

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 989 336**

51 Int. Cl.:

A61K 8/67 (2006.01)

A61K 8/9728 (2007.01)

A61Q 19/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.08.2019** **E 19194766 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.10.2024** **EP 3616681**

54 Título: **Composiciones tópicas que comprenden Pichia anomala y retinol**

30 Prioridad:

30.08.2018 US 201862724812 P

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

26.11.2024

73 Titular/es:

JOHNSON & JOHNSON CONSUMER INC.

(100.0%)

199 Grandview Road

Skillman, NJ 08558, US

72 Inventor/es:

RANDHAWA, MANPREET y

SOUTHALL, MICHAEL D.

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 989 336 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composiciones tópicas que comprenden *Pichia anomala* y retinol

5 CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención proporciona un método para tratar la piel aplicando tópicamente a la piel una combinación de un extracto de *Pichia anomala* y retinol. Además, se proporciona una composición tópica que comprende una combinación de un extracto de *Pichia anomala* y retinol.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15

El ácido hialurónico se encuentra en la piel en la periferia de las fibras de colágeno y elastina y donde estas fibras se cruzan. El ácido hialurónico se localiza no sólo en la dermis sino también en los espacios intercelulares epidérmicos, especialmente en la capa espinosa media, pero no en el estrato córneo (SC) ni en el estrato granuloso. En las pieles envejecidas, el nivel de ácido hialurónico disminuye y se disocia del colágeno y la elastina. La piel que contiene niveles reducidos de ácido hialurónico también demuestra una reducción de la fijación de agua, lo que puede estar involucrado en los cambios observados en la piel envejecida, incluidas arrugas, elasticidad alterada, turgencia reducida y capacidad disminuida para soportar la microvasculatura de la piel. Como uno de los GAG principales, el ácido hialurónico puede unir 1.000 veces su peso en agua y puede ayudar a la piel a retener y mantener el agua. Se encuentra en todo el tejido conectivo y es producido principalmente por fibroblastos y queratinocitos de la piel.

20

25

Se han propuesto diferentes métodos para combatir las arrugas y las líneas de expresión, incluida la inyección de ácido hialurónico. La inyección de ácido hialurónico exógeno se utiliza como agente de relleno dérmico temporal en procedimientos de aumento de tejido blando. Sin embargo, el ácido hialurónico inyectado tiene una vida útil limitada. Por otra parte, la penetración del ácido hialurónico exógeno en la piel ha resultado difícil de conseguir mediante aplicación tópica.

30

Pichia es un género de levaduras de la familia Saccharomycetaceae. Se conocen más de 100 especies de este género. Las especies más conocidas incluyen *Pichia anomala*, *Pichia guilliermondii*, *Pichia norvegensis* y *Pichia ohmeri*.

35

La *Pichia anomala* (anteriormente llamada *Hansenula anomala*) se puede encontrar en la leche cruda y el queso. Los extractos de levaduras del género *Pichia* son ricos en mananos, polisacáridos compuestos por monómeros de manosa. Se sabe que la *pichia anomala* y los mananos se utilizan en el tratamiento de la piel envejecida. Véanse, por ejemplo, FR 2938768, FR 2906719, FR 2897266 y FR 2976490.

40

PRO-LIPISKIN® es un ingrediente cosmético disponible comercialmente que contiene extracto de *Pichia anomala*. Es producido por una cepa de *Pichia* aislada de la caña de azúcar. Está disponible en Silab-Francia.

45

El documento US 2017/0172913A1 se refiere a composiciones tópicas que comprenden combinaciones de extracto de *Pichia anomala* y extracto de raíz de achicoria que proporcionan una mayor producción de ácido hialurónico, junto con métodos para tratar los signos del envejecimiento de la piel y mejorar la protección de la barrera cutánea y la hidratación de la piel.

50

Los retinoides, incluido el retiniano, son activos antienvjecimiento bien conocidos. Se utilizan en una variedad de productos cosméticos para aplicación tópica. La retinol se usa, por ejemplo, en NEUTROGENA® Rapid Wrinkle Repair® disponible comercialmente en Johnson & Johnson Consumer Inc. NEUTROGENA® Rapid Wrinkle Repair® se usa para atenuar la apariencia de las arrugas en la piel, suavizar las líneas finas, mejorar la textura de la piel e iluminar el tono de la piel. En particular, el retiniano ha demostrado ser un ingrediente cosmético muy eficaz y rentable.

55

El extracto de *Pichia anomala* y el retinol funcionan a través de diferentes mecanismos biológicos y dan como resultado una mejora de diferentes beneficios clínicos. La retinol es conocida como el estándar de oro para los beneficios antienvjecimiento y se sabe que funciona a través de una vía biológica que incluye los marcadores CRABP2 y HBEGF. El extracto de *Pichia anomala* actúa a través de una vía de hidratación al aumentar la actividad de la enzima de ácido hialurónico sintasa 2, lo que se traduce en beneficios clínicos que incluyen hidratación, mejora de la barrera cutánea, reafirmación, etc.

60

Aunque la técnica proporciona usos tópicos para los extractos de *Pichia anomala* y retinol por separado, los solicitantes han descubierto ahora que la aplicación tópica de una combinación de estos dos ingredientes aumenta beneficiosamente la actividad del retinol y la actividad del extracto de *Pichia anomala*. Esto proporciona inesperadamente beneficios significativos para la piel, que incluyen mejorar, reducir, inhibir o retrasar la aparición de al menos un signo de envejecimiento en la piel y mejorar la protección de la barrera cutánea y la humectación de la piel. Por ello, ahora existen nuevos métodos para tratar, por ejemplo, los signos del envejecimiento de la piel. El documento US 2017/0172913A1 se refiere a una composición tópica que comprende un extracto de *Pichia anomala* y un extracto de raíz de achicoria que contiene glucosamina.

65

RESUMEN DE LA INVENCION

La invención está definida por las reivindicaciones adjuntas. La presente invención se refiere a una composición tópica que comprende un extracto de *Pichia anomala* y retinol en la que la relación en peso del extracto de *Pichia anomala* a retinol en la composición es 1,3.

La invención también se refiere a un método para tratar un signo de envejecimiento de la piel, que comprende aplicar tópicamente a la piel que necesita tratamiento para el envejecimiento de la piel una composición tópica que comprende un extracto de *Pichia anomala* y retinol en donde la relación en peso del extracto de *Pichia anomala* a retinol en la composición es 1,3.

La invención proporciona además un método para mejorar la función de barrera de la piel y la humectación, que comprende aplicar tópicamente a la piel que necesita mejorar la función de barrera de la piel y la humectación una composición tópica que comprende un extracto de *Pichia anomala* y retinol en donde la relación en peso del extracto de *Pichia anomala* a retinol en la composición es 1,3.

DESCRIPCION DETALLADA

La composición tópica de la presente invención mejora la producción de ácido hialurónico en la piel mediante la acción sinérgica del extracto de *Pichia anomala* y el retinol.

Se cree que un experto en la técnica puede, basándose en la descripción del presente documento, utilizar la presente invención en toda su extensión. Las siguientes formas de realización específicas deben interpretarse como meramente ilustrativas y no limitativas del resto de la divulgación de ninguna manera.

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en este documento tienen el mismo significado que entiende comúnmente un experto en la técnica a la que pertenece la invención. A menos que se indique lo contrario, los porcentajes utilizados para expresar cantidades de ingredientes son porcentaje en peso (es decir, % (p/p). De manera similar, las proporciones en peso utilizadas para expresar proporciones relativas de ingredientes también se determinan utilizando porcentaje en peso (es decir, las proporciones en peso se calculan dividiendo el porcentaje en peso de un ingrediente por otro). A menos que se indique lo contrario, todos los rangos incluyen los puntos finales, por ejemplo, "de 4 a 9" incluye los puntos finales 4 y 9. El producto puede contener además un embalaje adicional, como un plástico o caja de cartón para almacenar dicho recipiente. El producto comprende una composición de la invención y puede contener instrucciones que indiquen al usuario aplicar la composición sobre la piel o el cabello.

Como se usa en el presente documento, "aplicar tópicamente" significa aplicar directamente sobre la piel exterior, el cuero cabelludo o el cabello, por ejemplo, mediante el uso de las manos o un aplicador tal como una toallita, un rodillo o un aerosol.

Como se usa en el presente documento, "cosmético" se refiere a una sustancia o preparación embellecedora que conserva, restaura, otorga, simula, o mejora la apariencia de la belleza corporal o parece mejorar la belleza o la juventud, específicamente en lo que se refiere a la apariencia del tejido o la piel.

Como se usa en el presente documento, "cosméticamente aceptable" significa que los ingredientes que describe el término son adecuados para su uso en contacto con tejidos (por ejemplo, la piel o el cabello) sin toxicidad indebida, incompatibilidad, inestabilidad, irritación, respuesta alérgica o similares.

Las composiciones de la presente invención pueden ser adecuadas para tratar los signos del envejecimiento de la piel. Como se utiliza en el presente documento, "signos de envejecimiento de la piel" incluye la presencia de líneas y arrugas, pérdida de elasticidad, piel desigual y manchas. De manera especialmente preferida, el signo del envejecimiento es la presencia de líneas y arrugas y/o pérdida de elasticidad.

Como se usa en el presente documento, "tratar los signos del envejecimiento de la piel" se refiere a mitigar, reducir, prevenir, mejorar o eliminar la presencia o los signos del envejecimiento de la piel descritos anteriormente.

Como se usa en el presente documento, "arruga" incluye líneas finas, arrugas finas o arrugas gruesas. Ejemplos de arrugas incluyen, entre otras, líneas finas alrededor de los ojos (por ejemplo, "patas de gallo"), arrugas en la frente y las mejillas, líneas de expresión y líneas de expresión alrededor de la boca.

Como se usa en el presente documento, "pérdida de elasticidad" incluye pérdida de elasticidad o integridad estructural de la piel o tejido, incluyendo, entre otros, tejido caído, laxo y suelto. La pérdida de elasticidad o integridad de la estructura del tejido puede ser el resultado de una serie de factores, incluidos, entre otros, enfermedades, envejecimiento, cambios hormonales, traumatismos mecánicos, daños ambientales o el resultado de la aplicación de productos, como cosméticos o productos farmacéuticos, al tejido.

Como se usa en el presente documento, "piel desigual" significa una condición de la piel asociada con pigmentación difusa o moteada, que puede clasificarse como hiperpigmentación, tal como hiperpigmentación posinflamatoria.

5 Como se utiliza en el presente documento, "manchas" significa una condición de la piel asociada con enrojecimiento o eritema.

10 Como se usa en el presente documento, "mejorar la firmeza de la piel" significa mejorar la firmeza o elasticidad de la piel, prevenir la pérdida de firmeza o elasticidad de la piel, o prevenir o tratar la piel flácida, laxa y flácida. La firmeza o elasticidad de la piel se puede medir mediante el uso de un cutómetro. Véase *Handbook of Non-Invasive Methods and the Skin*, eds. J. Serup, G. Jemec y G. Grove, Capítulo 66.1 (2006). La pérdida de elasticidad o firmeza de la piel puede ser el resultado de una serie de factores, incluidos, entre otros, el envejecimiento, el daño ambiental o el resultado de la aplicación de un cosmético en la piel.

15 Como se utiliza en el presente documento, "mejorar la textura de la piel" significa alisar la superficie de la piel para eliminar protuberancias o grietas en la superficie de la piel.

Como se utiliza en el presente documento, "mejorar la apariencia de las arrugas en la piel" significa prevenir, retardar, detener o revertir el proceso de formación de arrugas y líneas finas en la piel.

20 Como se utiliza en el presente documento, la expresión "cantidad segura y eficaz" significa una cantidad suficiente para inducir el efecto deseado, pero lo suficientemente baja como para evitar efectos secundarios graves. La cantidad segura y eficaz del compuesto, extracto o composición variará, por ejemplo, con la edad, la salud y la exposición ambiental del usuario final, la duración y naturaleza del tratamiento, el extracto, ingrediente o composición específicos empleados, el transportista particular utilizado y factores similares.

25 Como se utiliza en el presente documento, "piel que necesita mejorar la función de barrera cutánea y la hidratación" significa piel que carece, entre otras, de humedad, de sebo, agrietada, seca, con picazón, escamosa, xerodérmica, deshidratada, carece de flexibilidad, carece de luminosidad, falta de lípidos o sin brillo.

30 Como se describe en el presente documento, los solicitantes han descubierto que la aplicación tópica de una combinación de un extracto de *Pichia anomala* y retinol proporciona una función de barrera cutánea, hidratación de la piel y beneficios antienvjecimiento inesperadamente buenos.

35 Los solicitantes también han descubierto en particular que la aplicación tópica de una composición que contiene una combinación de un extracto de *Pichia anomala* y retinol mejora los niveles de ácido hialurónico ("AH") endógeno en la piel, proporcionando mejoras en la hidratación y la aparición de al menos un signo de envejecimiento de la piel. El uso tópico de dicha composición puede aumentar los niveles de ácido hialurónico en una dirección que se encuentra en la piel más joven, proporcionando así el soporte estructural a la piel para reducir la aparición de signos de envejecimiento en la piel.

40 ***Pichia anomala***

45 La composición tópica comprende uno o más extractos de *Pichia anomala*. En particular, dichos extractos pueden ser extractos producidos utilizando una de las diversas cepas de *Pichia anomala* aisladas del fruto u otras partes aéreas de una planta. Se puede utilizar cualquier extracto cosméticamente aceptable de *Pichia anomala*.

Un ejemplo de un extracto adecuado de *Pichia anomala* es PRO-LIPISKIN, disponible comercialmente en Silab-France. Se produce a partir de una cepa de *Pichia anomala* presente en la caña de azúcar.

50 Otro ejemplo de un extracto adecuado de *Pichia anomala* se produce a partir de una cepa de *Pichia anomala* presente en frutos u hojas de la planta de kiwi.

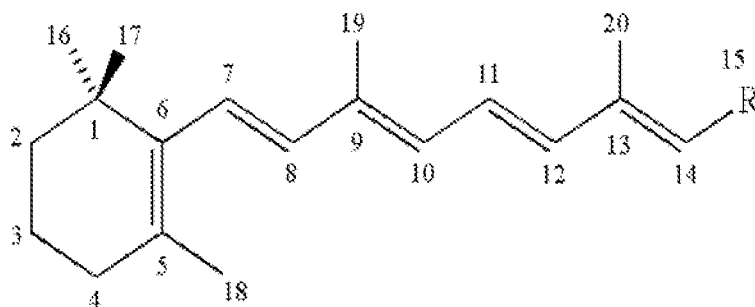
55 El extracto de *Pichia anomala* se puede proporcionar como una solución que contiene materia seca (el extracto) en el intervalo de aproximadamente 20 % en peso, más específicamente de 2 a 10 % en peso, más específicamente de 3 a 7 % en peso.

Los disolventes para tales soluciones incluyen agua, alcoholes, glicoles y similares. El disolvente puede ser al menos aproximadamente un 90 % en peso de agua, o al menos aproximadamente un 95 % en peso de agua.

60 **Retinol**

La composición tópica también contiene retinol. Retinol tiene la fórmula:

65 Como se usa en el presente documento, un "producto" está opcionalmente en forma empaquetada terminada. El paquete puede ser un recipiente, tal como un tubo o frasco de plástico, metal o vidrio que contiene la composición. El



en el que R es CH₂OH.

Cantidades

En las composiciones de la presente invención se puede utilizar cualquier cantidad adecuada de extracto de *Pichia anomala* y retinol. Preferiblemente, las composiciones comprenden cantidades seguras y eficaces de ambos ingredientes. En particular, las cantidades de extracto de *Pichia anomala* y retinol utilizadas son cosméticamente aceptables y se seleccionan para lograr el tratamiento deseado de la piel para una afección particular, tal como signos de envejecimiento, disminución de la función de barrera o disminución de la hidratación.

Preferiblemente, las composiciones pueden comprender de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 % en peso de extracto de *Pichia anomala*, más preferiblemente aproximadamente de 0,065 a aproximadamente 0,26 % en peso de extracto de *Pichia anomala*. La composición puede comprender aproximadamente un 0,13 % en peso de extracto de *Pichia anomala*.

Alternativamente o, además, preferiblemente las composiciones comprenden de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 % en peso, más preferiblemente aproximadamente de 0,05 a aproximadamente 1 % en peso, de retinol. La composición puede comprender aproximadamente un 0,1 % en peso de retinol.

La relación en peso de extracto de *Pichia anomala* a retinol en las composiciones es 1,3.

Composiciones tópicas

Las composiciones de la presente invención se aplican tópicamente a la piel o al cabello humanos. Por consiguiente, la composición puede incluir además un vehículo tópico cosméticamente aceptable que puede ser de aproximadamente el 50 % a aproximadamente el 99,99 % en peso de la composición (por ejemplo, de aproximadamente el 80 % a aproximadamente el 99 % en peso de la composición). Preferiblemente, el vehículo tópico cosméticamente aceptable puede incluir agua.

Las composiciones pueden convertirse en una amplia variedad de tipos de productos que incluyen, entre otros, lociones, cremas, geles, barras, aerosoles, ungüentos, jabones líquidos limpiadores y barras sólidas, champús y acondicionadores para el cabello, fijadores para el cabello, pastas, espumas, polvos, espumas, cremas de afeitar, toallitas, parches, hidrogeles, productos formadores de película, mascarillas faciales y mascarillas para la piel, películas y maquillaje tales como bases de maquillaje y máscaras. Estos tipos de productos pueden contener varios tipos de vehículos tópicos cosméticamente aceptables que incluyen, entre otros, soluciones, suspensiones, emulsiones tales como microemulsiones y nanoemulsiones, geles, sólidos y liposomas. Los siguientes son ejemplos no limitantes de tales vehículos. Los expertos en la técnica pueden formular otros vehículos.

Las composiciones útiles en la presente invención se pueden formular como soluciones. Las soluciones normalmente incluyen un disolvente acuoso u orgánico (por ejemplo, de aproximadamente el 50 % a aproximadamente el 99,99 % o de aproximadamente el 90 % a aproximadamente el 99 % de un disolvente acuoso u orgánico cosméticamente aceptable). Ejemplos de disolventes orgánicos adecuados incluyen propilenglicol, polietilenglicol, polipropilenglicol, glicerol, 1,2,4-butanotriol, ésteres de sorbitol, 1,2,6-hexanotriol, etanol y mezclas de los mismos.

Las composiciones útiles en la presente invención se pueden formular como una solución que comprende un emoliente. Preferiblemente, tales composiciones contienen de aproximadamente 2 % a aproximadamente 50 % de uno o más emolientes. Como se usa en el presente documento, "emolientes" se refiere a materiales usados para la prevención o el alivio de la sequedad, tales como evitando la pérdida transepidérmica de agua de la piel. Ejemplos de emolientes incluyen los conocidos en la técnica. Ejemplos de emolientes particularmente adecuados incluyen aceites vegetales, aceites minerales, ésteres grasos y similares.

Se puede preparar una loción a partir de dicha solución. Las lociones normalmente contienen de aproximadamente 1 % a aproximadamente 20 % (por ejemplo, de aproximadamente 5 % a aproximadamente 10 %) de un emoliente(s) y de aproximadamente 50 % a aproximadamente 90 % (por ejemplo, de aproximadamente 60 % a aproximadamente 80 %) de agua.

Otro tipo de producto que puede formularse a partir de una solución es una crema. Una crema normalmente contiene de aproximadamente un 5 % a aproximadamente un 50 % (por ejemplo, de aproximadamente un 10 % a aproximadamente un 20 %) de un emoliente(s) y de aproximadamente un 45 % a aproximadamente un 85 % (por ejemplo, de aproximadamente un 50 % a aproximadamente un 75 %) de agua. La composición de la presente invención puede incluir agua o, alternativamente, ser anhidra o ser un ungüento que no incluye agua sino disolventes, aceites, lípidos y ceras orgánicos y/o de silicona. Un ungüento puede contener una base simple de aceites animales o vegetales o hidrocarburos semisólidos. Una pomada puede contener de aproximadamente un 2 % a aproximadamente un 10 % de uno o más emolientes más de aproximadamente un 0,1 % a aproximadamente un 2 % de un agente espesante.

La composición puede formularse como una emulsión. Si el vehículo tópico es una emulsión, de aproximadamente el 1 % a aproximadamente el 10 % (por ejemplo, de aproximadamente el 2 % a aproximadamente el 5 %) del vehículo tópico contiene uno o más emulsionantes. Los emulsionantes pueden ser no iónicos, aniónicos o catiónicos. Son bien conocidos en la técnica ejemplos de emulsionantes.

Las lociones y cremas se pueden formular como emulsiones. Normalmente, tales lociones contienen de 0,5 % a aproximadamente 5 % de uno o más emulsionantes. Tales cremas contienen típicamente de aproximadamente 1 % a aproximadamente 20 % (por ejemplo, de aproximadamente 5 % a aproximadamente 10 %) de uno o más emolientes; de aproximadamente un 20 % a aproximadamente un 80 % (por ejemplo, de un 30 % a aproximadamente un 70 %) de agua; y de aproximadamente 1 % a aproximadamente 10 % (por ejemplo, de aproximadamente 2 % a aproximadamente 5 %) de uno o varios emulsionantes.

Las preparaciones para el cuidado de la piel en emulsión única, tales como lociones y cremas, del tipo aceite en agua y del tipo agua en aceite, son bien conocidas en la técnica cosmética y son útiles en la presente invención. Las composiciones de emulsión multifásica, tales como las del tipo agua en aceite en agua o las del tipo aceite en agua en aceite, también son útiles en la presente invención. En general, dichas emulsiones monofásicas o multifásicas contienen agua, emolientes y emulsionantes como ingredientes esenciales.

Las composiciones de esta invención también se pueden formular como un gel (por ejemplo, un gel acuoso, alcohólico, alcohol/agua o oleoso usando uno o más agentes gelificantes adecuados). Los agentes gelificantes adecuados para geles acuosos y/o alcohólicos incluyen, entre otros, gomas naturales, polímeros y copolímeros de ácido acrílico y acrilato y derivados de celulosa (por ejemplo, hidroximetilcelulosa e hidroxipropilcelulosa). Los agentes gelificantes adecuados para aceites (tales como aceite mineral) incluyen, entre otros, copolímero de butileno/etileno/estireno hidrogenado y copolímero de etileno/propileno/estireno hidrogenado. Tales geles contienen típicamente entre aproximadamente 0,1 % y 5 %, en peso, de tales agentes gelificantes.

La composición puede ser una crema en gel. La estética del gel crema se caracteriza por una capa acuosa, un aspecto semitranslúcido y una sensación ligera. Tal como se utiliza en el presente documento, el término "crema en gel" significa una formulación con niveles bajos de gotitas de aceite suspendidas en una matriz de gel acuosa.

Las composiciones de la presente invención también se pueden formular en una formulación sólida (por ejemplo, una barra a base de cera, una composición de barra de jabón, un polvo o una toallita que contiene polvo).

Las composiciones pueden contener, además de los componentes anteriores, una amplia variedad de materiales adicionales solubles en aceite y/o materiales solubles en agua utilizados convencionalmente en composiciones para uso en la piel y el cabello, en sus niveles establecidos en la técnica.

Agentes cosméticamente activos adicionales

Las composiciones de la presente invención pueden comprender además cualquiera de una variedad de agentes cosméticamente activos adicionales. Ejemplos de agentes activos adicionales adecuados incluyen: agentes aclaradores de la piel, agentes oscurecedores, agentes antienvjecimiento adicionales, promotores de tropoelastina, promotores de colágeno, agentes antiacné, agentes de control del brillo, agentes antimicrobianos tales como agentes antilevadadura, agentes antifúngicos y agentes antibacterianos, agentes antiinflamatorios, agentes antiparasitarios, analgésicos externos, protectores solares, fotoprotectores, antioxidantes, agentes queratolíticos, detergentes/tensioactivos, humectantes, nutrientes, vitaminas, potenciadores de energía, agentes antitranspirantes, astringentes, desodorantes, depiladores, agentes potenciadores del crecimiento del cabello, agentes retardantes del crecimiento del cabello, agentes reafirmantes, potenciadores de la hidratación, potenciadores de la eficacia, agentes anticallos, agentes para el acondicionamiento de la piel, agentes anticelulíticos, agentes de control de olores tales como enmascaradores de olores o cambios de pH agentes y similares.

Ejemplos de diversos activos cosméticamente aceptables adicionales adecuados incluyen hidroxiácidos; peróxido de benzoilo; D-pantenol; filtros UV como, entre otros, avobenzona (PARSOL 1789), bisdisulizol disódico (NEO HELIOPAN AP), benzoato de dietilamino hidroxibenzoil hexilo (UVINUL A Plus), ecamsule (MEXORYL SX), antranilato de metilo, ácido 4-aminobenzoico (PABA), cinoxato, etilhexil triazona (UVINUL T 150), homosalato, 4-metilbencilideno alcanfor (PARSOL 5000), metoxicinamato de octilo (Octinoxato), salicilato de octilo (Octisalato), padimato O (ESCALOL 507), ácido fenilbencimidazol sulfónico (ENSULIZOLE), polisilicona-15 (PARSOL SLX), salicilato de trolamina, bemotrizinol (TINOSORB S), benzofenonas 1-12, dioxibenzona, drometrizol trisiloxano (MEXORYL XL), isotrizinol (UVASORB HEB), octocrileno, oxibenzona (EUSOLEX 4360), sulisobenzona, bisotrizol (TINOSORB M), titanio dióxido, óxido de zinc; carotenoides; eliminadores de radicales libres; trampas giratorias; otros retinoides y precursores de retinoides tales como ácido retinoico y palmitato de retinilo; ceramidas; ácidos grasos poliinsaturados; ácidos grasos esenciales; enzimas; inhibidores de enzimas; minerales; hormonas como los estrógenos; esteroides como hidrocortisona; 2-dimetilaminoetanol; sales de cobre tales como cloruro de cobre; péptidos que contienen cobre, coenzima Q10; aminoácidos tales como praliné; vitaminas; ácido lactobiónico; acetil-coenzima A; niacina; riboflavina; tiamina; ribosa; transportadores de electrones como NADH y FADH2; y otros extractos botánicos tales como extractos de avena, aloe vera, matricaria, soja, hongo shiitake y derivados y mezclas de los mismos.

Preferiblemente, las composiciones pueden comprender una combinación de extracto de *Pichia anomala*, retinol y al menos un agente activo hidratante de la piel adicional.

Como alternativa o, además, preferiblemente las composiciones comprenden la combinación de extracto de *Pichia anomala*, retinol y al menos un agente adicional para mejorar la apariencia de al menos un signo de envejecimiento en la piel. Ejemplos de agentes adicionales adecuados que mejoran la apariencia de al menos un signo de envejecimiento en la piel incluyen, entre otros, promotores de tropoelastina, promotores de colágeno, retinoides, ácido hialurónico que incluye ácido hialurónico reticulado, sulfato de condroitina que incluye sulfato de condroitina reticulado, dimetilaminoetanol, N,N,N',N'-tetrakis(2-hidroxiopropil)etilendiamina, alfa hidroxiácidos, polihidroxiácidos, aminas de azúcar y combinaciones de dos o más de los mismos.

"Promotores de tropoelastina", como se usa en el presente documento, se refiere a una clase de compuestos que poseen la actividad biológica de mejorar la producción de tropoelastina. Los promotores de tropoelastina, según la presente invención, incluyen todos los compuestos naturales o sintéticos capaces de mejorar la producción de tropoelastina en el cuerpo humano.

Ejemplos de promotores de tropoelastina adecuados incluyen, entre otros, extractos de mora, extractos de cotinus, extractos de matricaria y complejos bimetálicos que tienen constituyentes de cobre y/o zinc. El complejo bimetálico con componentes de cobre y/o zinc puede ser, por ejemplo, citrato de cobre y zinc, oxalato de cobre y zinc, tartrato de cobre y zinc, malato de cobre y zinc, succinato de cobre y zinc, malonato de cobre y zinc, maleato de cobre y zinc, aspartato de cobre y zinc, glutamato de cobre y zinc, glutarato de cobre y zinc, fumarato de cobre y zinc, glucarato de cobre y zinc, ácido poliacrílico de cobre y zinc, adipato de cobre y zinc, pimelato de cobre y zinc, suberato de cobre y zinc, azealato de cobre y zinc, sebacato de cobre-zinc, dodecanoato de cobre-zinc o combinaciones de los mismos. Preferiblemente, el promotor de tropoelastina se puede seleccionar entre extractos de mora, extractos de cotinus, extractos de matricaria y combinaciones de los mismos. De manera particularmente preferida, el promotor de tropoelastina puede seleccionarse entre extractos de mora, extractos de matricaria y combinaciones de los mismos.

Por "extracto de mora" se entiende una mezcla de compuestos aislados de la planta del género *Rubus*, y preferiblemente *Rubus fruticosus*. Los compuestos pueden aislarse de las flores de la planta. Los compuestos pueden aislarse de flores secas de la planta. Dichos compuestos pueden aislarse de una o más partes de la planta (por ejemplo, la planta completa, flor, semilla, raíz, rizoma, tallo, fruto y/u hoja de la planta). Preferiblemente, el extracto de mora puede ser un extracto de hoja de mora. Un extracto de mora particularmente adecuado se produce extrayendo las hojas de *Rubus fruticosus* con una mezcla de agua y etanol compuesta hasta una actividad de aproximadamente 5 % a aproximadamente 10 %, con una matriz de maltodextrina, disponible comercialmente en Symrise Inc. de Teterboro, Nueva Jersey y se vende bajo el nombre SYMMATRIX.

Las composiciones de la presente invención pueden incluir una cantidad cosméticamente eficaz de uno o más promotores de tropoelastina tales como los descritos anteriormente. Preferiblemente, las composiciones incluyen, sobre una base activa, de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 10 % de los promotores de tropoelastina, más preferiblemente de aproximadamente 0,5 % a aproximadamente 5 % de promotores de tropoelastina, y lo más preferiblemente de aproximadamente 0,5 % a aproximadamente 2 % de los promotores de la tropoelastina.

"Promotor de colágeno", como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos que poseen la actividad biológica de mejorar la producción de colágeno. Los "promotores de colágeno no retinoides" según la presente invención incluyen todos los compuestos naturales o sintéticos que no son retinoides, o se derivan de retinoides, y son capaces de mejorar la producción de colágeno en el cuerpo humano.

Ejemplos de promotores de colágeno adecuados incluyen, entre otros, los siguientes: retinoides, extractos de matricaria (*Tanacetum parthenium*), extractos de *Centella asiática* y extractos de *Siegesbeckia orientalis*; extractos de soja; péptidos promotores de colágeno; ácido ursólico; y asiaticósido.

Centella asiática, también conocida como *Violette marronne* en la Isla de la Reunión, Gotu Kola o centella india en la India, *Centella repanda* en Norteamérica y Talapetraka en Madagascar, es una hierba polimorfa y pertenece a la familia de las *Umbelíferas* (*Apiaceae*), particularmente a la subfamilia *Hydrocotyle*. Crece de forma silvestre en todos los trópicos y prefiere regiones húmedas y sombreadas a una altitud de unos 600 a 1200 metros sobre el nivel del mar. *Centella asiática* tiene tres variedades: *Typica*, *Abyssinica* y *Floridana*. La hierba es conocida y utilizada por sus propiedades curativas, sedantes, analgésicas, antidepresivas, antivirales y antimicrobianas. La actividad biológica de la hierba parece deberse a la presencia de moléculas de triterpenos en la hierba. Un extracto adecuado de *Centella asiática* está disponible como TECA en Bayer Consumer HealthCare de Basilea, Suiza.

Por "extractos de *Siegesbeckia orientalis*" se entiende cualquiera de los diversos extractos de la planta *Siegesbeckia orientalis*, incluido el Darutoside disponible en Sederma (Croda International Group of Edison, Nueva Jersey).

Los péptidos promotores de colágeno adecuados incluyen los siguientes péptidos de matriquina (es decir, un péptido derivado de la degradación de proteínas de la matriz extracelular - colágeno, elastina o proteoglicano) que incluyen pentapéptidos de palmitoilo, tales como MATRIXYL de Sederma (Croda International Group of Edison, Nueva Jersey); péptido de cobre GHK disponible como PROCYTE de Photomedex de Montgomeryville, PA; péptido Palmitoyl GHK disponible como Biopopeptide CL de Sederma (Croda International Group of Edison, Nueva Jersey); Tetrapéptidos biomiméticos, tales como los disponibles como Chronoline Tri Peptide de Unipex de Quebec, Canadá; y tripéptido palmitoil, disponible como Syn-Coll de DSM de Basilea, Suiza.

El ácido ursólico también se conoce como ácido triterpénico pentacíclico, Prunol, Malol, Urson, ácido beta-ursólico y ácido 3-Beta-Hidroxi-Urs-12-En-28-Oico. Está disponible comercialmente, por ejemplo, en Sigma-Aldrich de St. Louis, MO.

Asiaticósido, también conocido químicamente como: [6-[[3,4-dihidroxi-6-(hidroximetil)-5-(3,4,5-trihidroxi-6-metiloxan-2-il)oxioxan-2-il]oximetil]-3,4,5-trihidroxi-10,11-dihidroxi-9-(hidroximetil)-1,2,6a,6b,9,12a-hexametil-2,3,4,5,6,6a,7,8,8a,10,11,12,13,14b-tetradecahidro-1H-piceno-4a-carboxilato) está disponible comercialmente, por ejemplo, en Bayer Santé Familiale Division Serdex, 69, Boulevard Victor Hugo 93400 SAINT-OUEN Francia.

Las composiciones de la presente invención pueden incluir una cantidad cosméticamente eficaz de uno o más promotores de colágeno. Preferiblemente, las composiciones incluyen, sobre una base activa, de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 10 % de promotores de colágeno, más preferiblemente de aproximadamente 0,5 % a aproximadamente 5 % de promotores de colágeno, y lo más preferiblemente de aproximadamente 0,5 % a aproximadamente 2 % de los promotores del colágeno.

Las composiciones de la presente invención pueden comprender adicionalmente al menos un agente activo aclarador de la piel. Ejemplos de agentes activos para aclarar la piel adecuados incluyen, entre otros, inhibidores de tirosinasa, agentes de degradación de melanina, agentes inhibidores de la transferencia de melanosoma que incluyen antagonistas de PAR-2, exfoliantes, protectores solares, retinoides, antioxidantes, ácido tranexámico, clorhidrato de éster cetílico del ácido tranexámico, agentes blanqueadores de la piel, ácido linoleico, sal disódica de monofosfato de adenosina, extracto de manzanilla, alantoína, opacificantes, talcos y sílices, sales de zinc y similares, y otros agentes como se describe en Solano et al. Pigment Cell Res. 19 (550-571) y Ando et al. Int J Mol Sci 11 (2566-2575).

Los ejemplos de inhibidores de tirosinasa adecuados incluyen, entre otros, vitamina C y sus derivados, vitamina E y sus derivados, ácido kójico, arbutina, resorcinol, hidroquinona, flavonas, por ejemplo, flavonoides de regaliz, extracto de raíz de regaliz, extracto de raíz de morera, extracto de raíz de Dioscorea Coposita, extracto de saxifraga y similares, ácido elágico, salicilatos y derivados, glucosamina y derivados, fullereno, hinokitol, ácido dioico, acetil glucosamina, 5,5'-dipropil-bifenil-2,2'-diol (magnolignan), 4-(4-hidroxifenil)-2-butanol (4-HPB), combinaciones de dos o más de los mismos y similares. Los ejemplos de derivados de vitamina C incluyen, entre otros, ácido ascórbico y sus sales, ácido ascórbico-2-glucósido, ascorbilfosfato de sodio, ascorbilfosfato de magnesio y extracto natural enriquecido en vitamina C. Ejemplos de derivados de vitamina E incluyen, entre otros: entre otros, alfa tocoferol, beta, tocoferol, gamma-tocoferol, delta-tocoferol, alfa-tocotrienol, beta tocotrienol, gamma-tocotrienol, delta-tocotrienol y mezclas de los mismos, acetato de tocoferol, fosfato de tocoferol y extractos naturales enriquecidos en derivados de vitamina E. Los ejemplos de derivados de resorcinol incluyen, entre otros, resorcinol, resorcinol 4-sustituidos como 4-alkilresorcinol como 4-butiresorcinol (rucinol), 4-hexilresorcinol (Synovea HR, Sytheon), feniletil resorcinol (Symwhite, Symrise), 1-(2,4-dihidroxifenil)-3-(2,4-dimetoxi-3-metilfenil)-propano (nivitol, Unigen) y extractos naturales enriquecidos en resorcinol. Los ejemplos de salicilatos incluyen, entre otros, salicilato de 4-metoxipotasio, ácido salicílico, ácido acetilsalicílico, ácido 4-metoxisalicílico y sus sales. Preferiblemente, los inhibidores de tirosinasa pueden incluir un resorcinol 4-sustituido, un derivado de vitamina C o un derivado de vitamina E. Más preferiblemente, el inhibidor de tirosinasa puede comprender feniletil resorcinol, 4-hexil resorcinol o ascorbil-2-glucósido.

Ejemplos de agentes de degradación de melanina adecuados incluyen, entre otros, peróxidos y enzimas tales como peroxidasa y ligninasas. Preferiblemente, los agentes inhibidores de la melanina pueden incluir un peróxido o una ligninasa.

Ejemplos de agentes inhibidores de la transferencia de melanosoma adecuados incluyen antagonistas de PAR-2 tales como inhibidor de tripsina de soja o inhibidor de Bowman-Birk, vitamina B3 y derivados tales como niacinamida, soja esencial, soja entera, extracto de soja. Preferiblemente, los agentes inhibidores de la transferencia de melanosomas pueden incluir un extracto de soja o niacinamida.

Ejemplos de exfoliantes incluyen, entre otros, alfa-hidroxiácidos tales como ácido láctico, ácido glicólico, ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico o cualquier combinación de cualquiera de los anteriores, beta-hidroxiácidos tales como ácido salicílico, polihidroxiácidos como el ácido lactobiónico y el ácido glucónico, y exfoliación mecánica como la microdermoabrasión. Preferiblemente, los exfoliantes pueden incluir ácido glicólico o ácido salicílico.

Ejemplos de retinoides distintos del retinol incluyen, entre otros, retinol (aldehído de vitamina A), acetato de retinilo, propionato de retinilo, linoleato de retinilo, ácido retinoico, palmitato de retinilo, isotretinoína, tazaroteno, bexaroteno, adapaleno, combinaciones de dos o más de los mismos y similares. Preferiblemente, el retinoide se puede seleccionar del grupo que consiste en retinol, acetato de retinilo, propionato de retinilo, linoleato de retinilo y combinaciones de dos o más de los mismos.

Ejemplos de antioxidantes incluyen, entre otros, antioxidantes solubles en agua tales como compuestos de sulfhidrilo y sus derivados (por ejemplo, metabisulfito de sodio y N-acetilcisteína, glutatión), ácido lipoico y ácido dihidrolipoico, estilbenoides tales como resveratrol y derivados, lactoferrina, quelantes de hierro y cobre y ácido ascórbico y derivados del ácido ascórbico (por ejemplo, ascobil-2-glucósido, palmitato de ascorbilo y polipéptido de ascorbilo). Los antioxidantes solubles en aceite adecuados para su uso en las composiciones de esta invención incluyen, entre otros, hidroxitolueno butilado, retinoides, tocoferoles (por ejemplo, acetato de tocoferol), tocotrienoles y ubiquinonas. Los extractos naturales que contienen antioxidantes adecuados para su uso en las composiciones de esta invención incluyen, entre otros, extractos que contienen flavonoides e isoflavonoides y sus derivados (por ejemplo, genisteína y diadzeína), extractos que contienen resveratrol y similares. Ejemplos de dichos extractos naturales incluyen semilla de uva, té verde, té negro, té blanco, corteza de pino, matricaria, matricaria sin partenolida, extractos de avena, extracto de mora, extracto de cotinus, extracto de soja, extracto de pomelo, extracto de germen de trigo, hesperedina, extracto de uva, extracto de Portulaca, licocalcona, chalcona, 2,2'-dihidroxi chalcona, extracto de primula, propóleo y similares.

El agente cosméticamente activo adicional puede estar presente en una composición en cualquier cantidad adecuada, por ejemplo, en una cantidad de aproximadamente 0,0001 % a aproximadamente 20 % en peso de la composición, por ejemplo, aproximadamente 0,001 % a aproximadamente 10 % tal como aproximadamente 0,01 % a aproximadamente el 5 %. Preferiblemente, el agente cosméticamente activo adicional puede estar presente en una cantidad del 0,1 % al 5 % y preferiblemente puede estar presente en una cantidad del 1 % al 2 %.

Las composiciones de la presente invención pueden incluir una cantidad cosméticamente eficaz de uno o más compuestos antiinflamatorios.

Ejemplos de agentes antiinflamatorios adecuados incluyen resorcinolos sustituidos, (E)-3-(4-metilfenilsulfonil)-2-propenonitrilo (tal como "Bay 11-7082", disponible comercialmente en Sigma-Aldrich de St. Louis, Missouri), tetrahidrocurcuminoides (tales como Tetrahidrocurcuminoides CG, disponible en Sabinsa Corporation de Piscataway, Nueva Jersey), extractos y materiales derivados de lo siguiente: extracto de corteza de Phellodendron amurense (PCE), soja no desnaturalizada (Glycine max), matricaria (Tanacetum parthenium), jengibre (Zingiber officinale), Ginkgo biloba, Madecassoside (ingrediente de extracto de *Centella asiática*), Cotinus (Cotinus coggygria), Extracto de petasita (Petasites hybridus), Baya de Goji (Lycium barbarum), Extracto de cardo mariano (Silybum marianum), Madreselva (Lonicera japonica), Basalmo del Perú (Myroxylon pereirae), Salvia (Salvia officinalis), Extracto de arándano (Vaccinium oxycoccos), Aceite de amaranto (Amaranthus cruentus), Granada (Punica granatum), Yerbe mate (Extracto de hoja de flex paraguayensis), Extracto de flor de lirio blanco (Lilium candidum), extracto de hoja de olivo (Olea europaea), floretina (extracto de manzana), harina de avena (Avena sativa), extracto de Lifenol (lúpulo: Humulus lupulus), bugrane P (Ononis spinosa), licocalcona (regaliz: ingrediente de extracto de Glycyrrhiza inflata), Symrelief (extracto de bisabolol y jengibre), combinaciones de dos o más de los mismos, y similares.

El agente antiinflamatorio puede ser un resorcinol. Resorcinolos sustituidos particularmente adecuados incluyen 4-hexilresorcinol y 4-octilresorcinol, particularmente 4-hexilresorcinol. El 4-hexilresorcinol está disponible comercialmente como SYNOVEA HR de Sytheon de Lincoln Park, Nueva Jersey. El 4-octilresorcinol está disponible comercialmente en City Chemical LLC de West Haven, Connecticut.

Por "extractos de matricaria" se entiende extractos de la planta "Tanacetum parthenium", tales como los que pueden producirse de acuerdo con los detalles establecidos en la publicación de solicitud de patente de EE. UU. N° 2007/0196523, titulada "PARTHENOLIDE FREE BIOACTIVE INGREDIENTS FROM FEVERFEW (TANACETUM PARTHENIUM) AND PROCESSES FOR THEIR PRODUCTION." Un extracto de matricaria particularmente adecuado está disponible comercialmente como aproximadamente un 20 % de matricaria activa, de Integrated Botanical Technologies de Ossining, NY.

En la composición para el cuidado de la piel de la invención, se puede variar la relación de las cantidades del extracto combinado de *Pichia anomala* y retinol con respecto al compuesto antiinflamatorio. Por ejemplo, el extracto y el compuesto

antiinflamatorio pueden estar presentes en una proporción en peso (que se determina dividiendo la cantidad en peso del extracto seco por la cantidad en peso del compuesto antiinflamatorio) de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 100, preferiblemente de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10, más preferiblemente de aproximadamente 0,25 a aproximadamente 2.

También pueden estar presentes una variedad de otros materiales en las composiciones de la presente invención. Preferiblemente, la composición puede comprender uno o más ingredientes tópicos seleccionados del grupo que consiste en: tensioactivos, agentes quelantes, emolientes, humectantes, acondicionadores, conservantes, opacificantes, fragancias y similares.

Lo que se entiende por emoliente es un compuesto que ayuda a mantener la apariencia suave, tersa y flexible de la piel (por ejemplo, permaneciendo en la superficie de la piel o en el estrato córneo para actuar como lubricante). Ejemplos de emolientes adecuados incluyen los que se encuentran en el Capítulo 35, páginas 399-415 (Skin Feel Agents, por G Zocchi) en Handbook of Cosmetic Science and Technology (editado por A. Barel, M. Paye y H. Maibach, publicado en 2001 por Marcel Dekker, Inc, Nueva York, NY), e incluyen, entre otros, vaselina, estearato de hexildecilo y aceites vegetales, de nueces y vegetales tales como aceite de nuez de macadamia, aceite de salvado de arroz, aceite de semilla de uva, aceite de palma, aceite de rosa prímula, aceite de maní hidrogenado y aceite de aguacate.

Lo que se entiende por humectante es un compuesto destinado a aumentar el contenido de agua de las capas superiores de la piel (por ejemplo, compuestos higroscópicos). Ejemplos de humectantes adecuados incluyen los que se encuentran en el Capítulo 35, páginas 399-415 (Skin Feel Agents, por G Zocchi) en Handbook of Cosmetic Science and Technology (editado por A. Barel, M. Paye y H. Maibach, publicado en 2001 por Marcel Dekker, Inc New York, NY) e incluyen, entre otros, glicerina, sorbitol o trehalosa (p. ej. α,α -trehalosa, β,β -trehalosa, α,β -trehalosa) o una sal o éster de los mismos (p. ej. trehalosa 6-fosfato).

La composición puede contener glicerina. Por ejemplo, la composición contiene al menos un 10 % en peso de glicerina. La composición puede contener al menos 12 % en peso de glicerina.

La composición puede comprender de 0,5 a 25 por ciento en peso de glicerina. La composición puede comprender de 1 a 6 por ciento en peso de glicerina.

Alternativamente o, además, la composición tiene un pH de 6,5 o menos. Por ejemplo, la composición puede tener un pH de 5,5 o menos.

La composición puede contener al menos 10 % en peso de glicerina y tener un pH de 6,5 o menos.

Alternativamente o, además, la composición comprende de 0,1 a 5 por ciento en peso de olivato de cetearilo. La composición puede comprender de 0,1 a 2 por ciento en peso de olivato de cetearilo.

Alternativamente o, además, la composición comprende de 0,1 a 5 por ciento en peso de olivato de sorbitán. La composición puede comprender de 0,1 a 2 por ciento en peso de olivato de sorbitán.

Una fuente conveniente de olivato de cetearilo y olivato de sorbitán es Olivem 1000, disponible comercialmente en Hallstar Itali.

Lo que se entiende por tensioactivo es un agente tensioactivo destinado a limpiar o emulsionar. Ejemplos de tensioactivos adecuados incluyen los que se encuentran en el Capítulo 37, páginas 431-450 (Classification of surfactants, por L. Oldenhove de Guertechin) en Handbook of Cosmetic Science and Technology (editado por A. Barel, M. Paye y H. Maibach, Publicado en 2001 por Marcel Dekker, Inc, Nueva York, NY) e incluyen, entre otros, tensioactivos aniónicos como sulfatos, tensioactivos catiónicos como betainas, tensioactivos anfóteros como cocoglicinato de sodio, tensioactivos no iónicos como alquilpoliglucósidos.

Ejemplos de agentes quelantes adecuados incluyen aquellos que son capaces de proteger y conservar las composiciones de esta invención. Preferiblemente, el agente quelante es ácido etilendiaminotetracético ("EDTA"), y más preferiblemente es EDTA tetrasódico, disponible comercialmente en Dow Chemical Company de Midland, Michigan, con el nombre comercial VERSENE 100XL.

Los conservantes adecuados incluyen, por ejemplo, parabenos, especies de amonio cuaternario, fenoxietanol, benzoatos, DMDM hidantoína, ácidos orgánicos y están presentes en la composición en una cantidad, basada en el peso total de la composición, de aproximadamente 0 a aproximadamente 1 por ciento o desde aproximadamente 0,05 por ciento hasta aproximadamente 0,5 por ciento.

Cualquiera de una variedad de acondicionadores que confieren atributos adicionales, tales como brillo al cabello, son adecuados para su uso en esta invención. Los ejemplos incluyen, entre otros, agente acondicionador de silicona volátil que tiene un punto de ebullición a presión atmosférica inferior a aproximadamente 220°C. Ejemplos de siliconas volátiles adecuadas incluyen no exclusivamente polidimetilsiloxano, polidimetilciclosiloxano, hexametildisiloxano, fluidos de

ciclometicona tales como polidimetilciclosiloxano disponibles comercialmente en Dow Corning Corporation de Midland, Michigan con el nombre comercial "DC-345" y mezclas de los mismos, y preferiblemente incluyen fluidos de ciclometicona. Otros acondicionadores adecuados incluyen polímeros catiónicos, incluidos policuatos, guar catiónico y similares.

5 Cualquiera de una variedad de agentes nacarados u opacificantes disponibles comercialmente son adecuados para su uso en la composición. Ejemplos de agentes nacarados u opacificantes adecuados incluyen, entre otros, mono o diésteres de (a) ácidos grasos que tienen de aproximadamente 16 a aproximadamente 22 átomos de carbono y (b) etilen o propilenglicol; mono o diésteres de (a) ácidos grasos que tienen de aproximadamente 16 a aproximadamente 22 átomos de carbono (b) un polialquilenglicol de fórmula: $\text{HO}-(\text{JO})_n-\text{H}$, en la que J es un grupo alquileo que tiene de
10 aproximadamente 2 a aproximadamente 3 átomos de carbono; y a es 2 o 3; alcoholes grasos que contienen de aproximadamente 16 a aproximadamente 22 átomos de carbono; ésteres grasos de fórmula: KCOOCH_2L , en la que K y L contienen independientemente de aproximadamente 15 a aproximadamente 21 átomos de carbono; sólidos inorgánicos insolubles en la composición de champú, y mezclas de los mismos.

15 Se puede utilizar cualquier composición de fragancia adecuada para uso en la piel de acuerdo con la presente invención.

Preferiblemente, la presente invención puede estar en forma de un sustrato que comprende una composición de la presente invención. Puede usarse cualquier sustrato adecuado. Se describen ejemplos de sustratos y materiales de sustrato adecuados, por ejemplo, en las solicitudes publicadas de EE. UU. Nos. 2005/0226834 y 2009/0241242.

20 Preferiblemente, el sustrato puede ser una toallita, un guante o una mascarilla facial, que comprende preferiblemente un sustrato insoluble en agua tal como se define en las referencias citadas anteriormente. El sustrato insoluble en agua puede tener un tamaño y una forma tales que cubra la cara de un usuario humano para facilitar la colocación del sustrato insoluble en agua alrededor de la cara del usuario como sustrato de máscara. Por ejemplo, el sustrato de mascarilla insoluble en
25 agua puede tener aberturas para la boca, la nariz y/o los ojos del usuario. Alternativamente, el sustrato insoluble en agua puede no tener tales aberturas. Tal configuración sin aberturas puede ser útil cuando se pretende que el sustrato insoluble en agua se cubra sobre una extensión de piel no facial o si se pretende que el sustrato insoluble en agua se use como toallita. El sustrato insoluble en agua puede tener varias formas, tales como una forma angular (por ejemplo, rectangular) o una forma arqueada, como circular u ovalada. El sustrato puede ser un guante tal como se describe en la solicitud publicada de EE. UU. N° 2006/0141014, que se incorpora en este documento en su totalidad. El producto puede incluir una pluralidad de sustratos insolubles en agua de diferentes formas.

La presente invención comprende además un método para mejorar la función de barrera y/o la hidratación de la piel aplicando a la piel que necesita mejorar la función de barrera de la piel y/o la hidratación una combinación de extracto de
35 *Pichia anomala* y retinol. El método comprende, por ejemplo, aplicar tópicamente una composición de la presente invención que comprende extracto combinado de *Pichia anomala* y retinol a la piel que necesita mejorar la función de barrera cutánea y la hidratación. Dicha aplicación tópica puede ser en cualquier piel del cuerpo que necesite tratamiento, por ejemplo, la piel de la cara, labios, cuello, pecho, espalda, brazos, axilas, manos, pies y/o piernas. Preferiblemente, el extracto de *Pichia anomala* y el retinol combinados se aplican en una cantidad eficaz que dé como resultado la mejora deseada de la función de barrera cutánea.

La presente invención comprende además un método para mejorar la apariencia de al menos un signo de envejecimiento de la piel aplicando a la piel que necesita mejorar la apariencia de al menos un signo de envejecimiento de la piel una combinación de extracto de *Pichia anomala* y retinol. El método comprende, por ejemplo, aplicar tópicamente una
45 composición de la presente invención que comprende extracto de *Pichia anomala* y retinol a la piel que necesita tratamiento de al menos un signo de envejecimiento de la piel. Dicha aplicación tópica puede ser en cualquier piel del cuerpo que necesite tratamiento, por ejemplo, la piel de la cara, labios, cuello, pecho, espalda, brazos, axilas, manos, pies y/o piernas. Preferiblemente, el extracto de *Pichia anomala* y el retinol combinados se aplican en una cantidad eficaz que dé como resultado la mejora deseada en la apariencia de al menos un signo de envejecimiento de la piel.

50 Puede usarse cualquier método adecuado para aplicar la composición a la piel que lo necesite. Por ejemplo, la composición se puede aplicar directamente desde un paquete a la piel que se necesita, manualmente a la piel que se necesita, o se puede transferir desde un sustrato tal como una toallita o mascarilla, o una combinación de dos o más de los mismos. La composición se puede aplicar mediante un gotero, tubo, rodillo, pulverizador y parche o añadirse a un
55 baño o de otro modo al agua para aplicarla sobre la piel y similares. La composición se puede aplicar de diversas maneras/formas, incluyendo, entre otras, como crema, mascarilla y/o suero sin aclarado.

Los métodos de la presente invención pueden comprender aplicar a la piel al menos dos composiciones o productos diferentes que comprenden extracto de *Pichia anomala* y retinol. Por ejemplo, los métodos pueden comprender aplicar
60 una primera composición que comprende un extracto de *Pichia anomala*, seguido de aplicar una segunda composición que comprende retinol que es diferente de la primera composición, a la piel que necesita tratamiento.

Preferiblemente, la primera y segunda composición se pueden seleccionar independientemente del grupo que consiste en lociones, limpiadores, mascarillas, toallitas, cremas, sueros, geles y similares. Preferiblemente, al menos una de las composiciones primera y segunda puede ser un limpiador, loción, crema, esencia o suero y la otra es una mascarilla o toallita facial. Como alternativa o, además, preferiblemente al menos una de las composiciones primera y segunda es un

limpiador y la otra es una loción o crema. La composición y las formulaciones y productos que contienen dichas composiciones de la presente invención se pueden preparar usando una metodología que es bien conocida por un experto en la materia. Estas composiciones pueden ser útiles en el tratamiento de pieles envejecidas tales como arrugas, pérdida de elasticidad, piel irregular, incluida la reducción de las manchas. La composición se puede utilizar de forma rutinaria y está sustancialmente libre de irritantes para la piel.

Los siguientes ejemplos no limitantes ilustran adicionalmente la presente invención.

Ejemplo 1

La producción de ácido hialurónico (AH) por explantes de piel humana se determinó después de tratarlos con las Composiciones de prueba 1-4 que contienen diferentes cantidades de extracto de *Pichia anomala* como sigue.

Primero, se preparó un gel que contenía los siguientes ingredientes:

INCI	% en peso
Fenoxietanol; Metilparabeno; Etilparabeno; Propilparabeno	0,7
Carbómero	1
Solución de hidróxido de sodio al 20 %	QS (pH= 6)
Agua	98,3

Las composiciones 1-4 se prepararon combinando 2 % en peso del gel con diferentes cantidades de una solución acuosa al 5 % de extracto de *Pichia anomala*, junto con ingredientes adicionales. La *Pichia anomala* se había cultivado en la planta de kiwi. La solución acuosa al 5 % se trató como una solución madre al 100 %.

Las composiciones 1-4 contenían los ingredientes mostrados en la Tabla 1.

TABLA 1

INCI	Composición 1 (% en peso)	Composición 2 (% en peso)	Composición 3 (% en peso)	Composición 4 (% en peso)
Gel	2	2	2	2
Alcohol cetearílico; Glucósido de cetearilo	7	7	7	7
Isononanoato de isononilo	8	8	8	8
Fenoxietanol; Metilparabeno; Etilparabeno; Propilparabeno	0,7	0,7	0,7	0,7
5 % Ac. Solución de extracto de <i>Pichia anomala</i>	2,5 (0,065 % en peso de extracto de <i>Pichia anomala</i>)	5 (0,13 % en peso de extracto de <i>Pichia anomala</i>)	7,5 (0,195 % en peso de extracto de <i>Pichia anomala</i>)	10 (0,26 % en peso de extracto de <i>Pichia anomala</i>)
Agua	79,8	77,3	74,8	72,3

Producción de AH por composiciones 1-4 se determinó mediante inmunohistología en explantes normales de piel humana de tres donantes (29, 30, 55 años). Se cortaron punzones de ocho mm de diámetro de los explantes y se depositaron sobre trozos de gasa estéril y se colocaron, un explante por pocillo, en placas de seis pocillos con 3 mL de medio de cultivo. El medio de cultivo se vendió con el nombre comercial GIBCO DMEM/F-12 (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, catálogo n.º 11514436) con penicilina-estreptomicina GIBCO al 1 % (ThermoFisher Scientific, catálogo n.º 11528876) y anfotericina B al 0,1 % vendido con el nombre comercial FUNGIZONA (ThermoFisher Scientific, catálogo n.º 11510496).

Para cada composición de prueba, se aplicaron 5 µl de la composición de prueba a un explante una vez al día durante 5 días. Se utilizó como control una muestra de explante no tratado. El día 7 se recuperaron los explantes, se limpiaron con una gasa estéril, luego se cortaron por la mitad verticalmente y se fijaron en paraformaldehído al 4 % (V/V). El día 8 los explantes se deshidrataron y se incluyeron en parafina. Cada composición de prueba se probó por triplicado.

Los portaobjetos parafinizados se quitaron con xileno y la recuperación del epítipo se llevó a cabo con PT link (Agilent, Santa Clara, CA) y una solución de recuperación de objetivos vendida con el nombre comercial ENVISION Flex, High pH (Dako, DM828, Agilent, Santa Clara, CA). A continuación, se enjuagaron los portaobjetos con tampón de lavado vendido con el nombre comercial ENVISION (Dako, DM831, Agilent, Santa Clara, CA) una vez durante 10 minutos. La permeabilización y saturación se realizaron con PBS 0,3 % Triton/5 % suero de cabra (Dako, Santa Clara, CA, catálogo n.º CP3418/X090710-8) durante 30 minutos, seguido del etiquetado con proteína fijadora de ácido hialurónico ("HAPB" de Calbiochem, n.º de catálogo 385911, Millipore Sigma, St. Louis, Nueva Jersey) durante la noche a 4°C. Al día siguiente, los portaobjetos se enjuagaron con PBS tres veces durante 5 minutos cada una. El anticuerpo se reveló con la proteína de unión a biotina unida covalentemente a una etiqueta fluorescente vendida con el nombre comercial de estreptavidina ALEXA FLUOR 488 (Invitrogen™, número de catálogo S11223) y la tinción de los núcleos se realizó con una solución DAPI (Dako, Santa Clara, CA) a 5 µg/ml durante 30 min a temperatura ambiente. A continuación, se enjuagaron los portaobjetos con PBS y se montaron con medio de montaje Fluoprep (bioMerieux UK Ltd, catálogo del Reino Unido n.º 75521).

Se tomaron fotografías de las secciones de piel con un microscopio de fluorescencia Olympus IX70 (Olympus Corporation, Japón) acoplado a un sistema de análisis de imágenes (software NIS-Elements AR, Nikon Instruments, Melville, NY). El análisis cuantitativo de las imágenes se realizó con el software ImageJ.

Los resultados se muestran en la Tabla 2. Los resultados se expresan como intensidad de fluorescencia promedio de la dermis (en Unidades Arbitrarias (UA)). La intensidad de la fluorescencia (verde) es proporcional a la síntesis de HAPB.

TABLA 2

	Cantidad de solución al 5 % de extracto de <i>Pichia anomala</i>	Porcentaje en peso de extracto de <i>Pichia</i> <i>anomala</i>	Delta de HAPB en comparación con el control sin tratar
Composición 1	2,5 %	0,065 %	10,36583333
Composición 2	5 %	0,13 %	17,73
Composición 3	7,5 %	0,195 %	15,23666667
Composición 4	10 %	0,26 %	15,4125

Estos resultados sugieren que la producción máxima de AH por la piel se obtiene utilizando aproximadamente un 0,13 % en peso del extracto de *Pichia anomala*. Por encima de esta cantidad, la producción de AH se estabilizó.

Ejemplo 2

La producción de ácido hialurónico (AH) por explantes de piel humana se determinó después de tratarlos con cuatro composiciones de prueba: Composición 2 descrita en el Ejemplo 1 (que contiene extracto de *Pichia anomala*), Composición 5 (que contiene retinol), y Composiciones 6 y 7 (que contienen ambos) según la invención.

La composición 5 contenía 0,1 % en peso de retinol y los demás ingredientes que se muestran en la Tabla 3.

TABLA 3: Composición 5

INCI	% en peso
Agua	62,18
Acriloldimetiltaurato de sodio/polímero cruzado VP	0,5
EDTA disódico	0,1
Glicerina	5
Butilenglicol	2
Hialuronato de sodio	0,1
Caprililglicol	0,5
Alcohol estearílico; Ceteareth-20	3
Alcohol cetearílico; Ceteareth-20	3
Isohexadecano	1,5
PPG-15 Éter estearílico	4,5
Tetraetilhexanoato de pentaeritritilo	7
BHT	0,1
Poliacrilamida; Laureth-7; C13-14 Isoparafina	1
Dimeticona; polímero cruzado de dimeticona	5
Dimeticona; trisiloxano; dimeticona; dimeticona	3
Ácido ascórbico	0,05
Fenoxietanol	0,5
Clorfenesina	0,2
Polietileno; PTFE	0,5
Polisorbato 20; Retinol	0,23
Hidróxido de sodio	0,04

La composición 5 se preparó como sigue. Se eliminó el polisorbato 20; retinol procedente de cámaras frigoríficas. Se coloca en el horno a 50°C hasta que se derrita. Premezcla de ácido ascórbico: ácido ascórbico mezclado con un 2 % de agua y ajustado a pH ~5. Reserve para agregar después a menos de 40 °C. Fase principal: se agregó agua (-2 % para la premezcla de ácido ascórbico) y se comenzó a mezclar hasta que quede uniforme. A continuación, se añadió EDTA disódico. Se agregó acriloldimetiltaurato de sodio/polímero cruzado VP bajo mezcla alta. Asegúrese de que esté homogéneo/completamente hidratado antes de continuar. Comenzó a calentar hasta alcanzar los 73°C. Se agregaron glicerina y butilenglicol. Por encima de 65 °C se agregaron caprililglicol, clorfenesina, fenoxietanol e hialuronato de sodio. Fase oleosa: Isohexadecano añadido, éter estearílico PPG 15, tetraetilhexanoato de pentaeritritilo, dimeticona; Polímero cruzado de dimeticona, dimeticona; trisiloxano; dimeticona; Alcohol estearílico de dimeticona; Ceteareth-20 y alcohol cetearílico; Ceteareth-20. Se calienta hasta alcanzar los 73 °C objetivo mientras se mezcla. Se añadió BHT 5 minutos antes de la emulsificación. Emulsificación: Cuando la fase principal y la fase oleosa estaban a ~ 73 °C, se añadió lentamente la fase oleosa a la fase acuosa. Se mezcló durante 10-15 minutos y luego se añadió poliacrilamida; Laureth-7; C13-14 isoparafina. Homogeneizado (Silverson, 4000 RPM) durante 1 min. Comenzó a enfriar bajo mezcla de accesorios. Adiciones posteriores: A 40 °C o menos, se agregó polietileno; PTFE y Premezcla 1 (Ácido Ascórbico). pH medido y ajustado al pH objetivo de 6,5 - 6,8. Bajo luz amarilla y gas argón, se añadió retinol a 50 °C y se mezcló bien durante 10-15 min. Se deja enfriar a 30-35°C.

Las Composiciones 6 y 7 se prepararon de la misma manera que la Composición 5, excepto que se añadió 2,5 % en peso o 5 % en peso, respectivamente, de la solución al 5 % de extracto de *Pichia anomala* descrita en el Ejemplo 1 después de la premezcla de ácido ascórbico, y la cantidad de QS ajustado a agua.

La producción de AH se determinó mediante inmunohistología de la siguiente manera. Se obtuvieron muestras de piel abdominal de adultos humanos sometidos a cirugía de abdominoplastia. Se obtuvo el consentimiento informado de cada paciente y todos los pasos experimentales fueron aprobados por una junta de revisión institucional (IRB) de 15 personas. Se eliminó cuidadosamente la grasa subcutánea y se prepararon biopsias de piel de 0,93 cm² en condiciones estériles y se aclimataron en medio de cultivo DMEM/F12 (1:1) (Thermofisher Scientific, Bridgewater, Nueva Jersey, número de catálogo 11320082), con suero bovino fetal inactivado por calor al 2 %. (Thermofisher Scientific, Bridgewater, NJ, catálogo n.º A3840202), 10 µg/ml de insulina (Sigma Aldrich, Allentown, PA, catálogo n.º I0516-5ML), 10 ng/mL de hidrocortisona (Sigma Aldrich, Allentown, PA, catálogo n.º H 0135), 10 ng/mL de EGF (Sigma Aldrich, Allentown, PA, n.º de catálogo 11376454001), 1x ABAM (Thermofisher Scientific, Bridgewater, Nueva Jersey, n.º de catálogo 15240062), en una atmósfera humidificada con 5 % de CO₂ durante la noche.

Los explantes se trataron tópicamente con 4 µl de la composición de prueba diariamente durante 5 días. Se utilizó como control una muestra de explante no tratado. El día 6 se recogieron los tejidos. Los tejidos recolectados se fijaron en formalina tamponada durante 24 horas. Después de la fijación, las muestras se deshidrataron y se impregnaron en parafina utilizando un deshidratador automático Leica TP 1020 (Leica Biosystems, Buffalo Grove, IL). Las muestras se

incluyeron utilizando una estación de inclusión Leica EG 1160 (Leica Biosystems). Se realizaron secciones de 5 µm de espesor utilizando un microtomo tipo Minot Leica RM 2125 (Leica Biosystems), y las secciones se montaron en portaobjetos de vidrio histológico vendidos con el nombre comercial SUPERFROST. Las observaciones microscópicas se realizaron utilizando un microscopio Leica DMLB (Leica Biosystems) u Olympus BX43 (Olympus Corporation, Japón). Las fotografías se digitalizaron con una cámara numérica Olympus DP72 con software de almacenamiento CellID (Olympus Corporation, Japón). La tinción de ácido hialurónico se realizó en secciones parafinadas utilizando HABP biotinilado (AMS Biotechnology Limited, Abingdon, Reino Unido, código de producto AMS.HKD.BC41) diluido 1:100 en PBS-BSA al 0,3 % durante 1 hora a temperatura ambiente y mejorado con un sistema estreptavidina/biotina y se reveló usando un sustrato de peroxidasa vendido bajo la marca comercial Vector VIP (Vector Laboratories, Burlingame CA, N° catálogo SK-4600). La tinción se evaluó mediante observación microscópica.

Los resultados se muestran en la Tabla 4.

TABLA 4

Composición	Aumento en HABP	% de aumento sobre sin tratar
Sin tratar	31,425	
Composición 5 (0,1 % en peso de retinol)	44,775	42,48
Composición 2 (0,13 % en peso de extracto de <i>Pichia anomala</i>)	44,28	40,90
Composición 6 (0,1 % Retinol+ 0,065 % en peso de extracto de <i>Pichia anomala</i>)	47,075	49,80
Composición 7 (0,1 % Retinol+ 0,13 % en peso de extracto de <i>Pichia anomala</i>)	54,175	72,39

Tratamiento de los explantes de tejido con las Composiciones 6 y 7 que contienen combinaciones de extracto de *Pichia anomala* y retinol según la invención proporcionada mayor producción de AH en comparación con la Composición 5 que contiene solo retinol o la Composición 2 que contiene solo extracto de *Pichia anomala*.

Además, la Composición 7 que contiene 0,1 % de retinol y 0,13 % en peso de extracto de *Pichia anomala* proporcionó un aumento porcentual en HABP con respecto a los no tratados de 72,39, mientras que la Composición 2 que contiene 0,13 % en peso de extracto de *Pichia anomala* proporcionó solo un aumento porcentual con respecto a los no tratados de 40,90 y la Composición 5 que contiene 0,1 % en peso de retinol proporcionó sólo un aumento porcentual con respecto a los no tratados de 42,48.

Ejemplo 3

Se midió la expresión génica para el factor de crecimiento epidérmico de unión a heparina (HBEGF), ácido hialurónico sintasa 2 (HAS 2) y CD44 para la composición 5 (0,1 % en peso de retinol), la solución al 5 % de extracto de *Pichia anomala* descrita en el Ejemplo 1, y aplicación combinada de la Composición 5 y la solución al 5 % de extracto de *Pichia anomala*.

Primero, se obtuvieron muestras de piel abdominal de adultos humanos sometidos a una cirugía de abdominoplastia. Se obtuvo el consentimiento informado de cada paciente y todos los pasos experimentales fueron aprobados por una junta de revisión institucional (IRB). Se eliminó cuidadosamente la grasa subcutánea y se prepararon biopsias de piel de 0,93 cm² en condiciones estériles y se aclimataron en medios de crecimiento de queratinocitos vendidos con el nombre comercial KGM-GOLD BULLETKIT (Lonza, Walkersville, MD), con 10 % de antibióticos en una atmósfera humidificada con 5 % de CO₂ durante la noche.

Los explantes de piel se trataron tópicamente con 4 µL de las diversas formulaciones y se dejaron incubar durante 48 horas. Se utilizó como control una muestra de explante no tratado. En el caso de la aplicación combinada de la Composición 5 y la solución al 5 % de extracto de *Pichia anomala*, se aplicaron 4 µL de cada una. Al final de las 48 h, se separaron la epidermis y la dermis mediante calentamiento. Cada uno de ellos se lisó en 400 µL de tampón de lisis, que constaba de 100 partes de tampón RLT (RNeasy Mini kit, Qiagen, Valencia, CA), por una parte de 2-mercaptoetanol dentro de un tubo reforzado con tapón de rosca y cierre de aro, y perlas de cerámica en el tubo para triturar tejido (vendido bajo el nombre comercial PRECELLYS CKMix50-R, Bertin Corp, Rockville, MD). Los tubos se agitaron durante 40 segundos a 6300 rpm. El ARN se extrajo de las soluciones utilizando el RNeasy Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA) según las instrucciones del fabricante y el ARN se eluyó en 25 µL de agua libre de ARNasa. La transcripción inversa (TI) se

realizó utilizando el kit de transcripción inversa de alta capacidad de Applied Biosystems (ThermoFisher Scientific, Bridgewater, Nueva Jersey).

Los ensayos de expresión génica se realizaron mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) cuantitativa en tiempo real basada en el método SyBR green. La qPCR se ejecutó en un sistema de PCR en tiempo real vendido con el nombre comercial CFX96 TOUCH (Bio-Rad Laboratories, Inc, Hercules, CA). La expresión de estos genes se normalizó frente a la expresión del gen constitutivo del ARN humano 18S. Se calcularon los cambios en comparación con los controles no tratados y se realizó la prueba estadística ANOVA.

Los resultados se muestran en las Tablas 5, 6 y 7.

TABLA 5

Expresión de HBEGF					
Formulaciones	Observadas	Prueba T	Observadas Normalizadas a sin tratar	Aditivo esperado	% de sinergia
Sin tratar	100				
Composición 5 (0,1 % de retinol)	391	0,011330802	291		
Solución al 5 % de extracto de <i>Pichia anomala</i>	77	0,308217589	0		
Composición 5 + Solución al 5 % de extracto de <i>Pichia anomala</i>	594	0,001658771	494	291	69,76

La aplicación de una combinación de retinol y extracto de *Pichia anomala* dio como resultado un aumento inesperado en la expresión de HBEGF (494) en comparación con la expresión de HBEGF resultante de retinol solo (291). Esto fue casi un aumento del 70 %.

TABLA 6

Expresión HAS 2					
Formulaciones	Observadas	Prueba T	Observadas Normalizadas a sin tratar	Aditivo esperado	% de sinergia
Sin tratar	100				
Composición 5 (0,1 % de retinol)	122	0,406565333	22		
Solución al 5 % de extracto de <i>Pichia anomala</i>	93	0,704495851	0		
Retinol al 0,1 % + Solución de extracto de <i>Pichia anomala</i> al 5 %	137	0,244891449	37	22	68,18

La aplicación de una combinación de retinol y extracto de *Pichia anomala* dio como resultado un aumento inesperado (casi un 70 %) en la estimulación de la expresión de HAS 2 (37) en comparación con el resultado aditivo esperado de retinol solo más extracto de *Pichia anomala* solo (22).

TABLA 7

Expresión CD44					
Formulaciones	Observadas	Prueba T	Observadas Normalizadas a sin tratar	Aditivo esperado	% de sinergia
Sin tratar	100				
Composición 5	120	0,407059542	20		
Solución al 5 % de extracto de <i>Pichia anomala</i>	90	0,397819867	0		
NTG RWR + Extracto de <i>Pichia anomala</i> al 5 %	165	0,11812913	65	20	225

La aplicación de una combinación de retinol y extracto de *Pichia anomala* dio como resultado una estimulación inesperada de la expresión de CD44 (65) en comparación con el resultado aditivo esperado de retinol solo más extracto de *Pichia anomala* solo (20). Este fue un aumento del 225 %.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición tópica que comprende un extracto de *Pichia anomala* y retinol; en la que la relación en peso del extracto de *Pichia anomala* con respecto al retinol en la composición es 1,3.
2. La composición tópica de la reivindicación 1, en la que el extracto de *Pichia anomala* se prepara a partir de una cepa de *Pichia anomala* presente en frutos u hojas de kiwi.
- 10 3. La composición tópica de la reivindicación 1, en la que el extracto de *Pichia anomala* se prepara a partir de una cepa de *Pichia anomala* presente en la caña de azúcar.
4. La composición tópica de cualquier reivindicación anterior que comprende además al menos 10 % en peso de glicerina.
- 15 5. La composición tópica de cualquier reivindicación anterior que tiene un pH de 6,5 o menos.
6. Un método para tratar un signo de envejecimiento de la piel, que comprende aplicar tópicamente a la piel que necesita tratamiento para el envejecimiento de la piel una composición tópica que comprende un extracto de *Pichia anomala* y retinol; en el que la relación en peso del extracto de *Pichia anomala* con respecto al retinol en la composición es 1,3.
- 20 7. Un método para mejorar la función de barrera de la piel y la humectación, que comprende aplicar tópicamente a la piel que necesita mejorar la función de barrera de la piel y la humectación una composición tópica que comprende un extracto de *Pichia anomala* y retinol; en el que la relación en peso del extracto de *Pichia anomala* con respecto al retinol en la composición es 1,3.
- 25 8. Un método para aumentar la cantidad de ácido hialurónico producido por la piel cuando se pone en contacto con un extracto de *Pichia anomala*, que comprende poner en contacto la piel con el extracto en combinación con retinol; en el que la relación en peso del extracto de *Pichia anomala* con respecto al retinol en la composición es 1,3.

30

35

40

45

50

55

60

65