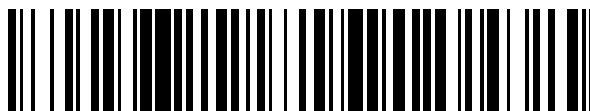


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 739 221**

51 Int. Cl.:

A61K 8/66	(2006.01) A61K 8/9789	(2007.01)
A61Q 19/00	(2006.01) A23L 33/105	(2006.01)
A61Q 19/02	(2006.01) A23L 33/135	(2006.01)
A61K 8/99	(2007.01) A23L 33/17	(2006.01)
A61K 8/36	(2006.01) A61K 31/216	(2006.01)
A61K 38/46	(2006.01) A61K 35/747	(2015.01)
A61K 31/215	(2006.01)	
A61K 31/225	(2006.01)	
A61K 35/74	(2015.01)	
A23L 33/10	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.06.2011** **PCT/EP2011/060769**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **05.01.2012** **WO12000963**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.06.2011** **E 11734042 (2)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.05.2019** **EP 2588072**

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

30 Prioridad:

30.06.2010 EP 10167864

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
29.01.2020

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 739 221 T3

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

DESCRIPCIÓN

Uso de ácido caftárico y bacteria láctica en suplemento alimenticio para aclarar y/o blanquear el tono de la piel

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

Antecedentes de la invención

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

La síntesis de melanina es un proceso bajo el control hormonal, que incluye péptidos de la hormona estimulante de melanocitos (MSH) y de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) que se producen a partir del precursor proopiomelanocortina. También se estimula por los daños al ADN que se provocan por radiaciones UVB.

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

La sociedad de hoy en día desea mucho la capacidad para modificar la expresión del contenido de pigmento en la piel, para promover una uniformidad del tono de la piel o aclarar el tono de la piel. Muchas personas desean modificar el tono de su piel, para reducir las manchas del envejecimiento, etc., o por motivos puramente cosméticos.

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

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

Se han sugerido retinoides tópicos y corticosteroides tópicos como agentes hipopigmentantes, ya que tienen tratamiento láser y exfoliantes químicos, pero estos no satisfacen las respuestas deseables.

Otras composiciones sugirieron el uso sobre la piel de materiales naturales, que en algunos casos se han usado durante siglos en Asia o Europa para decolorar la piel y áreas de la piel, o potenciar el aspecto de piel clara. Estos incluyen el uso de limón, naranja, pepino, ginko, algarroba, fruto del rosál, geranio, canela, mejorana dulce, romero, etc.

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

Así, sería altamente deseable tener preparaciones alternativas que no tuvieran los inconvenientes de las descritas en el estado de la técnica. En particular, sería altamente deseable desarrollar composiciones cosméticas nutricionales que se administraran por vía oral que tuvieran estabilidad y eficacia mejoradas para promover una uniformidad del tono de la piel o para aclarar el tono de la piel.

El objeto de la presente invención es cumplir estas necesidades.

Sumario

Los presentes inventores pudieron lograr el objetivo de aclarar y/o blanquear el tono de la piel proporcionando una composición de suplemento alimenticio que comprende al menos un ingrediente que contiene ácido caftárico y/o derivados de ácido caftárico, siendo los derivados de ácido caftárico compuestos que presentan al menos una alquilación C1-C3 de un grupo OH y/o un grupo CO₂H; y una bacteria láctica y/o una enzima capaz de hidrolizar el ácido caftárico y/o sus derivados para generar ácido tartárico y/o cafeico.

Así, según un primer objeto, la invención se refiere a un uso cosmético de una cantidad eficaz de al menos (1) un ingrediente que contiene ácido caftárico y/o derivados y (2) una bacteria ácido láctica o una enzima capaz de hidrolizar el ácido caftárico y/o derivados para generar ácido tartárico y/o cafeico para aclarar y/o blanquear el tono de la piel en un suplemento alimenticio oral, incluyendo dichos derivados compuestos que presentan al menos una alquilación C₁-C₃ de un grupo OH y/o un grupo CO₂H.

La presente invención también se refiere a un método cosmético de decoloración y/o blanqueamiento del tono de la piel, que comprende al menos una etapa de administrar, a un individuo, una cantidad eficaz de al menos (1) un ingrediente que contiene ácido caftárico y/o derivados y (2) una bacteria ácido láctica o una enzima capaz de hidrolizar el ácido caftárico y/o derivados para generar ácido tartárico y/o cafeico, en un suplemento alimenticio, incluyendo dichos derivados compuestos que presentan al menos una alquilación C₁-C₃ de un grupo OH y/o un grupo CO₂H.

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

Los presentes inventores han descubierto que el ingrediente que contiene ácido caftárico tratado con una bacteria láctica suprime eficazmente la formación de melanina, la melanogénesis, a pesar del hecho de que los extractos muestran de poca a ninguna inhibición de la actividad de tirosinasa. Este resultado es sorprendente e inesperado considerando la función esencial de la tirosinasa en la melanogénesis y el foco de los esfuerzos de desarrollo en la materia para inhibir esta enzima.

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

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

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

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

El presente documento describe además el uso cosmético del ingrediente anteriormente mencionado, como un agente activo para tratar y/o prevenir las imperfecciones de los pigmentos de la piel. Como resultado, el aspecto se vuelve más radiante y más homogéneo, sin áreas de discromia o de sequedad.

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

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

Según otro de sus aspectos, el objeto de la invención es un método, en particular un métodos cosmético, de tratamiento y/o prevención de las imperfecciones del tono de la piel y los trastornos asociados a la hiperpigmentación, en particular trastornos estéticos, en un individuo, que comprende al menos una etapa de administrar, a dicho individuo, al menos un ingrediente que contiene ácido caftárico y/o derivados y una bacteria láctica y/o una enzima capaz de hidrolizar el ácido caftárico y/o sus derivados para generar ácido tartárico y/o cafeico.

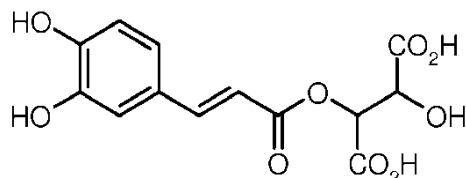
Las composiciones descritas en el presente documento son administrables por vía oral. Esto tiene la ventaja de que actúan globalmente sobre toda la piel, en sus capas más profundas (dermis, hipodermis), por medio de un modo de

administración rápido y relativamente no restrictivo. Específicamente, los metabolitos y otros nutrientes activos se distribuyen en particular dentro de la matriz dérmica por medio de la circulación sanguínea. La administración por vía oral también tiene la ventaja de un modo de administración rápido y relativamente no restrictivo.

Descripción detallada

5 *Ingrediente que contiene ácido caftárico y o derivados*

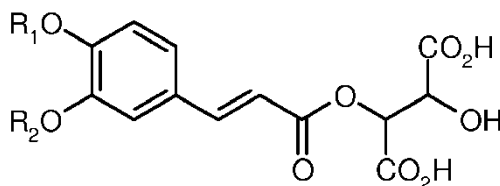
El ácido caftárico es



10 y sus derivados son compuestos que presentan al menos una alquilación C₁-C₃ de un grupo OH y/o un grupo CO₂H. Por ejemplo, se pueden alquilar ambos grupos fenólicos OH. Alternativamente y/o adicionalmente, se pueden transformar ambos grupos carboxilo en los ésteres alquílicos correspondientes. En una realización, todos los grupos OH y todos los grupos CO₂H están alquilados.

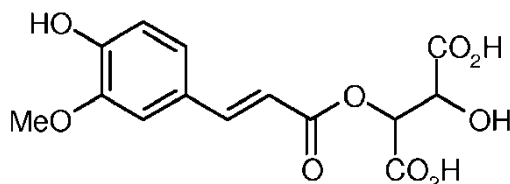
Los derivados típicos son compuestos en los que ambos grupos fenólicos OH están metilados, y/o compuestos en los que ambos grupos carboxilo están metilados.

Los derivados típicos adicionales incluyen los compuestos con la siguiente fórmula



15 en donde R₁ y/o R₂ se seleccionan del grupo que consiste en H; CH₃; arilo, tal como fenilo, bencilo, tolilo, o-xililalquilo; acilo C₁-C₃, aminoácidos, monosacáridos. R₁ y/o R₂ pueden ser idénticos o se pueden diferenciar entre sí.

Un derivado de ácido caftárico es el siguiente compuesto:



20 El ingrediente que contiene ácido caftárico y/o sus derivados puede ser cualquier ingrediente que contenga ácido caftárico y/o sus derivados, ya sean naturalmente o en forma añadida, pero preferentemente es un alimento natural tal como lechuga, endivia, diente de león, uva, orujo de uva; o sus combinaciones o extractos.

25 En una realización, el material de planta se añade a la composición cosmética oral en forma de un extracto, tal como un extracto de endivia. El extracto de endivia se puede preparar a partir de cualquier parte adecuada del material de planta que incluye, por ejemplo, la raíz, la pulpa, similares, o sus combinaciones.

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

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

35 Para facilitar la manipulación, el material de planta está preferentemente en una forma secada y desmenuzada o en polvo. Como se describe más adelante, los procesos utilizan endivia desmenuzada secada y/o sus extractos. Sin

embargo, se debe entender que se puede usar cualquier material de planta adecuado en cualquier forma adecuada y añadirse al producto según la presente invención.

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

Se debe apreciar que el material de planta se puede procesar para formar un extracto en una variedad de formas diferentes y adecuadas. En general, el material de planta, tal como la raíz de endivia, se muele, se pulveriza o se proporciona en cualquier forma adecuada. El material de planta se puede entonces procesar adicionalmente en varias etapas diferentes para producir el extracto de producto. En una realización, se realiza un procedimiento de desengrasado en el material de planta para producir un extracto que resulta de grasas retiradas del material de planta. El procedimiento de desengrasado se puede realizar bajo cualquier condición de proceso de desengrasado adecuada con cualquier cantidad y tipo adecuado de disolventes que incluye, por ejemplo, hexano.

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

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

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

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

En una realización preferida, el ingrediente está enriquecido en ácido caftárico y/o sus derivados. Por ejemplo, el ingrediente y/o la composición pueden comprender ácido caftárico y/o sus derivados en una cantidad en el intervalo de 0,001-99,99 % en peso de peso seco, preferentemente 0,1-50 % en peso de peso seco, lo más preferido 0,1-10 % en peso de peso seco. El ingrediente y/o la composición pueden comprender el microorganismo y/o la enzima capaz de hidrolizar el ácido caftárico y/o sus derivados para generar ácido tartárico y/o cafeico en una cantidad en el intervalo de 0,001-99,99 % en peso de peso seco, preferentemente 0,1-50 % en peso de peso seco 10, lo más preferido 0,1-10 % en peso de peso seco.

Generalmente, se prefiere si el producto contiene endivia o un extracto de la misma en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 0,1 g/L a 10 g/L, preferentemente en el intervalo de 0,5 g/L a 3 g/L de producto. Si la cantidad total de producto no se puede medir en litros, se prefiere si el producto contiene endivia o un extracto de la misma en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 0,1 g/kg a 10 g/kg, preferentemente en el intervalo de 0,5 g/kg a 3 g/kg de producto.

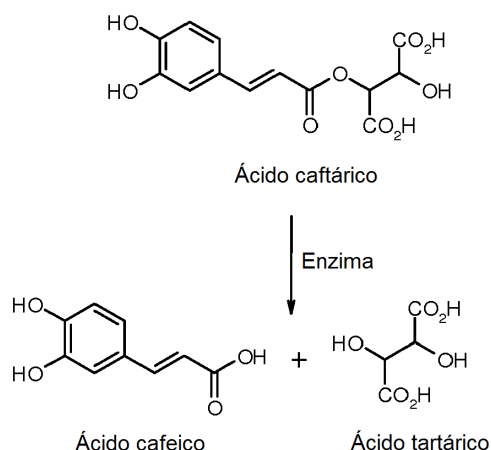
Preferentemente, el producto contiene endivia o un extracto de la misma en una dosis diaria de 0,01 g-100 g, preferentemente 0,25 g-10 g.

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

Microorganismos o enzima capaz de hidrolizar el ácido caftárico

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

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



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

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

- 15 La bacteria ácido láctica preferida capaz de hidrolizar ácido caftárico y/o sus derivados para generar ácido tartárico y/o cafeico son bacteria ácido láctica probiótica que tiene una actividad de esterasa, tal como clorogenato esterasa y/o feruloil esterasa, preferentemente *Lactobacillus* o *Bifidobacterium*, por ejemplo *L. johnsonii*, *B. longum*, y *B. lactis* (CNCM 1-3446), incluso más preferida *Lactobacillus johnsonii* La1 (CNCM I-1225), *B. longum*, BB 536 y *B. lactis* BB12.

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

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

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

Se puede probar la capacidad de una bacteria ácido láctica o de una fracción de la misma para hidrolizar un ácido caftárico como se describe en detalle para *L. johnsonii* CNCM 1-1225 (véanse los ejemplos).

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

- 30 Las enzimas adecuadas que se pueden usar en el marco de la presente invención incluyen, por ejemplo, esterasas, por ejemplo clorogenato esterasa derivada de *Aspergillus japonicus* (comercialmente disponible de Kikkoman, Japón), tanasa de *Aspergillus oryzae* (EC 3.1.1.20) (comercialmente disponible de Kikkoman, Japón). La enzima puede estar presente como una enzima purificada (inmovilizada o no) o, por ejemplo, en forma de un lisado celular de un microorganismo. Las células adecuadas pueden ser, por ejemplo, células de los microorganismos mencionados anteriormente. Se conocen en la técnica métodos adecuados para producir lisado celular.
- 35

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

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

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

Formas galénicas

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

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

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

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

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

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

Uso

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

Las composiciones adecuadas para la presente invención tienen además un efecto positivo sobre la tonificación de la barrera de la piel y el mantenimiento de la hidratación de la piel.

Como resultado, se reducen las imperfecciones del pigmento, el aspecto se vuelve más radiante y más homogéneo, sin áreas de discromia, o de sequedad.

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

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

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

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

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

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

- 10 Además, se pueden concebir las combinaciones de tratamiento con, opcionalmente, formas orales o tópicos para suplementar o reforzar la actividad de las composiciones como se define por la invención.

Así, se podría imaginar como un kit un tratamiento tópico u oral con una composición que contiene ácido caftárico según la invención, combinada con una composición oral o tópica que opcionalmente contiene otro principio activo, en particular un microorganismo probiótico, u otros probióticos en forma muerta, viva o semi-activa, o un agente

- 15 hidratante o antienvjecimiento. Los ingredientes se mezclan, antes de formularse, en el orden y en las condiciones fácilmente determinadas por los expertos en la técnica.

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

- 20 Las ventajas y características adicionales son evidentes a partir de los siguientes ejemplos y figuras. Los ejemplos en lo sucesivo se presentan así a modo de ilustración no limitante del campo de la invención. En estos ejemplos, a menos que se indique lo contrario, los porcentajes son porcentajes en peso y los intervalos de valores escritos en la forma "entre ... y ..." incluyen los límites superiores e inferiores especificados. El término "ufc" indica "unidad formadora de colonias". Esta es la unidad de medición usada para cuantificar bacterias vivas.

Figuras

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

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

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

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Hidrólisis de ácido caftárico

1- Hidrólisis de ácido caftárico con clorogenato esterasa

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

- 40 2- Hidrólisis de ácido caftárico con *L. johnsonii* (La1)

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

Se realizó en paralelo una reacción de control en las mismas condiciones de reacción pero sin bacteria.

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

- 50 Se cultivaron células de *L. johnsonii* (CNCM I-1225) (7,0 E08 ufc/mL) y se centrifugaron (5000 g, 10 min), se resuspendieron los sedimentos en tampón fosfato (50 mM, pH 7,0) a una concentración de 0,61 g/mL. Entonces se lisaron las células usando el método de perlas de vidrio. Se pusieron 600 µL de la preparación de células en un Mini-

Beadbeater durante 1 min de agitación intensa, se enfriaron en hielo, y se pusieron otro 1 min en el Mini-Beadbeater. Entonces se añadió el extracto de células en bruto (100 µL) a 100 µL de una disolución de ácido caftárico (12 mM, tampón fosfato 50 mM, pH 7,0) y la mezcla se incubó a 37 °C. Se extrajeron las muestras en diferentes tiempos de reacción, se centrifugaron (3000 g, 5 min), se filtraron a través de filtros de jeringa de 0,45 µm de tamaño de poros (Millipore SLHA 025 BS) y se analizaron por HPLC.

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

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

Análisis de HPLC

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

RESULTADOS

Bacterias probadas

Tabla 1

Bacterias	Medios de cultivo
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG (NCC 4007)	MRS
<i>Lactobacillus johnsonii</i> La1 (CNCM I-1225)	MRS
<i>Lactobacillus paracasei</i> ST11 (NCC 2461)	MRS + Cisteína
<i>Bifidobacterium longum</i> BB 536 (ATCC BAA-999)	MRS + Cisteína
<i>Bifidobacterium lactis</i> BB12 (CNCM I-3446)	MRS
<i>Streptococcus thermophilus</i> TH4 (NCC 2496)	HJL

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

Enzimas probadas

Tabla 2

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

Solo las clorogenato y feruloil esterases fueron capaces de hidrolizar el ácido caftárico en ácidos cafeico y tartárico.

1- Hidrólisis de ácido caftárico con clorogenato esterasa

Tabla 3: Hidrólisis de ácido caftárico en ácidos cafeico y caftárico por clorogenato esterasa. Concentración en % con respecto a la referencia no tratada a t=0

Tiempo (min)	0	15	30	60	120	240
Ácido caftárico	99	82	64	43	19	2
Ácido cafeico	0	18	36	57	81	98

5 2- Hidrólisis de ácido caftárico con células frescas de La1

Después de 4 h de tiempo de reacción, todo el ácido caftárico se transformó en ácido cafeico y se analizaron los ácidos tartáricos por HPLC

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

10 En comparación con células completas, la hidrólisis de ácido caftárico con células lisadas produjo un aumento de la velocidad de reacción. De hecho, después de solo 2 h, todo el ácido caftárico se transformó en ácido cafeico y ácido tartárico.

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

Tabla 4: Hidrólisis de ácido caftárico en ácidos cafeico y caftárico por una preparación secada por pulverización de *L. johnsonii*. Concentración en % con respecto a referencia no tratada a t=0

	0 min	15 min	30 min	1 h	2 h	3 h
Ácido caftárico	99	68	47	24	8	2
Ácido cafeico	0	32	53	76	92	98

15

Ejemplo 2: Efecto sobre la pigmentación de la piel

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

20 1. Condiciones de cultivo celular.

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

2. Producción de melanina por la línea celular de melanocitos murinos B16.

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

3. Producción de tirosinasa por la línea celular de melanocitos murinos B16.

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

Ingredientes:

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

Tabla 5

Ingrediente	Mayor conc. no citotóxica sobre HDF (mg/mL)	Mayor conc. no citotóxica sobre HPEK (mg/mL)	Conc. probada sobre HDF (mg/mL)	Conc. probada sobre HPEK (mg/mL)
MS55 10 mg/mL en NaPO ₄ 10 mM, pH 7,0 + 10 mg/mL de La1	2	10	0,4	10
Ácido caftárico 10 mM, es decir, 3,12 mg/mL + 90 mg de La1	0,2 mM	0,04 mM	0,2 mM	0,04 mM
La-1 (10EE11 ufc/g)	0,01	0,01	0,01	0,01

Resultados

Los resultados se expresan en porcentaje con respecto al control.

- 5 La referencia de prueba (ácido kójico) indujo, como era de esperar, una disminución en la producción de melanina. La Figura 1 muestra la producción de melanina por melanocitos B16 tratados durante 72 horas con los ingredientes seleccionados. Pareció que el ácido caftárico tratado con el probiótico CNCM I-1225 era eficiente para la despigmentación de la piel. De hecho, el ácido caftárico tratado con el probiótico disminuyó 70 % la producción de melanina (Figura 1). La producción de tirosinasa se disminuyó por este ingrediente, pero hasta un grado limitado (aproximadamente 40 %, Figura 2), sugiriendo que la disminución en melanina solo era parcialmente debida a la inhibición de tirosinasa. Pueden existir mecanismos adicionales que actúan aguas arriba o aguas abajo de esta enzima.

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

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

Condiciones de cultivo celular.

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

- 20 Síntesis de filagrina por queratinocitos epidérmicos humanos.

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

Resultados

- 25 Los resultados se muestran en la Figura 3. El pretratamiento de las células con ácido caftárico + La1 mostró un aumento significativo de filagrina (280 % del control, Figura 3), sugiriendo que estos extractos podrían fortalecer la barrera de la piel. Una barrera de la piel más fuerte garantiza una mejor protección del cuerpo del entorno y del ataque de patógenos. También limita la pérdida de agua a través de la epidermis, asegurando así una hidratación apropiada de la piel.

Ejemplo 4: Cápsula

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

- 30 Se pueden tomar por día de una a tres de estas cápsulas .

REIVINDICACIONES

1. Uso cosmético de una cantidad eficaz de al menos (1) un ingrediente que contiene ácido caftárico y/o derivados y (2) una bacteria ácido láctica o una enzima capaz de hidrolizar el ácido caftárico y/o derivados para generar ácido tartárico y/o cafeico para aclarar y/o blanquear el tono de la piel en un suplemento alimenticio oral, incluyendo dichos derivados compuestos que presentan al menos una alquilación C₁-C₃ de un grupo OH y/o un grupo CO₂H.
5
2. Uso según la reivindicación 1, en donde el ingrediente que contiene ácido caftárico es un alimento natural tal como lechuga, endivia, diente de león, uva, orujo de uva; o sus combinaciones o extractos.
3. Uso según una de las reivindicaciones precedentes, que contiene además una enzima capaz de hidrolizar el ácido caftárico y/o derivados para generar ácido tartárico y/o cafeico.
- 10 4. Uso según una de las reivindicaciones precedentes, en donde la bacteria ácido láctica capaz de hidrolizar ácido caftárico y/o derivados para generar ácido tartárico y/o cafeico es una bacteria ácido láctica probiótica que tiene una actividad de esterasa, tal como actividad de clorogenato esterasa y/o feruloil esterasa.
- 15 5. Uso según una de las reivindicaciones precedentes, en donde la bacteria ácido láctica se selecciona del grupo que consiste en *L. johnsonii*, *B. longum* y *B. lactis*, en particular *Lactobacillus johnsonii* (CNCM I-1225), *B. longum* BB 536, *B. lactis* (CNCM I-3446) y *B. lactis* BB12.
- 20 6. Método cosmético de aclarado y/o blanqueamiento del tono de la piel, que comprende al menos una etapa de administrar, a un individuo, una cantidad eficaz de al menos (1) un ingrediente que contiene ácido caftárico y/o derivados y (2) una bacteria ácido láctica o una enzima capaz de hidrolizar el ácido caftárico y/o derivados para generar ácido tartárico y/o cafeico, en un suplemento alimenticio, incluyendo dichos derivados compuestos que presentan al menos una alquilación C₁-C₃ de un grupo OH y/o un grupo CO₂H.

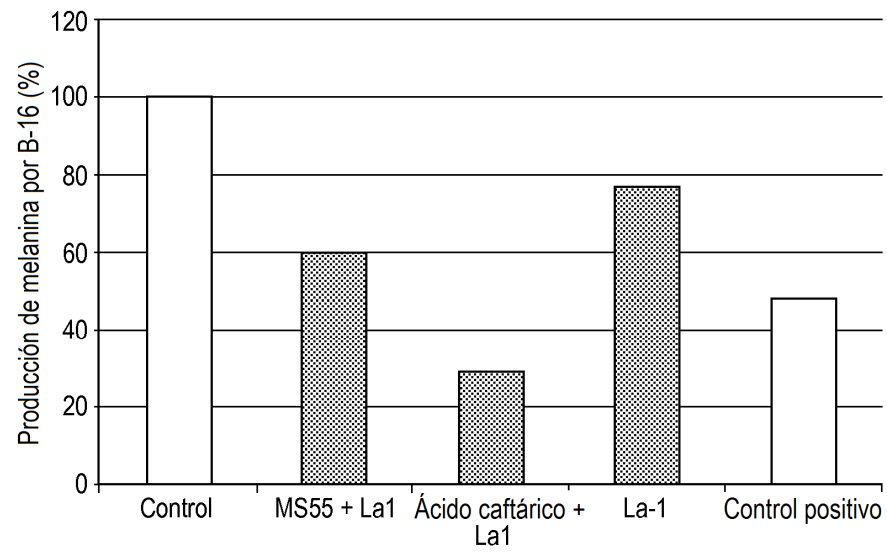


FIG. 1

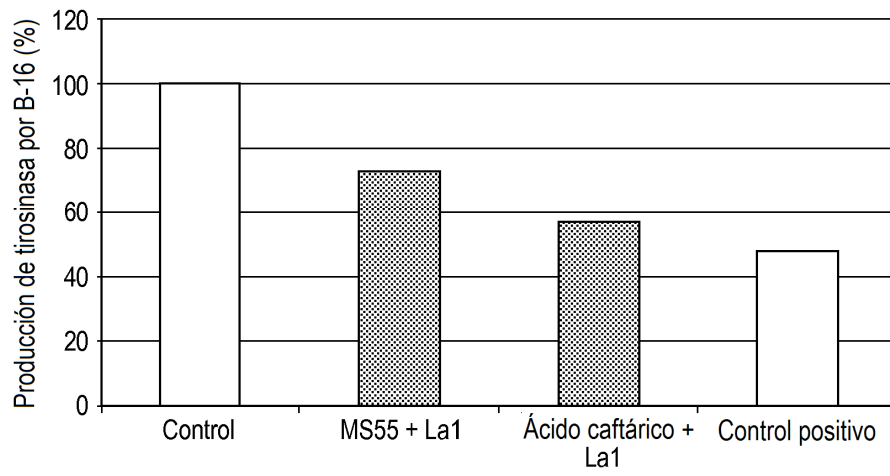


FIG. 2

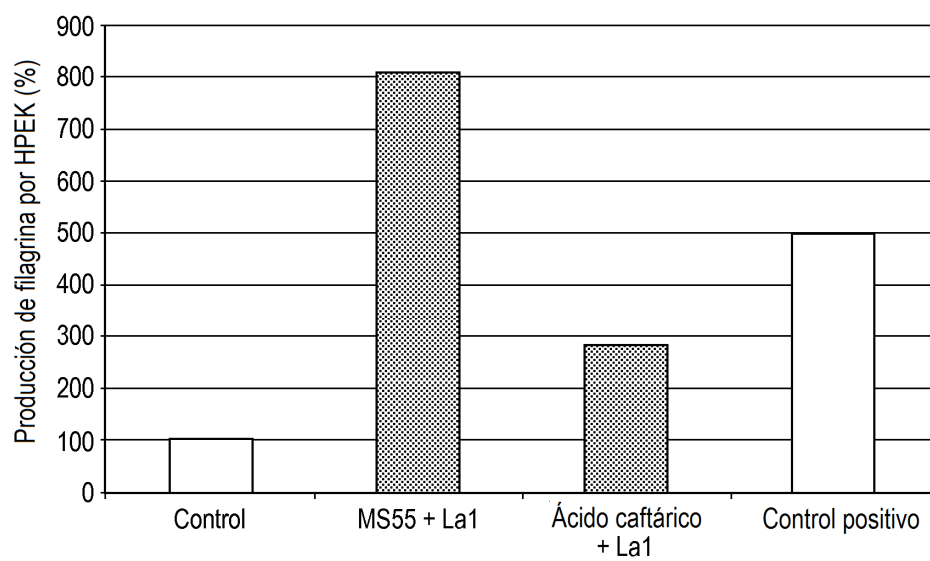


FIG. 3