

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 383 448**

51 Int. Cl.:
A61K 8/97 (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01)
A61Q 17/00 (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **06755449 .3**
96 Fecha de presentación: **21.04.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1871332**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **02.01.2008**

54 Título: **Composición cosmética para luchar contra las consecuencias cutáneas de la polución**

30 Prioridad:
22.04.2005 FR 0551037

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
21.06.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
21.06.2012

73 Titular/es:
**LABORATOIRES CLARINS
4, RUE BERTEAUX-DUMAS
92200 NEUILLY SUR SEINE, FR**

72 Inventor/es:
COURTIN, Olivier

74 Agente/Representante:
de Elzaburu Márquez, Alberto

ES 2 383 448 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composición cosmética para luchar contra las consecuencias cutáneas de la polución

La presente invención se refiere a una nueva composición cosmética capaz de luchar y de prevenir los efectos de la contaminación atmosférica sobre la piel que contiene dos extractos vegetales: *Camellia sinensis* y *Lampsana communis*.

La piel, de una superficie de 2 m² aproximadamente, es el órgano más grande del organismo. Indispensable para la vida, verdadera interfaz entre el cuerpo y el medio ambiente, es una barrera interactiva. Posee grandes capacidades de adaptación o de reacciones frente a las agresiones. Es también un lugar privilegiado de absorción de los agentes contaminantes del medio ambiente, con paso de sustancias que pueden tener un efecto tóxico cutáneo directo.

El aire puro es una mezcla de 78% de nitrógeno, 21% de oxígeno, 0,09% de argón, 0,1% de vapor de agua y de otros gases más o menos raros de los cuales el gas carbónico, el hidrógeno, el ozono. La contaminación atmosférica se define por la modificación del aire puro, por modificación de sus componentes, o por adición de elementos nocivos. Muy esquemáticamente, es posible considerar que los agentes contaminantes actualmente referenciados son esencialmente producidos por la industria, la calefacción y la circulación de automóviles. Es habitual clasificarlos en siete familias químicas:

- los agentes oxidantes tales como el ozono o los óxidos de nitrógeno son irritantes y generadores de radicales libres.
- el polvo con partículas en suspensión que fija a veces hidrocarburos policíclicos. Su papel nocivo se modifica por la temperatura y el grado de humedad del aire, las partículas ácidas son irritantes; se observa una reducción de la hidratación y la oxigenación de los tejidos.
- los productos químicos orgánicos son cancerígenos, proceden de los residuos de la industria y de la combustión de los automóviles.
- el monóxido de carbono implica una hipoxia de los tejidos orgánicos, procede en el 80% de los automóviles.
- los hidrocarburos y los disolventes representan un 50% de la contaminación del automóvil, son tóxicos, irritantes, cancerígenos y mutágenos. En presencia de luz, reaccionan con los óxidos de nitrógeno y producen ozono.
- el dióxido de azufre es uno de los productos de la combustión del gasóleo y del carbón, provoca una alteración de película hidrolipídica e irritaciones.
- los metales tales como el plomo, el zinc, el aluminio, el mercurio,... pueden interferir con el metabolismo celular, alcanzado por las reacciones enzimáticas. Participan en los daños oxidativos con lesiones del ADN y de los lípidos celulares.

Para todos estos agentes contaminantes, los riesgos varían según su concentración, la duración de la exposición, sus asociaciones, pero sobre todo de la predisposición del sujeto. Presentan entre sí una sinergia de acción.

Los efectos de la contaminación sobre la piel son variados: se observan acidificación del pH cutáneo, una reducción de la hidratación con aumento de la pérdida transepidérmica en agua, un aumento de la descamación, una disminución de la elasticidad córnea, una modificación de los lípidos de superficie por acción de los radicales libres, una reducción del metabolismo energético celular. La repetición de estas agresiones inicia un proceso inflamatorio y predispone a las reacciones de intolerancia.

Así una composición cosmética capaz de luchar y prevenir los efectos de la contaminación atmosférica sobre la piel debe poder luchar contra estos distintos fenómenos.

La solicitud de patente internacional nº 98/44905 describe composiciones cosméticas que contienen un extracto de *Lampsana communis* que posee propiedades protectoras de la piel contra los radicales libres.

La solicitud de patente francesa nº 2842102 describe la utilización del extracto de té blanco (*Camellia sinensis*) de la variedad Paï Mu Tan en composiciones cosméticas a causa de sus propiedades anti-radicales y antioxidantes.

La solicitud de patente de EE.UU. nº 2004/175351 describe la utilización de los extractos de té blanco contra los procesos oxidativos responsables de envejecimiento de la piel.

La solicitud de patente europea nº 1250930 revela mezclas de extractos vegetales como activadores de la síntesis del ATP.

Los trabajos de la firma solicitante permitieron poner en evidencia que la asociación de dos extractos vegetales de *Camellia sinensis* y *Lampsana communis* presentaba un efecto protector de los efectos de la contaminación a nivel

cutáneo.

5 La invención se refiere, por lo tanto, muy especialmente, a la utilización de una composición que contiene un extracto de *Camellia sinensis* y de *Lampsana communis*, para aumentar la velocidad de síntesis de ATP basal y mitocondrial de las células de la piel, conteniendo dicha composición de 0,025 a 5% en peso de extracto de *Camellia sinensis* y de extracto de *Lampsana communis*.

La *Camellia sinensis* denominada también té blanco es originario del sudeste asiático, la variedad utilizada en la composición según la invención es el Pai Mu Tan. Pertenece a la familia de los teáceos en el mismo título que el té verde o el té negro. Se distingue de estas otras calidades por su preparación que se limita a operaciones minimalistas que le permite así conservar su alto contenido en polifenoles.

10 El extracto de *Camellia sinensis* utilizado en la composición según la invención se obtiene por extracción hidroglicólica de las hojas de té blanco. Se obtiene así una solución translúcida de color naranja oscuro y de olor característico. Esta solución se titula en polifenoles totales y en OPC (oligómeros proantocianídicos); presenta las siguientes características analíticas:

- extracto seco 2 a 4%
- 15 - pH 5,3 a 7,3
- dosificación de los polifenoles totales: > 5 g/l equivalente ácido gálico
- dosificación de los OPC: 2,5 g/l equivalente catequina.

20 La *Lampsana communis*, de la familia de las asteráceas, es una planta anual muy extendida, que crece en el borde de las carreteras y otros lugares sometidos a la contaminación atmosférica. Es una planta no exigente y muy resistente.

El extracto de *Lampsana communis* utilizado en la composición según la invención se obtiene por extracción hidroglicólica de la parte aérea de la planta. Se obtiene así un líquido límpido de color marrón de olor característico que presenta las siguientes características analíticas:

- contenido en agua: 18 a 26%
- 25 - pH: 6 a 8
- densidad: 1,055 a 1,075
- índice de refracción: 1,420 a 1,440

30 Las composiciones utilizadas según la invención pueden también comprender uno o varios agentes de formulación o aditivos de uso conocido y clásico en las composiciones cosméticas y dermatológicas tales como, a título de ejemplos y de manera no limitativa, los suavizantes, los colorantes, los activos filmógenos, los tensioactivos, los perfumes, los conservantes, los emulsificantes, los aceites, los glicoles, las vitaminas tal como la vitamina E, los filtros UV, etc. Gracias a estos conocimientos en cuanto a cosmética, el experto en la técnica sabrá qué agentes de formulación añadir a las composiciones de la invención y en qué cantidades en función de las propiedades buscadas.

35 Las composiciones utilizadas según la invención se pueden presentar bajo cualquier forma conocida por el experto en la técnica en el ámbito de la cosmetología y de la dermatología sin otra restricción galénica que la aplicación sobre la cara y sobre el cuerpo. De manera ventajosa, las composiciones según la invención se presentan bajo la forma de un gel, de una loción, de una crema, de una emulsión, de una leche, de un pulverizador, etc.

40 Los siguientes ejemplos son dados con carácter ilustrativo y no podrían ser interpretados como limitantes del alcance de la invención. Se refieren, por una parte, a la evaluación del efecto antiradical del complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis* frente a los queratinocitos humanos en cultivos así como la evaluación del efecto de este mismo complejo sobre el metabolismo energético, y por otra parte, de los ejemplos de composiciones objetos de la presente invención.

Los ejemplos hacen referencias a las figuras siguientes en las cuales:

- 45 - la figura 1 representa los efectos del complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis* (complejo CLALAMP) sobre la reversibilidad del efecto citotóxico de los gases del tubo de escape frente a los queratinocitos en cultivos. El complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis* se ensayó a 0,01%, 0,025% y 0,05%,
- 50 - la figura 2 representa los efectos antiradicales del complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis* (complejo CLALAMP ensayado a 0,01%, 0,025% y 0,05%) por medida del malondialdehído (MDA)

marcador de la lipoperoxidación sobre queratinocitos en cultivos previamente expuestos al gas del tubo de escape,

- 5 - la figura 3 representa el efecto del complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis* (complejo CLALAMP ensayado a 0,01%, 0,025% y 0,05%) sobre la velocidad de respiración de los queratinocitos en cultivos previamente expuestos al gas del tubo de escape. Los resultados se expresan en picoatoms de oxígeno por millón de células y por minuto,
 - 10 - la figura 4 representa el efecto del complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis* (complejo CLALAMP ensayado a 0,01%, 0,025% y 0,05%) sobre la velocidad de respiración mitocondrial en presencia de piruvato-malato sobre queratinocitos en cultivos previamente expuestos al gas del tubo de escape. Los resultados se expresan en picoatoms de oxígeno por millón de células y por minuto,
 - 15 - la figura 5 representa el efecto del complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis* (complejo CLALAMP ensayado a 0,01%, 0,025% y 0,05%) sobre la síntesis de ATP basal celular de queratinocitos en cultivos previamente expuestos al gas del tubo de escape. Los resultados se expresan en nmoles por millón de células y por minuto,
 - 20 - la figura 6 representa el efecto del complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis* (complejo CLALAMP ensayado a 0,01%, 0,025% y 0,05%) sobre la velocidad de síntesis de ATP mitocondrial celular de queratinocitos en cultivos previamente expuestos al gas del tubo de escape. Los resultados se expresan en nmoles por millón de células y por minuto.
- I. EVALUACIÓN del EFECTO ANTI RADICAL el COMPLEJO *Camellia sinensis* y *Lampsana communis* FRENTE A LOS QUERATINOCITOS HUMANOS EN CULTIVOS.

A. Material y métodos.

1. Material.

25 Los cultivos de queratinocitos se establecen a partir de piel de prepucios humanos recogidos durante circuncisiones y se amplían en el medio KGM2 (Clonetics) suplementado por la insulina, el EGF y del extracto pituitario. Los ensayos se han realizado sobre queratinocitos entre el 2º y el 4º paso, con el fin de asegurar una reproductividad entre los diferentes experimentos.

Los gases del tubo de escape fueron producidos por un motor. Los gases se pusieron en contacto con los queratinocitos humanos en cultivos durante 2 horas. Las células se incubaron más tarde con o sin el producto en estudio durante 22 horas suplementarias.

2. Estudio de la citotoxicidad.

35 Esta etapa fue realizada por el ensayo de reducción al azul de Formazan (MTT). Después de 24 horas de incubación de las células en presencia o en ausencia del producto en estudio a diferentes concentraciones, los pocillos que contienen las células se han vaciado por giro suave, luego se enjuagó el tapiz celular con el medio de cultivo. 200 µl de una solución de MTT diluida se han distribuido en todos los pocillos. Las placas se incubaron a continuación a 37°C durante 2 a 4 horas. Hay, entonces, formación de cristales de azul de Formazan, en cantidad contrariamente proporcional al alcance de sucinatos deshidrogenasas. Los pocillos, de nuevo, fueron vaciados por giro suave, se lisaron a continuación las células y los cristales de azul de Formazan disueltos, por adición de 200 µl de Dimetil sulfóxido (DMSO). Después de la homogeneización de la coloración, por agitación, las placas se leyeron a 570 nm con la ayuda de un espectrofotómetro.

40 El ensayo se condujo después de 24 horas de contacto del complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis* con las células.

Lote 1: testigo negativo que no recibe ningún producto

Lote 2: células expuestas al gas del tubo de escape

Lote 3: células expuestas al gas del tubo de escape luego tratadas con el complejo (0,01%)

45 Lote 4: células expuestas al gas del tubo de escape luego tratadas con el complejo (0,025%)

Lote 5: células expuestas al gas del tubo de escape luego tratadas con el complejo (0,05%)

3. Estudio de la actividad antiradical.

El ensayo se condujo triplicado después de 24 horas de contacto del complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis* con las células.

Constitución de los lotes

Lote 1: testigo negativo que no recibe ningún producto

Lote 2: células expuestas al gas del tubo de escape

Lote 3: células expuestas al gas del tubo de escape luego tratadas con el complejo (0,01%)

5 Lote 4: células expuestas al gas del tubo de escape luego tratadas con el complejo (0,025%)

Lote 5: células expuestas al gas del tubo de escape luego tratadas con el complejo (0,05%)

a) Extracción del malondialdehído (MDA).

Después de 24 horas de contacto del producto con las células, estos últimos se volvieron a poner en suspensión en:
- 250 µl de tampón Tris 50 mM, pH8 que contiene NaCl 0,1M; EDTA 20 mM.

10 - 25 µl de SDS a 7%

- 300 µl de HCl (0,1 N)

- 38 µl de ácido fosfotungstico al 1% en agua

- 300 µl de ácido tiobarbitúrico a 0,67% en agua

15 Después de 1 hora de incubación en la oscuridad a 50°C y un enfriamiento en el agua congelada, se añadieron 300 ml n-butanol en cada tubo. Éstos se centrifugaron a 10000 g a 0°C durante 10 min. La fase superior fue recuperada para la dosificación de MDA.

b) Dosificación del malondialdehído (MDA).

El MDA fue dosificado por medida de la fluorescencia después de la separación del complejo MDA-TBA por HPLC.

- bomba Bischoff Model 2.200

20 - Inyector automático Alcohol Model 788 autosampler

- Columna Ultrasep C18 (30 cm x 0,18 cm) 6 mm de porosidad

- Detector de fluorescencia, jasco 821-FI

La detección de la fluorescencia se efectuó con una excitación a 515 nm y una emisión a 553 nm. El eluyente utilizado está compuesto por metanol: agua, 40: 60 (v/v) cuyo pH se ajustó con el de KOH 1 M.

25 La cuantificación se hizo con respecto a estándares tratados como las muestras (0,125; 0,25; 0,5 y 1 mM) con la ayuda de un programa informático ICS (Pico 3) (Instrumentation, Consumable Service).

B. RESULTADOS.

1. Estudio de la citotoxicidad.

30 El objetivo de esta etapa era buscar la reversibilidad del efecto citotóxico de los gases del tubo de escape después del tratamiento por el complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis* frente a los queratinocitos humanos en cultivos. Este estudio fue realizado por la determinación de la viabilidad celular utilizando el ensayo de MTT.

35 El complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis* incubado respectivamente a las concentraciones de 0,025 y 0,05% con los queratinocitos ha inducido un efecto significativo sobre la reversibilidad de la citotoxicidad inducida por los gases del tubo de escape. Esta inhibición de la citotoxicidad se traduce en un aumento de la viabilidad celular respectivamente de 16 y 27% (Figura 1).

2. Estudio de la actividad antiradical.

40 Los resultados obtenidos muestran una protección significativa del complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis* (ensayado respectivamente a las concentraciones de 0,01, 0,025 y 0,05%) frente a la lipoperoxidación provocada por los gases del tubo de escape. El porcentaje de reducción de la producción de MDA es respectivamente de -17, -27 y - 34% (Figura 2).

3. Conclusiones.

En las condiciones experimentales elegidas, el complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis* aparece presentar un efecto sobre la reversibilidad de la citotoxicidad y de la actividad pro radical inducida por los gases del tubo de escape a nivel de los queratinocitos humanos en cultivos después de 24 horas de contacto.

5 En efecto, las dosificaciones del MDA ponen de manifiesto que el complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis* estudiado a las concentraciones de 0,01; 0,025 y 0,05% indujeron una protección significativa de los queratinocitos humanos contra el lipoperoxidación provocada por los gases del tubo de escape. El porcentaje de reducción de la producción de MDA es de - 17,-27 y -34%.

En conclusión, el complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis* presenta un efecto antiradical significativo frente a los radicales libres inducidos por los gases del tubo de escape.

10 **II. EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL COMPLEJO *Camellia sinensis* y *Lampsana communis* SOBRE EL METABOLISMO ENERGÉTICO.**

A. material y métodos.

1. Material.

15 Las cultivos de queratinocitos se establecen a partir de piel de prepucios humanos recogidos durante circuncisiones y se amplían en el medio KGM2 (Clonetics) suplementado por la insulina, el EGF y del extracto pituitario. Los ensayos se han realizado sobre queratinocitos entre el 2º y el 4º paso, con el fin de asegurar una reproductividad entre los diferentes experimentos.

Los gases del tubo de escape fueron producidos por un motor. Las células se pusieron EN contacto con los gases durante 2 horas. A continuación se incubaron con o sin el producto en estudio durante 22 horas suplementarias.

20 **2. Estudio del efecto del complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis* sobre la velocidad de respiración (consumo de oxígeno en picoatoms de oxígeno por millón de células y por minuto).**

Este ensayo se realizó según 2 condiciones diferentes:

- efecto sobre la velocidad de respiración basal celular a nivel de las células no permeabilizadas y en presencia de glucosa,
- 25 - efecto sobre la velocidad de la respiración mitocondrial de las células permeabilizadas en presencia del substrato respiratorio, piruvato-malato.

30 Este estudio se realizó sobre queratinocitos en cultivos disociados a la tripsina. 5 a 10 millones de los queratinocitos en cultivos se han puesto en suspensión en 1 ml del medio HBSS a 30°C que contiene bien sea glucosa (respiración basal) o bien piruvato-malato (respiración mitocondrial). Se expresó y se siguió la respiración en tiempo real y se expresa en picoatoms de oxígeno consumidos por minutos y por 10⁶ células. La adición de diferentes cantidades de producto en la cuba del oxígrafo pone en evidencia un eventual estímulo o inhibición de la respiración.

35 La cantidad de oxígeno disuelto en un medio de incubación se determinó con la ayuda de un electrodo de Clark. El oxígeno que difunde a través de una película de teflón se reduce a nivel del cátodo de platino polarizado a - 0,8 Voltio. En estas condiciones, la corriente que pasa entre este cátodo y el ánodo de plata es proporcional a la concentración en oxígeno en la solución. El puente iónico está asegurado por una solución de KCl semi-saturada. La adquisición y el tratamiento de las medidas se hacen en un microordenador.

Constitución de los lotes:

Lote 1: testigo negativo que no recibe ningún producto

Lote 2: células expuestas al gas del tubo de escape

40 Lote 3: células expuestas al gas del tubo de escape luego tratadas con el complejo (0,01%)

Lote 4: células expuestas al gas del tubo de escape luego tratadas con el complejo (0,025%)

Lote 5: células expuestas al gas del tubo de escape luego tratadas con el complejo (0,05%)

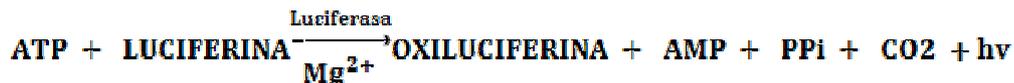
El ensayo se realizó después de 20 minutos de contacto del producto el complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis* con las células.

45 **3. Estudio del efecto del producto sobre la síntesis de ATP basal y mitocondrial de los queratinocitos en cultivos.**

El objetivo de este estudio es evaluar el efecto del complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis* sobre la

velocidad de la síntesis de ATP basal y mitocondrial de los queratinocitos en cultivos. Esta determinación se realiza por bioluminiscencia con la ayuda del kit luciferina/luciferasa.

La cantidad de ATP basal y recientemente sintetizada en los diferentes alícuotas se mide a través de la luz emitida durante la reacción de consumo de ATP siguiente:



5 La intensidad de esta luz emitida durante esta reacción se mide con la ayuda de un aparato de tipo Luminoscan que utiliza el ATP monitoring reagent (ATP Bioluminescence Assay Kit HS II) de Boehringer Mannheim. Este aparato transcribe la luz emitida durante la reacción en RLU (unidad relativa de luminosidad). Las RLU medidas se convierten en moles de ATP refiriéndose a una gama patrón de ATP.

10 La velocidad de síntesis de ATP se expresa en nmoles/min/10⁶ células.

Se cultivaron algunas queratinocitos en cultivos, en estufa de CO², a razón de 10⁶ por run en un medio de cultivo ADM (Clonetics).

15 El tratamiento consiste en aplicar de manera directa el complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis* a la concentración deseada sobre las células en suspensión en la cuba del oxígrafo. Las células a la concentración de 10⁶ células/ml se ponen en suspensión en un "tampón respiratorio" (Hanks-Hepes glucose 20 mM), en la cuba del oxígrafo termoregulado a 30°C y se agita. Las células se permeabilizan con la ayuda de digitonina. La adición de un sustrato respiratorio (piruvato 10 mM et malato 10 mM) permite observar una velocidad de consumo de oxígeno (estado 2 según Chance). Después de la adición de diferentes cantidades del producto (concentraciones finales: 0,01; 0,025 y 0,05%) en la cuba del oxígrafo y a intervalos regulares, se toma un alícuota en la cuba del oxígrafo para dosificar el ATP según el método descrito más arriba. La adición de diferentes cantidades del producto en la cuba del oxígrafo permite así poner en evidencia una eventual activación o inhibición de la síntesis de ATP.

20

Constitución de los lotes:

Lote 1: testigo negativo que no recibe ningún producto

Lote 2: células expuestas al gas del tubo de escape

25 Lote 3: células expuestas al gas del tubo de escape luego tratadas con el complejo (0,01%)

Lote 4: células expuestas al gas del tubo de escape luego tratadas con el complejo (0,025%)

Lote 5: células expuestas al gas del tubo de escape luego tratadas con el complejo (0,05%)

B. RESULTADOS.

30 **1. Estudio del efecto del complejo a diferentes dosis sobre la velocidad de respiración (consumo de oxígeno) de los queratinocitos en cultivos.**

Este ensayo se realizó según 2 condiciones experimentales diferentes. Los resultados se expresan en picoatoms de oxígeno por millón de células y por minuto.

35 El complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis*, incubado respectivamente a las concentraciones de 0,01, 0,025 y 0,05% con los queratinocitos previamente expuestos a los gases del tubo de escape, indujeron un efecto significativo, sobre la velocidad de consumo de oxígeno a las concentraciones estudiadas. Esta estimulación de la respiración basal se traduce por un aumento sensible de la velocidad de consumo de oxígeno respectivamente de 14, 24 y 34% (Figura 3).

2. Efecto del complejo sobre la velocidad de la respiración mitocondrial.

Este ensayo se realizó sobre las células permeabilizadas en presencia del sustrato respiratorio, piruvato-malato.

40 El complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis*, incubado a las diferentes concentraciones con los queratinocitos previamente expuestos a los gases del tubo de escape, ha inducido un efecto significativo, sobre la velocidad de consumo de oxígeno a las concentraciones de 0,025 y 0,05%. Esta estimulación de la respiración mitocondrial se traduce en un aumento sensible de la velocidad de consumo de oxígeno respectivamente de 19 y 24% (Figura 4).

45 **3. Efecto del complejo a diferentes dosis sobre la síntesis de ATP basal y mitocondrial de los queratinocitos en cultivos.**

Este ensayo se realizó según 2 condiciones experimentales diferentes. Los resultados se expresan en nmoles por

minuto y por millón de células.

a) Efecto sobre la síntesis de ATP basal celular.

Este ensayo se efectuó sobre células enteras no permeabilizadas en presencia de glucosa.

5 El complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis*, incubado a las diferentes concentraciones con los queratinocitos previamente expuestos a los gases del tubo de escape, ha inducido un efecto significativo sobre la velocidad de síntesis de ATP basal a las concentraciones de 0,025 y 0,05%. La velocidad de síntesis de ATP basal aumenta en efecto respectivamente 23 y 29% (Figura 5).

b) Efecto sobre la velocidad de síntesis de ATP mitocondrial celular.

Este ensayo se efectuó sobre células enteras permeabilizadas en presencia del piruvato-malato.

10 El complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis*, incubado a las diferentes concentraciones con los queratinocitos previamente expuestos a los gases del tubo de escape, ha inducido un efecto significativo sobre la velocidad de síntesis mitocondrial de ATP a las concentraciones de 0,025 y 0,05%. La velocidad de síntesis de ATP mitocondrial aumenta en efecto respectivamente de 19 y 29% (Figura 6).

III. CONCLUSIONES SOBRE LOS RESULTADOS OBTENIDOS.

15 En las condiciones experimentales, habida cuenta los resultados obtenidos el complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis* ha inducido un efecto:

- significativo sobre la reversibilidad de la citotoxicidad inducida por los gases del tubo de escape que es respectivamente de 16 y 27% para concentraciones de complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis* de 0,025 y 0,05% (Figura 1),
- 20 - significativo sobre la velocidad de la respiración basal que es respectivamente 24 y 34% para concentraciones de complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis* de 0,025 y 0,05% (Figura 3),
- significativo sobre la velocidad de la respiración mitocondrial que es respectivamente de 19 y 24% para concentraciones de complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis* de 0,025 y 0,05% (Figura 4),
- 25 - significativo sobre la velocidad de síntesis de ATP basal que es respectivamente 23 y 29% para concentraciones de complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis* de 0,025 y 0,05% (Figura 5),
- significativo sobre la velocidad de síntesis de ATP mitocondrial que es respectivamente de 19 y 29% para concentraciones de complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis* de 0,025 y 0,05% (Figura 6).

Se tendrá en cuenta, que de manera sorprendente, el complejo *Camellia sinensis* y *Lampsana communis* es activo a concentraciones muy bajas, señal de la sinergia entre los dos extractos.

30 **IV. EJEMPLOS DE COMPOSICIONES UTILIZABLE SEGÚN LA INVENCION.**

A. GEL CREMA ANTICONTAMINACIÓN	
AGUA DESMINERALIZADA c.s.p.	100
PEMULEN TR1	0,5
GLICERINA	5,0
SEPIGEL 305	1,0
EXTRACTO de <i>Camellia sinensis</i>	0,05
EXTRACTO de <i>Lampsana communis</i>	0,05
ISONONIL ISONONANOATO	7,0
C12 - C15 ALKIL BENZOATO	3,0
ACEITE DE SILICONA	2,0
HIDRÓXIDO DE SODIO	0,2
PERFUME	0,3

COLORANTES A 1%	0,12
CONSERVANTES	1,0
B. CREMA ANTICONTAMINACIÓN	
AGUA DESMINERALIZADA c.s.p.	100
CETEARIL GLUCÓSIDO	5,0
TRIGLICÉRIDOS C8-C10	10
ACEITE DE SILICONA	2,0
SILICONA VOLÁTIL	5,0
CARBÓMERO	0,2
GLICERINA	5,0
EXTRACTO de <i>Camellia sinensis</i>	0,05
EXTRACTO de <i>Lampsana communis</i>	0,05
PERFUME	0,3
CONSERVANTES	1,0

REIVINDICACIONES

- 5 1.- Utilización de una composición cosmética que contiene un extracto de *Camellia sinensis* y un extracto de *Lampsana communis* para aumentar la velocidad de síntesis de ATP basal y mitocondrial de las células de la piel, conteniendo dicha composición de 0,025 a 5% en peso de extracto de *Camellia sinensis* y de extracto de *Lampsana communis*.
- 2.- Utilización según la reivindicación 1, en la cual el extracto de *Camellia sinensis* es un extracto hidro-glicólico de hojas de esta planta.
- 3.- Utilización según la reivindicación 1 ó 2, en la cual el extracto de *Lampsana communis* es un extracto hidroglicólico de la parte aérea de esta planta.
- 10 4.- Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la cual la composición comprende, por otro lado, uno o varios agentes de formulación o aditivos tales como suavizantes, colorantes, agentes filmógenos, tensioactivos, perfumes, conservantes, emulsificantes, aceites, glicoles, vitaminas y filtros UV.

Figura 1

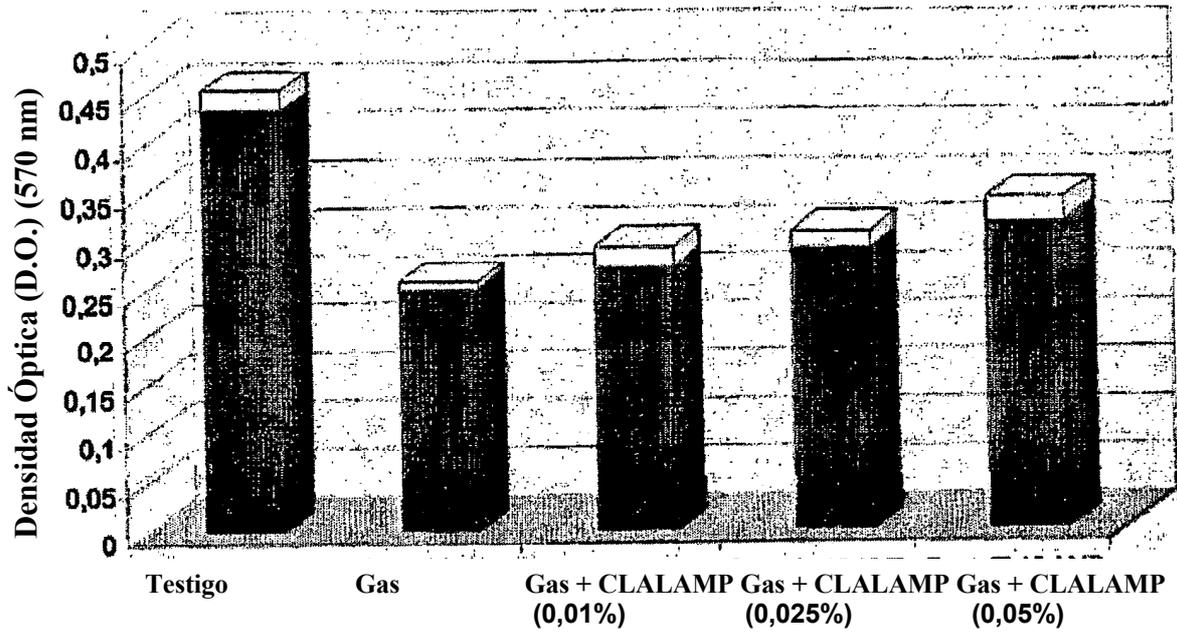


Figura 2

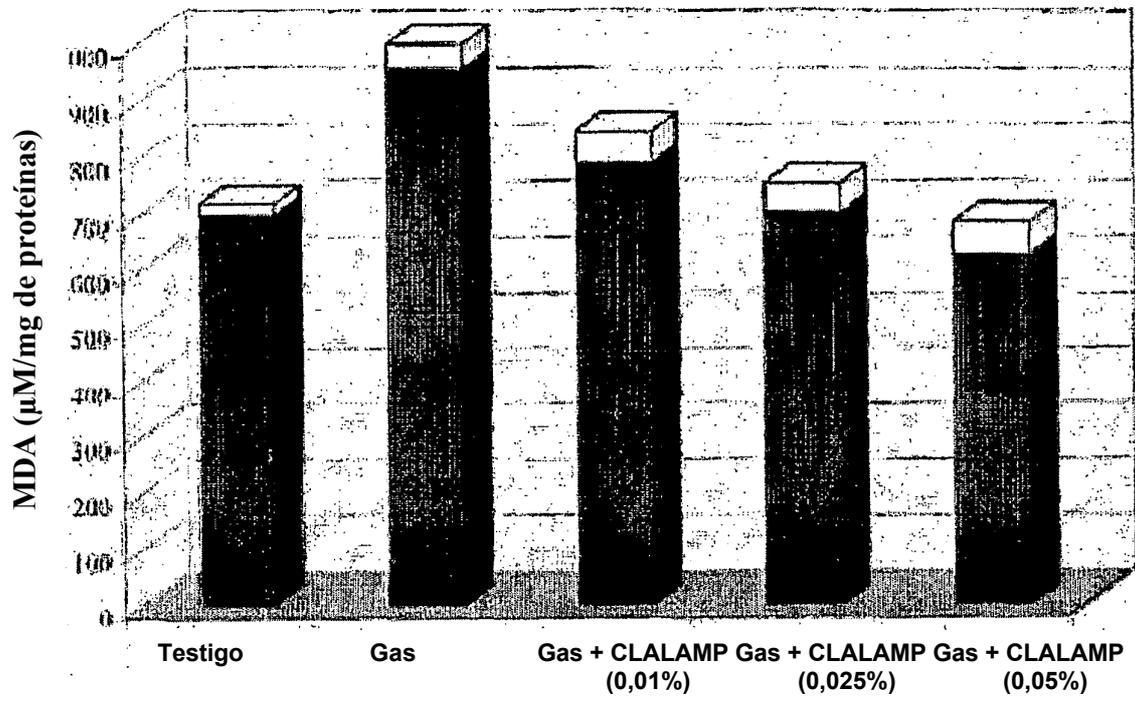


Figura 3

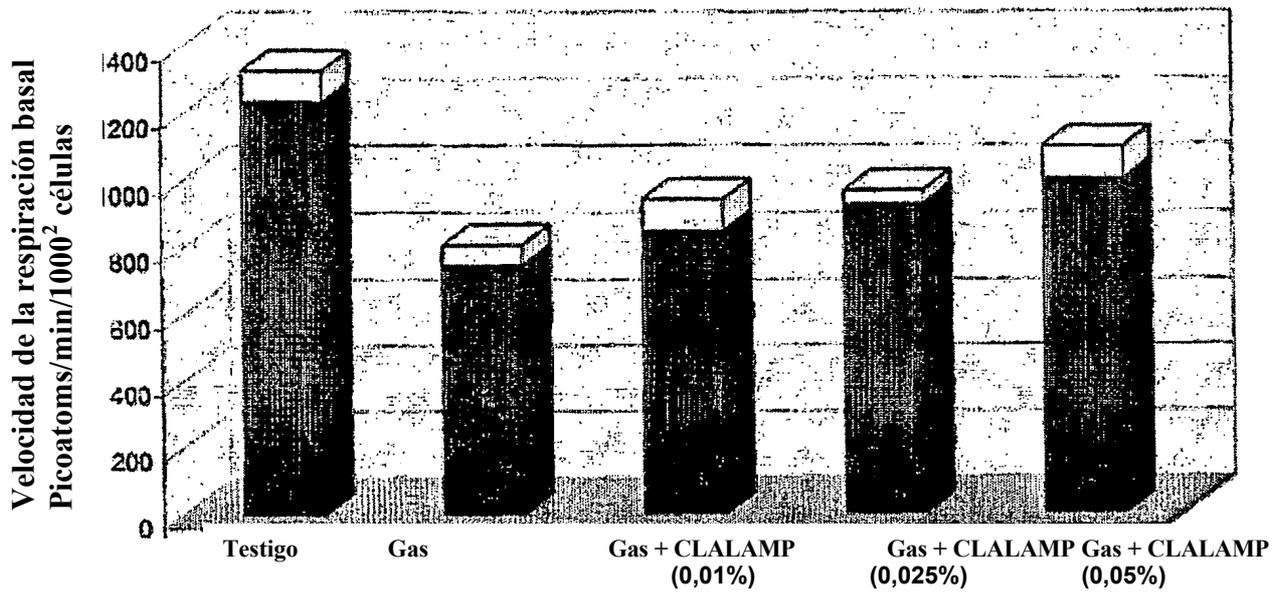


Figura 4

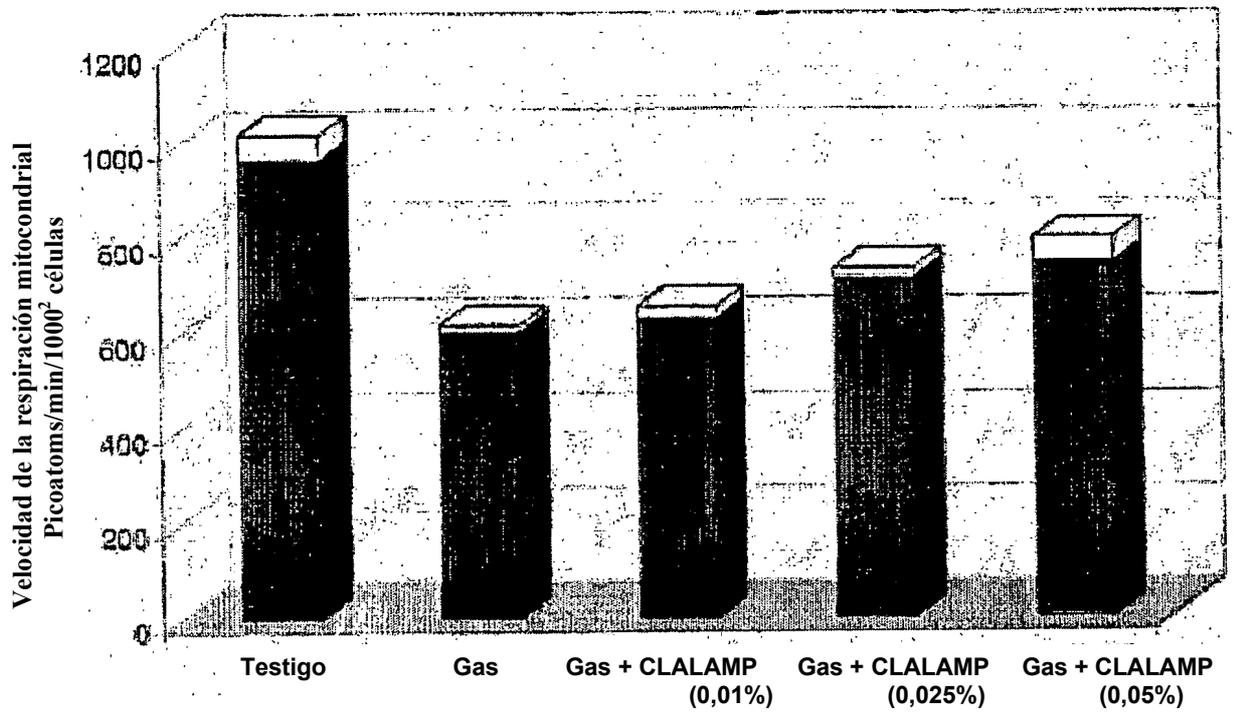


Figura 5

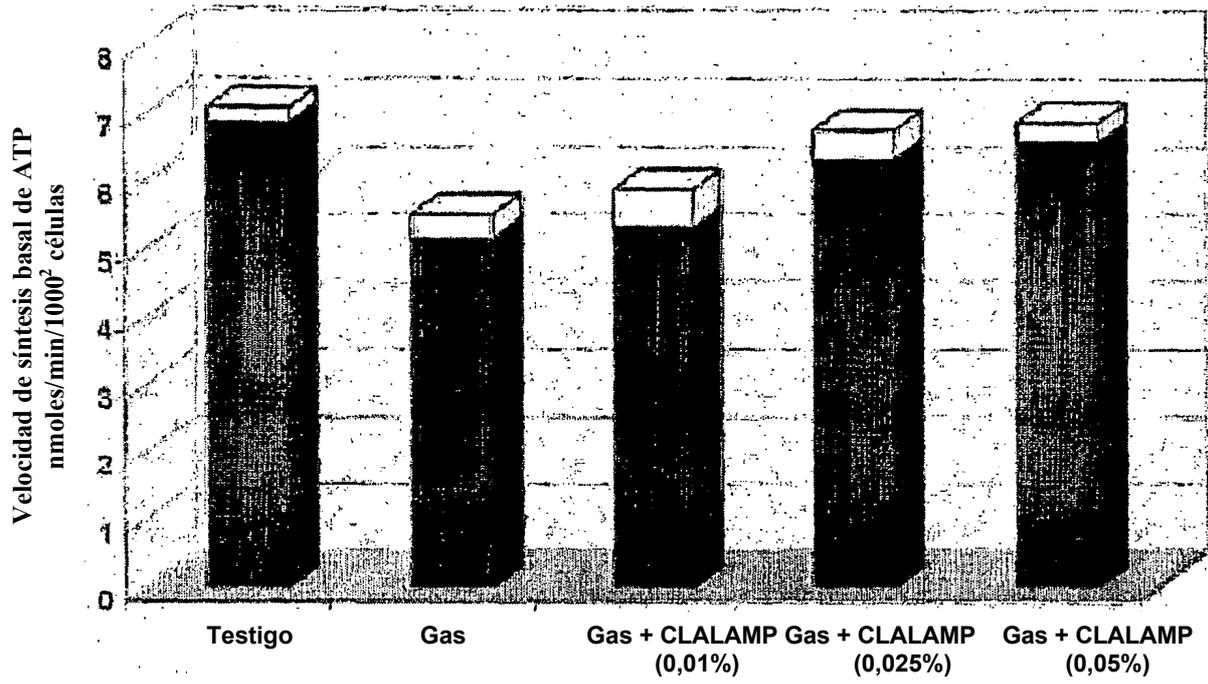


Figura 6

