

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 522 935**

51 Int. Cl.:

A61K 8/97 (2006.01)

A61K 36/82 (2006.01)

A61K 36/9068 (2006.01)

A61K 36/483 (2006.01)

A61K 31/728 (2006.01)

A61Q 19/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.01.2011 E 11700325 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.08.2014 EP 2521528**

54 Título: **Uso de al menos un extracto de flores de Camellia japonica alba plena para hidratar la piel**

30 Prioridad:

08.01.2010 US 293312 P

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

19.11.2014

73 Titular/es:

**CHANEL PARFUMS BEAUTÉ (100.0%)
135 Avenue Charles de Gaulle
92200 Neuilly-sur-Seine , FR**

72 Inventor/es:

**MAESTRO, YANNICK y
LASSERRE, CHRISTELLE**

74 Agente/Representante:

VEIGA SERRANO, Mikel

ES 2 522 935 T3

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

DESCRIPCIÓN

Uso de al menos un extracto de flores de *Camellia japonica* alba plena para hidratar la piel

5 **Sector de la técnica**

La presente invención se refiere a una composición cosmética que contiene un extracto de flores de *Camellia japonica* variedad alba plena, así como al uso cosmético de la misma para hidratar y/o proteger la piel humana contra la sequedad. También se refiere a un extracto de flores de *Camellia japonica* alba plena, caracterizado porque se puede obtener mediante su extracción de las flores por medio de al menos un disolvente alcohólico.

Estado de la técnica

La piel se compone de tres capas principales, en concreto, desde la superficie: la epidermis, la dermis y la hipodermis.

La epidermis consta, en particular, de queratinocitos (principalmente), melanocitos (implicados en la pigmentación cutánea) y células de Langerhans. Su función consiste en proteger el cuerpo contra el medio ambiente y garantizar su integridad y, en particular, bloquear la penetración de microorganismos o de sustancias químicas, y evitar la evaporación del agua contenida en la piel.

Para realizar dicha función, los queratinocitos se someten a un proceso continuo de maduración dirigida durante el cual los queratinocitos situados en la capa basal de la epidermis forman, en la etapa terminal de su diferenciación, los corneocitos, que son células muertas totalmente queratinizadas en forma de envolturas cornificadas constituidas por proteínas y lípidos tales como ceramidas. Durante dicho proceso de diferenciación, también se forman lípidos epidérmicos intercorneocitarios, y luego se organizan en forma de bicapas (láminas) en el estrato córneo. Participan, junto con las envolturas cornificadas anteriormente mencionadas, en la función de barrera de la epidermis.

Sin embargo, la función de barrera de la epidermis se puede alterar en ciertas condiciones climáticas (bajo la acción del frío y/o el viento, por ejemplo) o, en particular, como resultado del estrés o de la fatiga, promoviendo así la penetración de los alérgenos, irritantes o microorganismos que, por lo tanto, resecan la piel, y esto puede producir molestias tales como tirantez o enrojecimiento, así como afectar a la luminosidad y a la flexibilidad de la piel.

Para prevenir o corregir dicho fenómeno, se conoce la aplicación de composiciones cosméticas que contienen agentes higroscópicos tales como azúcares o polioles, en la piel, con la intención de atrapar el agua presente en la piel y, por lo tanto, impedir su evaporación. También existe el uso convencional de grasas para formar una película oclusiva sobre la piel, lo que ayuda a impedir la evaporación del agua. Además, dichas composiciones con frecuencia incorporan sustancias activas que actúan sobre una o más de las diversas dianas biológicas implicadas, bien en los procesos de regeneración de la piel, en particular, en la diferenciación de los queratinocitos, la síntesis de lípidos epidérmicos y la cohesión de los corneocitos, o en la síntesis endógena de constituyentes del factor hidratante natural (NMF) de la piel, en particular, en la síntesis de los proteoglicanos.

Los ejemplos de dichas sustancias activas son, en particular, los α - y β -hidroxiácidos, en concreto, el ácido láctico, ácido glucólico y ácido salicílico; la urea; o los compuestos aminosulfónicos.

No obstante, sigue existiendo la necesidad de nuevas sustancias activas cosméticas que sean más eficaces en contrarrestar la sequedad de la piel.

Por otra parte, teniendo en cuenta la demanda cada vez mayor por parte de los consumidores de productos naturales que contengan la menor cantidad posible de ingredientes sintéticos, y las regulaciones cada vez más estrictas que los compuestos de la industria química deben cumplir, sería deseable que dichos principios activos cosméticos fueran de origen vegetal.

Ahora, el solicitante ha sido capaz de demostrar que es posible contrarrestar la sequedad de la piel de manera eficaz usando un extracto botánico, en concreto, un extracto de flores de *Camellia japonica* alba plena.

De hecho, el solicitante ha demostrado que un extracto de flores de *Camellia japonica* alba plena, que según sus conocimientos, nunca se ha usado antes en cosmética, es capaz, tras su aplicación tópica sobre la piel, de estimular los biomarcadores HSP 27, HSP 32 y PPAR- β/δ simultáneamente.

Las proteínas de choque térmico (HSP), también denominadas proteínas de estrés, han sido descubiertas gradualmente, tras la exposición del principio HSP por el investigador Ritossa en 1962. Son herramientas biológicas muy antiguas que se han conservado durante la evolución de las especies.

Las HSP son grandes moléculas de tipo polipeptídico, con largas cadenas y estructuras complejas. Hay HSP de diversas masas (que se agrupan de acuerdo con su peso molecular, por ejemplo, HSP 27 (27 kDa), HSP 70

(70 kDa), etc.), y con diversas configuraciones espaciales, que determinan e influyen en la actividad de la proteína. Su papel se demuestra en la diferenciación de ciertos tipos de células, en la lucha contra las infecciones y las agresiones químicas o tóxicas, así como en la protección contra la hipoxia. Las HSP se denominan proteínas "chaperonas", que protegen a otras proteínas contra la desnaturalización térmica y la agregación. Por tanto, las proteínas contra el estrés pueden eliminar los radicales nocivos y, en particular, hacer posible el mantenimiento de las funciones celulares y restaurar las funciones metabólicas hasta los valores básicos. Por lo tanto, el papel de las HSP es el mantenimiento de la homeostasis de las proteínas, con el fin de preservar la integridad celular contra los agentes desnaturalizantes.

10 Las proteínas HSP 27 y HSP 32 se expresan en el estrato córneo de la epidermis humana.

Se observó que el nivel de expresión de HSP 27 se aumentó como consecuencia de diversos fenómenos de estrés, así como durante la diferenciación o la proliferación celular. La HSP 27 sirve como biomarcador, en concreto, durante la irritación de la piel (Boxman I1. *et al.* 2002, *Exp Dermatol*, 11 (6): 50917). Recientemente, se ha demostrado que la HSP 27 participa en el proceso de queratinización del estrato córneo y en la maduración de la filagrina (O'Shaughnessy *et al.*, *J Biol Chem*, 2007, 282: 17297-305). Por otra parte, se observó una reducción de la expresión del ARNm que codifica la HSP 27 durante el envejecimiento de la piel (US 2004/0142335).

La HSP 32 también se conoce como hemo oxigenasa-1. La hemo oxigenasa sirve para la degradación del hemo, un promotor de la peroxidación de los lípidos y de la formación de radicales libres. Se ha observado que la HSP 32 desempeña un papel importante en la reparación de los tejidos y en la diferenciación de los queratinocitos (Hanselmann *et al.* 2001, *Biochem J.*, 353, 459-466; Clark *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 241, 215-220). La HSP 32 es un biomarcador que se usa mucho por su función antioxidante esencial, para detectar los efectos de ciertas moléculas que participan en la protección de la piel contra los efectos dañinos (oxidación) de la radiación UV (FR 2787996, FR2813525).

Los PPAR (receptores activados por el proliferador de peroxisomas) son miembros de la superfamilia de los receptores nucleares. Dichos receptores participan en muchos procesos metabólicos y celulares. En la actualidad, se han identificado tres isoformas de los PPAR en numerosos vertebrados, y su distribución tisular diferencial refleja funciones específicas: PPAR- α (también denominado NR1C1), PPAR- β/δ (o NR1C2) y PPAR- γ (NR1C3). A través de su papel como regulador del metabolismo de los lípidos, la proliferación y la diferenciación de los queratinocitos, se sabe que el PPAR- β/δ regula la permeabilidad de la piel (Calleja *et al.*, 2006, *Genes Dev* 20, 1525- 1538).

Objeto de la invención

La presente invención se refiere a una composición cosmética que contiene, en un medio fisiológicamente aceptable, al menos un extracto de flores de *Camellia japonica* alba plena.

La presente invención también se refiere al uso cosmético de dicha composición para hidratar y/o proteger la piel humana contra la sequedad.

La presente invención también se refiere a un extracto de flores de *Camellia japonica* alba plena caracterizado porque dicho extracto se puede obtener mediante su extracción de las flores por medio de al menos un disolvente alcohólico.

El género *Camellia* es un género de plantas con flores de la familia *Theaceae*, que procede del este y el sudeste de Asia, desde el Himalaya hasta tierras tan remotas como Japón e Indonesia. En Japón y China, las flores de la camelia son reconocidas por sus propiedades antibacterianas, antioxidantes, hemostáticas, antiinflamatorias/calmanes, astringentes, gastro-protectoras y tónicas. Mezcladas con aceite de sésamo, se han usado en forma de pomadas en el tratamiento de quemaduras y en el tratamiento de hemorragias internas y externas, y de inflamaciones. Los botánicos otorgan diferentes números de especies al género, que varían entre 100 y 250 especies. Entre dichas especies, el solicitante estaba bastante interesado, en particular, por la *Camellia japonica*, que, a su vez, contiene una gran cantidad de variedades distintas tales como Dr. Tinsley, broceliande o fire falls. La presente invención se refiere específicamente a la variedad de *Camellia japonica* alba plena, que ha demostrado una mayor estimulación de la expresión de PPAR- β/δ y de HSP 27 que otras variedades de la misma especie. Dicho extracto vegetal se cosecha en el sudoeste de Francia.

El extracto de flores de *Camellia japonica* alba plena que se puede usar en la presente invención se puede obtener por extracción alcohólica mediante al menos un alcohol monohídrico tal como etanol, metanol o isopropanol y/o de al menos un glicol tal como propilenglicol o dipropilenglicol, opcionalmente mezclado con agua. La extracción se realiza en ausencia de cualquier otro disolvente que no sea agua o alcoholes. El disolvente usado de acuerdo con la invención es preferentemente etanol, por ejemplo, al 96 % (volumen/volumen).

En general, la extracción se puede realizar de las flores frescas o secas, opcionalmente trituradas. La extracción, generalmente, se realiza por inmersión o por agitación suave de las flores en uno o más de los disolventes mencionados anteriormente a temperaturas en el intervalo de, por ejemplo, la temperatura ambiente a 100 °C, y

ventajosamente, de 30 a 70 °C, durante un tiempo de aproximadamente 30 min a 12 h, y preferentemente de 1 a 8 horas. A continuación, preferentemente, se filtra la solución para eliminar las sustancias insolubles de la planta. Si procede, también se elimina el disolvente, en caso de ser un disolvente volátil tal como, por ejemplo, etanol, metanol o isopropanol.

5 La proporción de disolvente/sustancia (en volumen/peso) puede ser, por ejemplo, de entre 1:1 y 100:1, y preferentemente de entre 3:1 y 30:1.

10 Dicha etapa de extracción es habitual en el campo de los extractos vegetales, y cualquier experto en la materia es capaz de ajustar los parámetros de reacción basándose en su conocimiento general.

15 Al final de dicha etapa de extracción, se obtiene un extracto de flores de *Camellia japonica* alba plena, que, de acuerdo con un aspecto ventajoso de la invención, se puede someter luego a una etapa de decoloración, en particular, por medio de carbón activado en presencia de un disolvente. El peso del carbón activado está preferentemente entre el 0,5 y el 50 % del peso de extracto. En particular, es posible usar uno o más disolventes seleccionados entre agua, alcoholes C₁-C₄ monohídricos tales como metanol, etanol o isopropanol, disolventes orgánicos polares tales como propilenglicol o dipropilenglicol, o cualquier otro disolvente empleado habitualmente en dicho campo. Los disolventes volátiles se pueden eliminar a presión reducida.

20 A continuación, el extracto de flores de *Camellia japonica* alba plena obtenido como se ha descrito anteriormente se puede diluir en un disolvente cosmético adecuado, especialmente en un alcohol monohídrico, un glicol o glicerol, opcionalmente mezclado con agua, antes de su uso de acuerdo con la invención a una tasa del 0,00001 al 10 % en peso, preferentemente a una tasa del 0,0001 al 5 % en peso, más preferentemente a una tasa del 0,001 al 1 % en peso, y todavía más preferentemente a una tasa del 0,05 al 0,1 % en peso, con respecto al peso total de la composición.

25 El extracto de flores de *Camellia japonica* alba plena se usa de acuerdo con la invención para fines cosméticos, con el fin de hidratar la piel humana o protegerla contra la sequedad. También se puede usar para combatir los signos cutáneos producidos como consecuencia de la alteración de la función de barrera, incluyendo la piel áspera, las molestias incluyendo el enrojecimiento, la tirantez, la sensación de hormigueo y el picor, la pérdida de luminosidad o la tez cetrina, la pérdida de flexibilidad de la piel y el agrietamiento.

30 El efecto de hidratación de la composición usada de acuerdo con la invención se puede medir, en particular, por corneometría, de acuerdo con las técnicas habituales que son bien conocidas por cualquier experto en la materia.

35 Preferentemente, la composición de acuerdo con la invención que contiene el extracto de flores de *Camellia japonica* alba plena, se aplica en la piel que está seca y, preferentemente, no patológica. Se puede aplicar ventajosamente en la piel del rostro, del cuello y, opcionalmente, del escote o, como variante, en cualquier parte del cuerpo.

40 La composición que contiene dicho extracto se puede aplicar por la mañana y/o por la noche, en todo el rostro, el cuello y, opcionalmente, el escote o incluso el resto del cuerpo.

45 En general, la composición usada de acuerdo con la invención comprende, además del extracto ya descrito, un medio que es fisiológicamente aceptable y, preferentemente, cosméticamente aceptable, es decir, que es adecuado para su uso en contacto con la piel humana sin riesgo de provocar toxicidad, incompatibilidad, inestabilidad, respuesta alérgica y, en particular, que no provoca sensaciones de malestar (enrojecimiento, tirantez, sensación de hormigueo, etc.) que no son aceptables para el usuario.

50 Dicho medio contiene, en general, agua y, opcionalmente, otros disolventes tales como el etanol.

55 La composición usada de acuerdo con la invención puede estar en cualquier forma adecuada para la aplicación tópica sobre la piel y, en particular, en forma de emulsión de aceite en agua, de agua en aceite o múltiple (W/O/W o O/W/O), pudiendo ser, opcionalmente, microemulsiones o nanoemulsiones, o en forma de dispersión acuosa, solución, gel acuoso o polvo. Es preferible que dicha composición esté en forma de una emulsión de aceite en agua.

60 Dicha composición se usa preferentemente como un producto para el cuidado o la limpieza de la piel del rostro y/o del cuerpo y, en particular, puede estar en forma de líquido, gel o espuma, envasado, por ejemplo, en un bote de pulverización accionado por bombeo, un aerosol o un tubo, o como crema envasada, por ejemplo, en un tarro. Como variante, puede tener la forma de un producto de maquillaje y, en particular, una base, o un polvo suelto o compactado.

65 Aparte del extracto de flores de *Camellia japonica* alba plena descrito anteriormente, la composición de acuerdo con la invención también puede comprender al menos un aditivo que sea habitual en el campo de la cosmética, por ejemplo, al menos un compuesto seleccionado de entre un agente gelificante y/o espesante, un tensioactivo o un cotensioactivo, una grasa líquida o un aceite, una cera, un elastómero de silicona, un filtro solar, un colorante, un agente matificante o una carga, un pigmento, un agente lifting, un conservante, un agente sequestrante, un perfume

y mezclas de los mismos.

En particular, la composición de acuerdo con la invención puede contener, sin limitación, uno o más de los siguientes aditivos

- 5
- uno o más agentes para la gelificación y/o el espesamiento de la fase acuosa, seleccionado, por ejemplo, entre los homopolímeros y copolímeros reticulados o no reticulados, hidrófilos o anfífilos, de ácido acrilometilpropano-sulfónico (AMPS) y/o de acrilamida y/o ácido acrílico y/o sales o ésteres de ácido acrílico tales como copolímero de acrilodimetiltaurato de amonio/VP y copolímero de acrilodimetil-taurato de aminio/beheneth-25-metacrilato, en particular, los comercializados con las denominaciones Aristoflex® AVC y HMB de Clariant, o polímero cruzado de acrilatos/acrilato de alquilo C₁₀₋₃₀ comercializado con la denominación comercial PEMULEN® TR-1 o TR-2, Carbopol® 1382, Carbopol® Ultrez 20 por la compañía Noveon, derivados celulósicos, gomas de origen vegetal (goma de acacia o goma árabe, agar, guar, algarrobo, alginatos, carragenanos, pectina) o de origen microbiano (xantano, pululano), arcillas (laponita). Dicho gelificante y/o agente espesante puede estar presente en la composición en un contenido del orden del 0,01 al 5 % en peso, con respecto al peso total de la composición;
 - uno o más tensioactivos, preferentemente emulsionantes, ya sean no iónicos, aniónicos, catiónicos o anfóteros y, en particular, los ésteres de ácidos grasos y de polioles tales como ésteres alcoxilados (más particularmente, polioxietilenados) de ácidos grasos y de glicerol, ésteres alcoxilados de ácidos grasos y de sorbitán, ésteres alcoxilados (etoxilados y/o propoxilados) de ácidos grasos, tales como la mezcla de estearato de PEG-100/estearato de glicerilo comercializada, por ejemplo, por la compañía Croda Inc., con la denominación Arlancel® 165 y los ésteres de ácidos grasos y de sacarosa tales como estearato de sacarosa; éteres de alcohol graso y de azúcar, en particular, los alquilpoliglucósidos (APG) tales como el decilglucósido y el laurilglucósido comercializados, por ejemplo, por la compañía Henkel con las respectivas denominaciones Plantaren® 2000 y Plantaren® 1200, glucósido cetearílico opcionalmente mezclado con alcohol cetearílico, comercializado, por ejemplo, con la denominación Montanov® 68 por la compañía Seppic, así como glucósido araquidílico, por ejemplo, en forma de la mezcla de alcoholes araquidílico y behenílico y de glucósido araquidílico comercializado con la denominación Montanov® 202 por la compañía Seppic; éteres de alcoholes grasos y de polietilenglicol; poliéteres modificados con polisiloxano; betaína y sus derivados; policuaternios; sales de sulfato etoxilado de alcoholes grasos; sulfosuccinatos; sarcosinatos; alquilfosfatos y dialquilfosfatos, y sus sales; y jabones de ácidos grasos. Dicho tensioactivo puede estar presente en la composición en un contenido del orden del 0,1 al 8 %, preferentemente del 0,5 al 3 % en peso, con respecto al peso total de la composición;
 - uno o más cotensioactivos tales como los alcoholes grasos lineales con una cadena larga de carbono (C₁₄-C₂₀) y, en particular, alcoholes cetílico y estearílico, estando dicho tensioactivo presente en la composición a una tasa del 0,1 al 5 %, preferentemente del 0,5 al 2 % en peso, con respecto al peso total de la composición;
 - una o más grasas que son líquidas a temperatura ambiente, comúnmente denominadas aceite/s lineal/es, cíclico/s o ramificado/s, de silicona o de hidrocarburos, volátil/es o no volátil/es, por ejemplo, aceites de silicona tales como polidimetilsiloxanos (dimeticonas), polialquilociclosiloxanos (ciclometiconas) y polialquilfenilsiloxanos (fenildimeticonas); aceites sintéticos tales como aceites fluorados, benzoatos de alquilo e hidrocarburos ramificados tales como poliisobutileno, isododecano; aceites minerales (parafina); aceites vegetales (aceite de almendra dulce, aceite de macadamia, aceite de semilla de grosella negra, aceite de jojoba o aceite de camelina sativa tal como el aceite comercializado con la denominación comercial Lipex® Omega 3/6 por la compañía Unipex); alcoholes grasos, amidas grasas, ácidos grasos o ésteres tales como el benzoato de alcoholes C₁₂-C₁₅ comercializados con la denominación comercial Finsolv® TN por la compañía Innospec o isononanoato de isononilo comercializado con la denominación comercial Wickenol® 151 por la compañía Alzo Inc., palmitato de octilo, lanolato de isopropilo, los triglicéridos, incluyendo los de ácidos cáprico/caprílico, carbonato de dicaprililo comercializado con el nombre Cetiol® CC por la compañía Cognis; preferentemente a una tasa del 0,1 al aproximadamente 10 %, preferentemente del 0,5 al 5 % en peso, con respecto al peso total de la composición;
 - una o más ceras (compuestos que son sólidos o sustancialmente sólidos a temperatura ambiente, y cuyo punto de fusión, por lo general, es superior a 35 °C), tales como ozoquerita, cera de polietileno, cera de abeja o cera de carnauba, preferentemente a una tasa del 0,01 al aproximadamente 5 %, preferentemente del 0,5 al 5 % en peso, con respecto al peso total de la composición;
 - uno o más elastómeros de silicona, en particular, obtenidos mediante la reacción, en presencia de un catalizador, de un polisiloxano que tiene al menos un grupo reactivo (en particular, hidrógeno o vinilo) y que porta al menos un grupo terminal y/o lateral alquilo (en particular, metilo) o fenilo, con una organosilicona tal como un polisiloxano organohidrogenado, preferentemente a una tasa del 0,1 al aproximadamente 20 %, preferentemente del 0,25 al 15 % en peso, con respecto al peso total de la composición;
 - uno o más filtros solares, en particular, filtros orgánicos tales como los derivados de dibenzoilmetano (incluyendo metoxidibenzoilmetano de butilo comercializado, en particular, por DSM con la denominación comercial Parsol®
- 65

1789), derivados del ácido cinámico (incluyendo metoxicinamato de etilhexilo comercializado, en particular, por DSM con la denominación comercial Parsol[®] MCX), salicilatos, ácidos *para*-aminobenzoicos, β,β' -difetilacrilatos, benzofenonas, derivados de alcanfor de bencilideno, fenilbencimidazoles, triazinas, fenilbenzotriazoles y derivados antranílicos; o filtros inorgánicos a base de óxidos minerales en forma de pigmentos o nanopigmentos, recubiertos o no recubiertos, y en particular, a base de dióxido de titanio u óxido de cinc; preferentemente a una tasa del 0,1 al aproximadamente 30 %, más preferentemente del 0,5 al 20 % en peso, con respecto al peso total de la composición;

- uno o más tintes hidrosolubles tales como, por ejemplo, sal disódica de ponceau, sal disódica del verde de alizarina, amarillo de quinolina, sal trisódica de amaranto, sal disódica de tartrazina, sal monosódica de rodamina, sal disódica de fucsina o xantofila, preferentemente a una tasa del 0,1 al aproximadamente 2 % en peso, con respecto al peso total de la composición;

- una o más cargas, en particular, de agentes matificantes o cargas con efecto de turbidez, y, especialmente, en polvos con efecto de foco suave.

El término "carga" significa partículas que son incoloras o blancas, minerales o sintéticas, laminares o no laminares, adecuadas para dar a la composición cuerpo o rigidez y/o suavidad, un aspecto mate y una uniformidad inmediata tras la aplicación. Dichas cargas pueden modificar notablemente o incluso ocultar las arrugas mediante un efecto de camuflaje o un efecto borroso.

Los agentes matificantes se pueden seleccionar entre polímeros matificantes (en solución, en dispersión o en forma de partículas) y partículas inorgánicas que reducen el brillo de la piel y vuelven la tez más uniforme.

El agente matificante se puede seleccionar, en particular, entre almidón, talco, microperlas de celulosa, fibras vegetales, fibras sintéticas, en particular, poliamidas (polvos de Nylon[®] tales como Nylon-12 (Orgasol[®] comercializado por la compañía Atochem), microesferas de copolímeros acrílicos, en particular, de polimetacrilato de metilo (partículas de PMMA o las partículas Micropearl[®] M310 comercializadas por la compañía Seppic), polvos de sílice, polvos de resina de silicona, polvos de polímero acrílico, polvos de polietileno, organopolisiloxanos elastoméricos reticulados (en particular, comercializados con las denominaciones KSG[®] por la compañía Shin-Etsu, con las denominaciones Trefil[®], BY29[®] o EPSX[®] por la compañía Dow Corning o con las denominaciones Gransil[®] por la compañía Grant Industries), polvos compuestos de talco/dióxido de titanio/alúmina/sílice, polvos de silicato y mezclas de los mismos.

Las cargas con efecto de "foco suave" pueden dar transparencia a la tez y un efecto borroso. Preferentemente, las cargas de "foco suave" tienen un tamaño medio de partícula inferior o igual a 30 micrómetros, más preferentemente inferior o igual a 15 micrómetros. Dichas cargas de "foco suave" pueden tener cualquier forma y, en particular, pueden ser esféricas o no esféricas. Se pueden seleccionar entre polvos de sílice y silicatos, en particular, de alúmina, polvos de tipo metacrilato de polimetilo (PMMA o Micropearl[®] M310), talco, materiales compuestos de sílice/TiO₂ o sílice/óxido de cinc, polvos de polietileno, polvos de almidón, polvos de poliamida, polvos de copolímeros de estireno/acrílicos, elastómeros de silicona y mezclas de los mismos.

Preferentemente, dichos agentes matificantes o cargas con efecto de foco suave se usan a una tasa del 0,1 al aproximadamente 10 % en peso con respecto al peso total de la composición, preferentemente a una tasa del 0,1 al aproximadamente 7 % en peso.

- Uno o más pigmentos: blancos o de color, nacarados o no, minerales y/u orgánicos, recubiertos o no recubiertos, insolubles en el medio, destinados a colorear y/o opacificar la composición. Pueden ser del tamaño habitual o nanométrico. Cabe mencionar, entre los pigmentos minerales, dióxido de titanio, opcionalmente tratado superficialmente, óxidos de hierro o de cromo, violeta de manganeso, azul ultramar, hidróxido de cromo y azul férrico. Entre los pigmentos orgánicos, cabe mencionar el negro de carbón, pigmentos del tipo D & C y lacas a base de carmín, bario, estroncio, calcio, aluminio. Los pigmentos nacarados o nácares son partículas irisadas que reflejan la luz. Dichos pigmentos nacarados se pueden seleccionar entre pigmentos nacarados blancos tales como mica recubierta de titanio u oxiclورو de bismuto, pigmentos nacarados coloreados tales como mica de titanio con óxidos de hierro. Los pigmentos se pueden haber sometido a un tratamiento superficial. Preferentemente, dichos pigmentos se usan a una tasa del 0,1 al aproximadamente 10 % en peso con respecto al peso total de la composición, preferentemente a una tasa del 0,1 al aproximadamente 5 % en peso.

- Uno o más agentes lifting. La expresión "agente lifting" significa un compuesto adecuado para estirar la piel y, mediante dicho efecto de estiramiento, alisar la piel y producir una reducción inmediata o incluso la desaparición de las arrugas y las líneas de expresión. Como agentes lifting, cabe mencionar los polímeros de origen natural; silicatos mixtos; partículas coloidales de cargas inorgánicas; polímeros sintéticos; y sus mezclas. Cabe mencionar, en particular: polímeros de origen vegetal o microbiano, polímeros derivados de apéndices tegumentarios, proteínas del huevo y látex de origen natural. Dichos polímeros son preferentemente hidrófilos. Como polímeros de origen vegetal, cabe mencionar, en particular, proteínas e hidrolizados de proteínas, y más

particularmente extractos de cereales, de plantas leguminosas y plantas oleaginosas, tales como extractos de maíz, de centeno, de trigo, de alforfón, de sésamo, de espelta, de guisante, de tapioca, de frijol, de lenteja, de soja y de altramuz. Otros agentes lifting que se pueden usar de acuerdo con la invención son polisacáridos de origen natural, en particular, almidón obtenido, en concreto, de arroz, maíz, tapioca, patata, mandioca, guisante; carragenanos, gomas de acacia (goma árabe), alginatos, agares, gelanos, gomas de xantano, polímeros celulósicos y pectinas, ventajosamente en dispersión acuosa de micropartículas de gel, derivados de celulosa y sus mezclas. Los polímeros sintéticos están generalmente en forma de un látex o de un pseudolátex y pueden ser del tipo policondensado o se pueden obtener por polimerización de radicales. Cabe mencionar, en particular, dispersiones de poliéster/poliuretano y de poliéter/poliuretano. Preferentemente, el agente lifting es un copolímero de PVP/dimeticonilacrilato y de poliuretano hidrófilo (Aquamere® S-2011® de la compañía Hydromer).

- Uno o más conservantes;
- agentes secuestrantes tales como sales de EDTA;
- perfumes;
- y sus mezclas.

Los ejemplos de dichos aditivos se mencionan, en particular, en el Diccionario CTFA (International Cosmetic Ingredient Dictionary and Handbook publicado por The Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association, XI edición, 2006), que describe una amplia variedad, sin limitación, de ingredientes cosméticos y farmacéuticos habitualmente empleados en la industria del cuidado de la piel, que son adecuados para su uso como ingredientes adicionales en las composiciones de acuerdo con la presente invención.

El experto en la materia es capaz de seleccionar, de la totalidad de dichos posibles aditivos, tanto la composición como la cantidad de los que se van a añadir a la composición, de manera que esta última conserve todas sus propiedades.

Además, la composición de acuerdo con la presente invención puede contener opcionalmente diversos agentes activos, que se pueden seleccionar del grupo que comprende vitaminas, antioxidantes, agentes hidratantes, agentes antipolución, agentes queratolíticos, astringentes, antiinflamatorios, agentes de blanqueo y agentes promotores de la microcirculación.

Los ejemplos de vitaminas incluyen vitaminas A, B1, B2, B6, C y E y sus derivados, ácido pantoténico y sus derivados, y biotina.

Los ejemplos de antioxidantes incluyen ácido ascórbico y sus derivados tales como palmitato de ascorbilo, tetraisopalmitato de ascorbilo, glucósido de ascorbilo, fosfato de ascorbilo de magnesio, fosfato de ascorbilo de sodio y sorbato de ascorbilo; tocoferol y sus derivados tales como acetato de tocoferol, sorbato de tocoferol y otros ésteres de tocoferol; BHT y BHA; ésteres de ácido gálico, ácido fosfórico, ácido cítrico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, cefalina, hexametáfosfato, ácido fítico y extractos vegetales, por ejemplo, de raíces de *Zingiber officinale* (jengibre) tales como azul de Madagascar Ginger comercializado por la compañía BIOLANDES, de *Chondrus crispus*, *Rhodiola*, *Thermus thermophilus*, la hoja de yerba mate, madera de roble, corteza de Rapet Kayu, las hojas de Sakura y las hojas de ylang ylang.

Los ejemplos de agentes hidratantes incluyen polietilenglicol, propilenglicol, dipropilenglicol, glicerol, butilenglicol, xilitol, sorbitol, maltitol, mucopolisacáridos tales como ácido sulfúrico de condroitina, ácido hialurónico de alto o bajo peso molecular o ácido hialurónico potenciado por un derivado de silanol tal como el principio activo Epidermosil® comercializado por la compañía Exymol, y ácido mucoitinsulfúrico; ácido carónico; atelocolágeno; cloresteril-12-hidroxiestearato; sales biliares, un componente principal de NHF (factor de hidratación natural) tal como una sal de ácido carboxílico de pirrolidona y una sal de ácido láctico, un análogo de aminoácido tal como urea, cisteína y serina; una cadena corta de colágeno soluble, PPG de diglicerol, homopolímeros y copolímeros de 2-metacrililoiloxietilfosforilcolina tales como Lipidure HM y Lipidure PBM de NOF; alantoina; derivados de glicerol tales como glicerol de PEG/PPG/polibutilenoglicol-8/5/3 de NOF comercializado con la denominación comercial Wilbride®S753 o glicerol-polimetacrilato de Sederma comercializado con la denominación comercial Lubragel®MS; trimetilglicina comercializado con la denominación comercial Aminocoat® por la compañía Asahi Kasei Chemicals y diversos extractos vegetales tales como extractos de *Castanea sativa*, proteínas hidrolizadas de avellana, polisacáridos de *Tuberosa polyanthes*, aceite de la piedra de *Argania spinosa* y extractos de nácar que contienen una conchiolina, que se comercializan, en particular, por la compañía Maruzen (Japón) con la denominación comercial Pearl Extract®.

Otros ejemplos de agentes hidratantes incluyen compuestos que estimulan la expresión de la matriptasa MT/SP1, tales como un extracto de la pulpa de algarroba, así como agentes que estimulan la expresión de CERT, de ARNT2 o de FN3K o FN3K RP; agentes que aumentan la proliferación o diferenciación de los queratinocitos, ya sea directa

o indirectamente mediante la estimulación, por ejemplo, de la producción de β -endorfinas tales como extractos de *Thermus thermophilus* o de la cáscara de los granos de *Theobroma cacao*, extractos hidrosolubles de maíz, extractos peptídicos de *Voandzeia subterranea* y la niacinamida; lípidos epidérmicos y agentes que aumentan la síntesis de lípidos epidérmicos, ya sea directamente o mediante la estimulación de ciertas β -glucosidasas que modulan la desglucosilación de precursores lipídicos tales como la glucosilceramida en ceramidas tales como fosfolípidos, ceramidas, hidrolizados de proteína de altramuzy derivados de ácido dihidrojasónico.

Los ejemplos de agentes antipolución incluyen extracto de semillas de *Moringa pterygosperma* (por ejemplo, Purisoft® de LSN); extracto de manteca de karité (por ejemplo, Detoxyl® de Silab), una mezcla de extracto de hiedra, de ácido fítico, de extracto de semillas de girasol (por ejemplo, Osmopur® de Sederma).

Los ejemplos de agentes queratolíticos incluyen α -hidroxiácidos (por ejemplo, ácido glicólico, ácido láctico, ácido cítrico, ácido málico, ácido mandélico o ácido tartárico) y β -hidroxiácidos (por ejemplo, ácido salicílico) y ésteres de los mismos, tales como alquil C₁₂₋₁₃-lactatos, y extractos vegetales que contienen dichos hidroxiácidos, tales como extractos de *Hibiscus sabdriffa*.

Los ejemplos de astringentes incluyen extractos de *Hamamelis*.

Los ejemplos de agentes antiinflamatorios incluyen bisabolol, alantoína, ácido tranexámico, óxido de cinc, óxido de azufre y sus derivados, sulfato de condroitina, ácido glicirrizínico y sus derivados tales como glicirrizinatos.

Los ejemplos de agentes de blanqueo incluyen arbutina y sus derivados, ácido ferúlico (tal como Cytovector®: agua, glicol, lecitina, ácido ferúlico, hidroxietilcelulosa, comercializado por BASF) y sus derivados, ácido kójico, resorcinol, ácido lipoico y sus derivados tales como monolipoato de diacetato de resveratrol según lo descrito en la solicitud de patente WO2006134282, ácido elágico, leucodopacromo y sus derivados, vitamina B3, ácido linoleico y sus derivados, ceramidas y sus homólogos, un péptido como el descrito en la solicitud de patente WO2009010356, un bioprecursor como el descrito en la solicitud de patente WO2006134282 o una sal tranexamato tal como sal de clorhidrato de tranexamato cetílico, un extracto de regaliz (extracto de *Glycyrrhiza glabra*), que es comercializado, en particular, por la compañía Maruzen con la denominación comercial Licorice extract®, un agente de blanqueo que también tiene un efecto antioxidante, tal como los compuestos de la vitamina C, incluyendo las sales de ascorbato, ésteres de ascorbilo de ácidos grasos o de ácido sórbico, y otros derivados de ácido ascórbico, por ejemplo, fosfatos de ascorbilo tales como fosfato de ascorbilo de magnesio y fosfato de ascorbilo de sodio, o ésteres de sacaridos de ácido ascórbico que incluyen, por ejemplo, ascorbil-2-glucósido, L-ascorbato de 2-O- α -D-glucopiranosil o L-ascorbato de 6-O- β -D-galactopiranosil. Un principio activo de este tipo es comercializado, en particular, por la compañía DKSH con la denominación comercial Ascorbyl glucoside®.

Los ejemplos de agentes que favorecen la microcirculación incluyen un extracto de altramuzy (tal como Eclaline® de Silab), de ruscus, de castaño de indias, de hiedra, de ginseng o de trébol de olor, la cafeína, nicotinato y sus derivados, un extracto de alga *Corallina officinalis* tal como el comercializado por CODIF; y sus mezclas. Dichos agentes que actúan sobre la microcirculación de la piel se pueden usar para prevenir la pérdida de brillo de la tez y/o para mejorar la uniformidad y la luminosidad.

La composición usada de acuerdo con la invención también puede comprender, además de un extracto de flores de *Camellia japonica* alba plena, al menos un principio activo seleccionado entre: agentes que estimulan la expresión de la tensina 1 tales como un extracto de elemí; agentes que estimulan la expresión de FN3K y/o de FN3K RP tales como un extracto de *Butea frondosa*; agentes que estimulan la expresión de CERT o de ARNT2; agentes que estimulan la producción de factores de crecimiento; agentes contra la glucosilación o desglucosilantes; agentes que aumentan la síntesis de colágeno o impiden su degradación (agentes contra la colagenasa, en particular, inhibidores de las metaloproteinasas de la matriz), en particular, agentes que aumentan la síntesis de colágeno IV y/o de hialuronano y/o de fibronectina tales como al menos un oligopéptido acilado, en particular, el comercializado por la compañía SEDERMA con la denominación comercial Matrixyl® 3000; agentes que aumentan la síntesis de la elastina o impiden su degradación (agentes contra la elastasa); agentes que aumentan la síntesis de glicosaminoglucanos o proteoglucanos, o previenen su degradación (agentes contra la proteoglucanasa) tales como el principio activo Epidermosil® (ácido hialurónico combinado con metilsilanotriol) comercializado por la compañía Exsymol; agentes que estimulan la síntesis de las integrinas por los fibroblastos; agentes que aumentan la proliferación de fibroblastos; agentes que facilitan la absorción percutánea tales como alcoholes, alcoholes grasos y ácidos grasos y sus derivados de éster o éter, pirrolidonas, 4-alkil-oxazolidin-2-onas tales como 4-deciloxazolidin-2-ona; terpenos, aceites esenciales y α -hidroxiácidos; y mezclas de los mismos, sin que dicha lista sea exhaustiva.

Ha quedado claro para el solicitante que una combinación de al menos un extracto de flores de *Camellia japonica* alba plena con uno o más de los principios activos descritos anteriormente hizo posible combinar, de manera ventajosa en una y en la misma fórmula, los efectos de dichas combinaciones de principios activos, obteniéndose así la máxima hidratación, de larga duración, de la piel, así como la mejora de la luminosidad y/o la uniformidad de la tez y la disminución del aspecto apagado.

Por lo tanto, la composición cosmética de acuerdo con la invención contiene ventajosamente al menos un extracto de flores de *Camellia japonica* alba plena y al menos un principio activo seleccionado entre: agentes hidratantes, antioxidantes, agentes que favorecen la microcirculación y mezclas de los mismos.

5 Más particularmente, puede contener al menos un principio activo seleccionado entre: un extracto fermentado de *Thermus thermophilus*; un extracto de raíz de *Zingiber officinale* (jengibre); ácido hialurónico y sus derivados; un extracto de pulpa de algarroba; y mezclas de los mismos.

La invención se ilustrará ahora mediante los siguientes ejemplos no limitantes.

10

Descripción detallada de la invención

Ejemplos

15 Ejemplo 1: Preparación de un extracto de *Camellia japonica* alba plena

1) Extracción alcohólica

Se introducen 35 kg de flores de *Camellia japonica* alba plena en un reactor de acero inoxidable de 500 litros.

20

Se añaden 215 l de etanol al 96 % (volumen/volumen).

Se calienta el reactor hasta 65 °C y se mantiene a dicha temperatura durante 6 horas.

25

A continuación, se filtra el material para quitar las flores de la *Camellia japonica* alba plena.

Se recoge el filtrado.

Luego se evapora el disolvente en un evaporador rotatorio al vacío.

30

Esto da 1,78 kg de extracto de flores de *Camellia japonica* alba plena.

El rendimiento en dicha operación es del 5,1 %.

35

2) Decoloración del extracto

Se lava el extracto con etanol caliente al 96 % (volumen/volumen) y carbón activado. Para ello, se mezclan 1,78 kg de extracto con 14 l de etanol al 96 % y 1,75 kg de carbón activado.

40

Se agita vigorosamente durante 2 horas a temperatura ambiente y luego se deja reposar durante 2 horas. Tras filtrar la solución en un Büchner, se recupera el filtrado primario.

Se vuelve a filtrar dicho filtrado en un filtro cónico para retirar los últimos residuos de carbón activado y, a continuación, se evapora el etanol en un evaporador rotatorio al vacío.

45

El rendimiento total del proceso es del 3,5 %.

Antes de probarlo en las células de la piel como se describe en los siguientes ejemplos 2 a 5, se diluye el extracto hasta el 25 % en glicerol.

50

Ejemplo 2: Ensayo de estimulación de la expresión de ARNm de HSP32 (RT-PCR) en queratinocitos tratados con un extracto de flores de *Camellia japonica* alba plena

Protocolo:

55

Se evaluó el efecto del extracto del Ejemplo 1 mediante RT-PCR (reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real) para cuantificar la expresión del ARN mensajero de HSP32 en una muestra tratada con respecto a una muestra no tratada. Los resultados se normalizan con respecto a la expresión de genes domésticos en dichas muestras.

60

Los resultados se expresan como el factor de aumento o reducción de la expresión del gen diana (HSP32) en la muestra tratada.

Las secuencias de ADNc/ARNm de los genes examinados se obtuvieron de acuerdo con el trabajo de Jonak C. *et al.* (2005, Hum. Patol)

65

- Gen diana: HSP32 (HO-1)

- Gen doméstico: GAPDH

El ARNm se aisló usando el kit Qiagen RNeasy (QIAGEN) de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. La transcripción inversa en ADNc se llevó a cabo por medio del kit gene Amp RNA PCR (Applied Biosystems) de acuerdo con las recomendaciones del fabricante.

Se sembraron queratinocitos derivados de prepucio neonatal (Cascade Biologics, Invitrogen, CA) en placas de 6 pocillos y se cultivaron en medio de cultivo para queratinocitos (EpiLife® + EDGS, Cascade Biologics, Invitrogen, CA). Tras 24 h de cultivo en una estufa a 37 °C, se lavaron las células confluentes con tampón PBS (Invitrogen, CA) y se incubaron con medio específico básico (EpiLife®, Cascade Biologics, Invitrogen, CA) que contenía el extracto de ensayo, durante 24 h. Tras examinar la citotoxicidad del extracto, se evaluó su actividad.

La medición mediante PCR en tiempo real se llevó a cabo usando el aparato iCYCLER IQ (Biorad) con detección de SYBR Green I. En todos los ensayos, se amplificó el ADNc usando un programa estandarizado. Se cargó cada muestra con Supermixe IQ SYBR Green I, agua y cebador (reserva); la cantidad final de ADNc por reacción correspondió a 75 ng de ARN total usado para la transcripción inversa.

La cuantificación relativa de la expresión del gen diana se realizó usando el modelo matemático de Pfaffl (Pfaffl, MW, *Nucleic Acids Res.* 29 (9), p. E45, 2001).

El ensayo se realizó sobre queratinocitos humanos normales cultivados por triplicado. Los resultados obtenidos se confirmaron usando células de tres donantes diferentes.

Resultados:

Tabla 1

	Concentración ⁽¹⁾	Estimulación del ARNm de HSP32	Desviación estándar
Queratinocitos sin tratar	-	1,0	0,1
Extracto de flores de <i>Camellia Japonica</i> alba plena de acuerdo con el Ejemplo 1	0,05 %	2,8	0,5

(1) las concentraciones de los extractos se expresan en peso del extracto en bruto por peso de la preparación (estando el extracto obtenido de acuerdo con el Ejemplo 1 diluido en el medio de cultivo para queratinocitos).

El extracto de flores de *Camellia japonica* alba plena ensayado al 0,05 % estimula la expresión del ARNm de HSP32 en un factor de 2,8, con respecto al control no tratado.

Ejemplo 3: Ensayo de estimulación de la expresión de la proteína HSP27 en queratinocitos tratados con diversos extractos de flores de *Camellia japonica*

Protocolo:

Se examinó la estimulación de la expresión de la proteína HSP27 con varios extractos de flor de la camelia, es decir, el extracto obtenido de acuerdo con el Ejemplo 1 y los extractos de flores de *Camellia japonica* Dr. Tinsley, *Camellia japonica* broceliande y *Camellia japonica* fire falls, todos obtenidos de acuerdo con un proceso de extracción idéntico al descrito en el Ejemplo 1. Los experimentos se realizaron en un cultivo de queratinocitos cultivados en condiciones idénticas a las descritas en el Ejemplo 2.

El ensayo se realizó sobre queratinocitos humanos normales cultivados por triplicado y tratados durante 24 h. Los resultados obtenidos se confirmaron usando células de dos donantes diferentes.

La evaluación cuantitativa de las concentraciones de HSP27 en los cultivos celulares se llevó a cabo mediante el método ELISA usando el kit de ensayo inmunológico DuoSet_IC® (DYC1580-2, R & D Systems, MN, EE.UU.) y siguiendo el protocolo descrito por el fabricante. Las células lisadas se colocaron en placas de microtitulación de 96 pocillos. A continuación, se trataron con una solución de anticuerpo monoclonal anti-HSP27 biotinilado. Tras una noche de incubación a 4 °C, se enjuagó la placa varias veces y después se incubó en presencia de las muestras de ensayo y el resto de los reactivos descritos en el protocolo. La detección se llevó a cabo a 450/540 nm (formato de estreptavidina-HRP) usando un lector de microplacas, y los resultados se calcularon usando cuatro parámetros logísticos de la curva (4-PL).

Resultados:

Tabla 2

	Concentración ⁽¹⁾	Estimulación de la expresión de HSP27 (%)	Desviación estándar
Queratinocitos sin tratar	-	100	0
	Concentración (1)	Estimulación de la expresión de HSP27 (%)	Desviación estándar
Extracto de flores de <i>Camellia Japonica</i> alba plena de acuerdo con el Ejemplo 1	0,0125 %	219,3	24,3
	0,025 %	283,7	44,5
Extracto de flores de <i>Camellia japonica</i> Dr. Tinsley	0,0125 %	177,4	0,4
	0,025 %	181,4	6,8
Extracto de flores de <i>Camellia japonica</i> broceliande	0,0125 %	151,9	14,2
	0,025 %	168,1	14,0
Extracto de flores de <i>Camellia japonica</i> fire falls	0,0125 %	161,3	23,9
	0,025 %	184,0	20,8
(1) las concentraciones de los extractos se expresan en peso del extracto en bruto por peso de la preparación (estando el extracto obtenido de acuerdo con el Ejemplo 1 diluido en el medio de cultivo para queratinocitos).			

5 El extracto de flores de *Camellia japonica* alba plena ensayado estimula significativamente la expresión de ARNm de HSP27 en relación con el control no tratado, y dicha estimulación es superior a la producida por otros extractos de *Camellia japonica* a las concentraciones ensayadas.

Ejemplo 4: Ensayo de estimulación de la expresión de la proteína PPAR- β/δ en queratinocitos tratados con diversos extractos de flores de *Camellia japonica*

10 Protocolo:

15 Se examinó la estimulación de la expresión de la proteína PPAR- β/δ con varios extractos de flor de la camelia, es decir, el extracto obtenido de acuerdo con el Ejemplo 1 y los extractos de flores de *Camellia japonica* Dr. Tinsley, *Camellia japonica* broceliande y *Camellia japonica* fire falls, todos obtenidos de acuerdo con un proceso de extracción idéntico al descrito en el Ejemplo 1. Los experimentos se realizaron en un cultivo de queratinocitos cultivados en condiciones idénticas a las descritas en el Ejemplo 2.

20 El ensayo se realizó sobre queratinocitos humanos normales cultivados por triplicado y tratados durante 24 h. Los resultados obtenidos se confirmaron usando células de dos donantes diferentes, excepto para la camelia fire falls, que se usaron células de 3 donantes.

25 La evaluación cuantitativa de las concentraciones de PPAR- β/δ en los cultivos celulares se realizó mediante métodos convencionales tales como el ensayo inmunoenzimático o, más particularmente, un análisis de transferencia Western.

30 Las proteínas PPAR- β/δ se separaron por electroforesis en gel SDS-PAGE al 4-12 % (Invitrogen, CA, EE.UU.) tras la cuantificación con el kit de cuantificación de proteínas micro-BCA (Pierce, NY, EE.UU.). Tras transferirlas a una membrana de PVDF (GE Healthcare, NJ, EE.UU.) de acuerdo con un protocolo convencional, se incubaron las proteínas PPAR- β/δ con el anticuerpo primario anti-PPAR- β/δ (Cayman, MI, EE.UU.) durante una noche a 4 °C. A continuación, tuvo lugar la segunda incubación con el anticuerpo secundario (anti IgG de conejo conjugado con HRP desarrollado en cabra; GE Healthcare) dirigido contra el anticuerpo primario, en general, durante 1 hora a temperatura ambiente. La presencia de PPAR- β/δ en la membrana se detecta mediante inmunodetección por medio de un kit de detección de quimioluminiscencia siguiendo las instrucciones del fabricante (Pierce, NY, EE.UU.). Las bandas se cuantificaron por medio de la cámara termográfica AlphaInnotech (San Leandro, CA, EE.UU.).

35 Resultados:

40

Tabla 3

	Concentración ⁽¹⁾	Estimulación de PPAR-β/δ (%)	Desviación estándar
Queratinocitos sin tratar	-	100	0
Extracto de flores de <i>Camellia Japonica</i> alba plena de acuerdo con el Ejemplo 1	0,00625 %	161,2	8,8
	0,0125 %	203,1	30,6
	0,05 %	155,7	16,1
Extracto de flores de <i>Camellia japonica</i> Dr. Tinsley	0,00625 %	93,8	4,0
	0,0125 %	98,3	2,1
	0,05 %	80,0	26,9
Extracto de flores de <i>Camellia japonica</i> broceliande	0,00625 %	81,6	1,8
	0,0125 %	87,3	1,1
	0,05 %	99,0	9,7
Extracto de flores de <i>Camellia japonica</i> fire falls	0,00625 %	118,2	2,5
	0,0125 %	122,2	20,3
	0,05 %	90,3	9,0

(1) las concentraciones de los extractos se expresan en peso del extracto en bruto por peso de la preparación (estando el extracto obtenido de acuerdo con el Ejemplo 1 diluido en el medio de cultivo para queratinocitos).

El extracto de flores de *Camellia japonica* alba plena ensayado estimula significativamente la expresión de PPAR-β/δ, en relación con el control no tratado, y esta estimulación es muy superior a la producida por otros extractos de *Camellia japonica* a las concentraciones ensayadas.

Ejemplo 5: Composición cosmética (suero de aceite en agua)

La siguiente composición puede ser preparada convencionalmente por cualquier experto en la materia. Las cantidades que se ofrecen a continuación se expresan en porcentajes en peso. Los ingredientes en mayúsculas se identifican de acuerdo con la denominación INCI.

Denominación INCI	% (peso/peso)
AGUA	cs 100,00
Agente quelante	0,05
Ajustador del pH	0,05
Conservante	0,05
Glicol	3,25
COPOLÍMERO DE ACRILOILDIMETILTAURATO DE AMONIO/VP	1,20
COPOLÍMERO CRUZADO DE ACRILATOS/ACRILATO DE ALQUILO C ₁₀₋₃₀	0,20
GLICERINA	3,00
POLIMETACRILATO DE GLICERILO	4,18
HIALURONATO ACETILADO DE SODIO	0,05
GLICERINA DE PEG/PPG/POLIBUTILENGLICOL-8/5/3	2,00
PCA DE SODIO	3,00
Aceite	10,00
ALCOHOL	8,00

ES 2 522 935 T3

Denominación INCI	% (peso/peso)
PERFUME	0,30
EXTRACTO DE RAÍZ DE ZINGIBER OFFICINALE (JENGIBRE) ¹	0,10
ÁCIDO HIALURÓNICO Y SILANOTRIOL Y ÁCIDO CÍTRICO ²	5,00
EXTRACTO DE FLORES DE CAMELLIA JAPONICA ³	0,05
POLIMETILMETACRILATO RETICULADO ⁴	0,75
POLÍMERO CRUZADO DE HDI / HEXILACTONA DE TRIMETIOL Y SÍLICE ⁵	0,75
AQUA (AGUA) Y FERMENTO DE THERMUS THERMOPHILLUS Y GLICERINA Y BIOTINA ⁵	3,00
Extracto de pulpa de algarroba	0,10
<p>(1) azul de Madagascar Ginger[®] comercializado por la compañía BIOLANDES (2) EPIDERMOSIL[®] comercializado por la compañía EXSYMOL (3) de acuerdo con lo descrito en el Ejemplo 1 (4) MICROPEARL[®] M310 de SEPPIC (5) PLASTIC POWDER[®] D-400 / BPD-500[®] de KOBO (6) VENUCEANE[®] de SEDERMA</p>	

La presente composición se puede aplicar diariamente, por la mañana y/o por noche, sobre la piel que esté particularmente deshidratada y/o expuesta a factores agresivos del medio ambiente, para mejorar su bienestar y hacer uniforme la tez.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición cosmética que contiene, en un medio fisiológicamente aceptable, al menos un extracto de flores de *Camellia Japonica* alba plena.
2. Composición de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada porque** el extracto se puede obtener por extracción alcohólica por medio de un alcohol monohídrico y/o un glicol, opcionalmente mezclado con agua.
- 10 3. Composición de acuerdo con la reivindicación 2, **caracterizada porque** el disolvente de la extracción comprende etanol.
- 15 4. Composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizada porque** contiene además al menos un principio activo seleccionado entre: agentes hidratantes, antioxidantes, agentes que favorecen la microcirculación y mezclas de los mismos.
- 20 5. Composición de acuerdo con la reivindicación 4, **caracterizada porque** el principio activo está seleccionado entre: un extracto fermentado de *Thermus thermophilus*; un extracto de raíz de *Zingiber officinale*; ácido hialurónico y sus derivados; un extracto de pulpa de algarroba; y mezclas de los mismos.
- 25 6. Uso cosmético de la composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para hidratar y/o proteger la piel humana contra la sequedad.
7. Uso de acuerdo con la reivindicación 6, **caracterizado porque** la composición se aplica sobre piel seca no patológica.
- 30 8. Extracto de flores de *Camellia Japonica* alba plena, **caracterizado porque** se puede obtener por extracción de las flores por medio de al menos un disolvente alcohólico.
9. Extracto de acuerdo con la reivindicación 8, **caracterizado porque** el extracto se puede obtener por extracción alcohólica por medio de un alcohol monohídrico y/o un glicol, opcionalmente mezclado con agua
10. Extracto de acuerdo con la reivindicación 9, **caracterizado porque** el disolvente de la extracción comprende etanol.