquido. Se preparan los bloques en Tissue teck. Se detecta el colágeno de tipo VII por inmunohistoquímica de cortes congelados de 5 μ m. Se lleva a cabo la técnica clásica de inmunofluorescencia indirecta con un anticuerpo monoclonal anti-colágeno VII (LH7.2, Chemicon International Inc., EE.UU.) y un conjugado copulado a fluoresceína (FITC-conjugated Rabbit anti mouse immunoglobulins, DAKO, Dinamarca).

3.b. Análisis de la tenascina

El protocolo utilizado es el descrito en el punto 3.a. anterior, a diferencia de que, en este caso, se detecta la tenascina con un anticuerpo monoclonal anti-tenascina (TN2, Chemicon) y un conjugado copulado a fluoresceína (FITCconjugated Rabbit anti mouse immunoglobulins, DAKO, Dinamarca).

4. Observaciones

4.a. Colágeno VII

En la observación microscópica (véase la Figura 1, clichés A: piel reconstruida cultivada en ausencia de vitamina C y clichés B: piel reconstruida cultivada en presencia de vitamina C), la presencia de colágeno VII se traduce por una fluorescencia a nivel de la zona de unión entre la epidermis y la dermis. Se constata que la intensidad y el espesor de la zona de fluorescencia correspondiente a la unión dermoepidérmica es mucho más importante en la muestra a la cual se añadió vitamina C.

Los clichés de la izquierda y de la derecha de la figura 1 corresponden a las mismas zonas de los cortes de pieles. En el cliché de la izquierda, todos los núcleos de las células se colorearon con yoduro de propidio, que permite marcar fácilmente a nivel del tejido. La epidermis (muy celular, por lo que contiene numerosos núcleos visualizables por manchas claras de forma circular por encima de la línea designada por la flecha) se sitúa sobre la parte alta del corte y la dermis (tejido mucho menos celular que contiene fibroblastos distribuidos en la matriz extracelular) se sitúa en la parte baja del corte. La zona de fluorescencia que revela la presencia de colágeno VII se localiza a nivel de la unión entre la epidermis y la dermis en forma de un marcaje lineal (a nivel de la flecha).

Se realiza la medición de la zona de fluorescencia por análisis de imagen (Quantimètre Leica Q500W) y se normaliza para las muestras control y tratada con respecto a una longitud idéntica de unión dermoepidérmica (unidades arbitrarias).

Colágeno VII	Control	+ Vitamina C
Intensidad de fluorescencia/Unidad de longitud	1,35	2,50 (X 1,85)

4.b. Tenascina

La presencia de tenascina se traduce por una fluorescencia a nivel de la zona de unión entre la epidermis y la dermis que se difunde a la parte superficial de la dermis. Se constata que la intensidad y el espesor de la zona de fluorescencia (véase la figura 2, clichés A: piel reconstruida cultivada en ausencia de vitamina C y clichés B: piel reconstruida cultivada en presencia de vitamina C), correspondiente a la unión dermoepidérmica y a la dermis superficial, son mucho más importantes en la muestra a la cual se añadió vitamina C.

Los clichés de la izquierda y de la derecha corresponden a las mismas zonas de los cortes de pieles. En el cliché de la izquierda, todos los núcleos de las células se colorearon con yoduro de propidio, que permite marcar fácilmente a nivel del tejido. La epidermis (muy celular y por ello con numerosos núcleos visualizables por manchas claras de forma circular por encima de la línea designada por la flecha) se sitúa sobre la parte alta del corte y la dermis (tejido mucho menos celular que contiene fibroblastos distribuidos en la matriz extracelular) se sitúa en la parte baja del corte. La tenascina revelada por inmunomarcaje fluorescente se distribuye a nivel de la unión dermoepidérmica y en la zona subepidérmica correspondiente a la dermis superficial (a nivel de la flecha).

La medición de la zona de fluorescencia es realizada por análisis de imagen (Quantimètre Leica Q500W) y se normaliza para las muestras control y tratada con respecto a una longitud idéntica de unión dermoepidérmica (unidades arbitrarias).

ES 2 292 917 T3

Tenascina	Control	+ Vitamina C
Intensidad de fluorescencia/Unidad de longitud	6,40	11,54 (X 1,80)

Los resultados obtenidos muestran, pues, un mejoramiento de la unión dermoepidérmica por la vitamina CPMg, lo cual queda mejor esquematizado en la Figura 3 adjunta.

REIVINDICACIONES

1. Utilización cosmética del ácido ascórbico o de uno de sus análogos en una composición que incluye un medio cosméticamente aceptable para aumentar la síntesis de colágeno VII y la resistencia de la piel a las agresiones mecánicas seleccionadas entre frotaciones, tensiones y fricciones.

2. Utilización según la reivindicación 1, **caracterizada** por seleccionar los análogos del ácido ascórbico entre sus sales, sus ésteres y sus azúcares.

3. Utilización según la reivindicación 2, **caracterizada** por seleccionar los análogos del ácido ascórbico entre el ascorbato de sodio, el ascorbilfosfato de magnesio o de sodio, sus ésteres acético, propiónico o palmítico y el ácido ascórbico glicosilado.

4. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, **caracterizada** por representar la cantidad de ácido ascórbico o de sus análogos de un 0,001% a un 20%, preferiblemente de un 0,1% a un 15% y ventajosamente de un 1% a un 10% en peso con respecto al peso total de la composición.

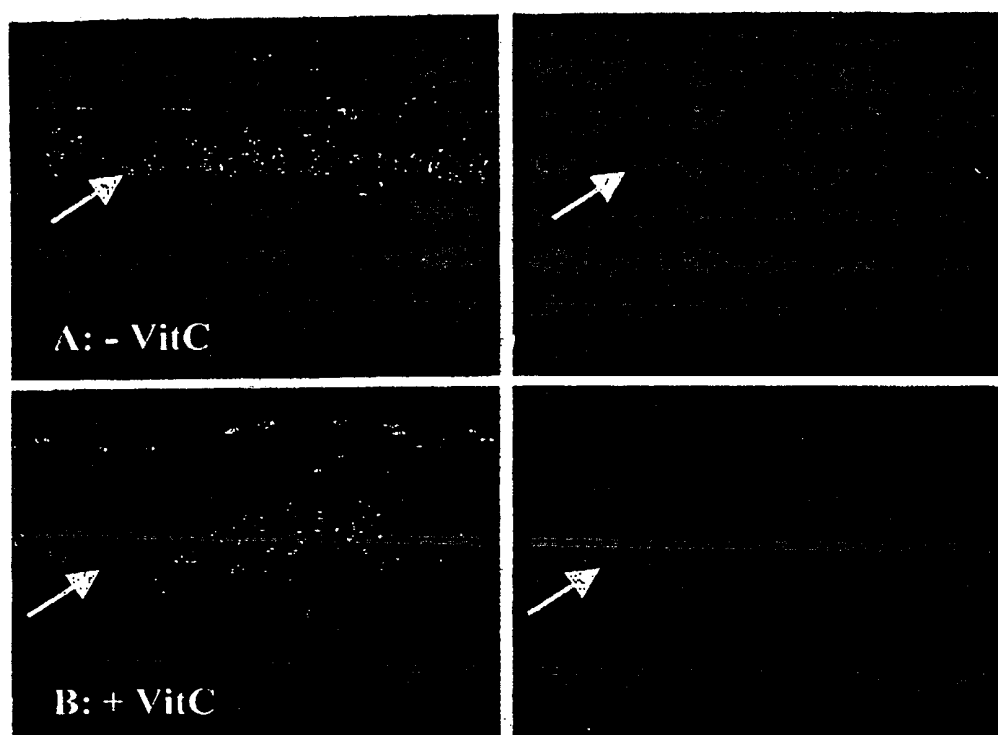


FIGURA 1

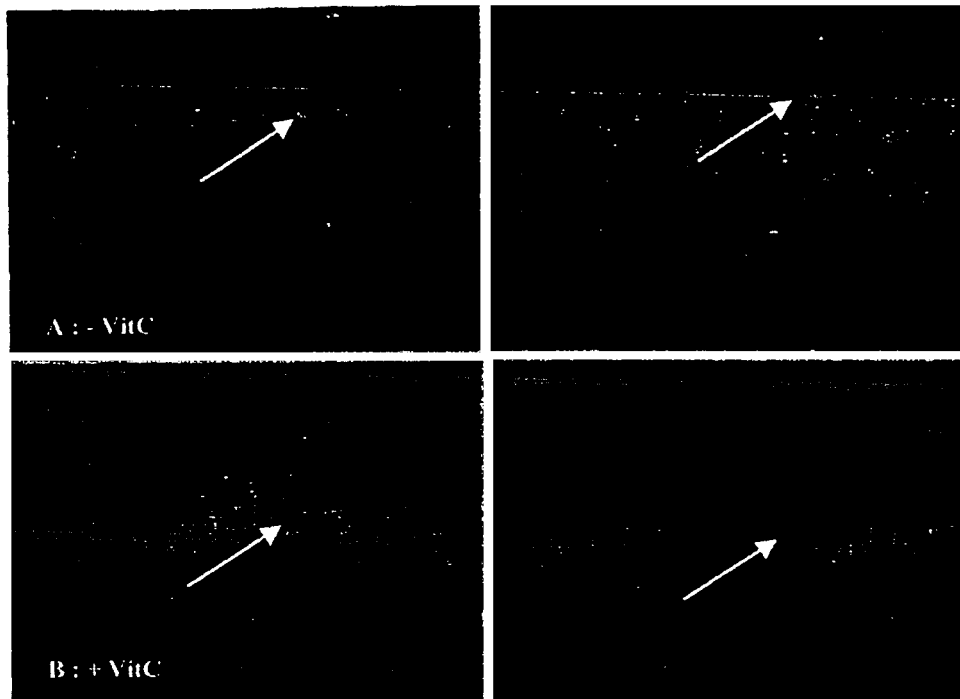


FIGURA 2

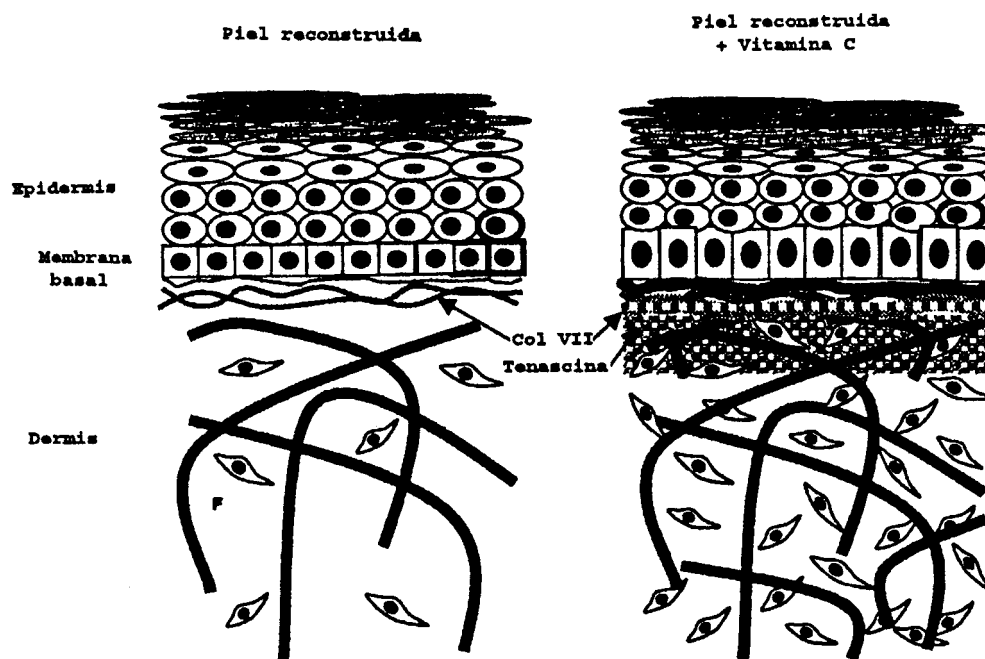


FIGURA 3