

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 534 555**

51 Int. Cl.:

A61K 8/49 (2006.01)

A61K 8/97 (2006.01)

A61Q 19/06 (2006.01)

A61K 36/185 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.12.2009 E 09799002 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.02.2015 EP 2373283**

54 Título: **Procedimiento para obtener extractos que contienen derivados de metilxantina a partir de tortas de plantas del género Theobroma, así como una composición y uso de dicho extracto**

30 Prioridad:

12.12.2008 FR 0858545

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

24.04.2015

73 Titular/es:

**NATURA COSMÉTICOS S.A. (100.0%)
Rodovia Regis Bittencourt, Km 293
06882-700 Itapecerica da Serra SP, BR**

72 Inventor/es:

**DELARCINA JÚNIOR, SERGIO y
FERRARI, CINTIA ROSA**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 534 555 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

Procedimiento para obtener extractos que contienen derivados de metilxantina a partir de tortas de plantas del género *Theobroma*, así como una composición y uso de dicho extracto

CAMPO TÉCNICO.

- 5 La presente invención se refiere a un procedimiento para la obtención de extractos normalizados de derivados de metilxantina a partir de tortas de plantas del género *Theobroma* tales como cacao y cupuazú para su uso en una composición que tiene una potencial actividad lipolítica anticelulítica.

10 El procedimiento descrito en la presente invención es una nueva vía para extraer concentrados que contienen metilxantinas que permite reutilizar tortas de plantas del género *Theobroma* tales como cacao y/o cupuazú para obtener un extracto concentrado de metilxantina y con una elevada recuperación de principios activos.

FUNDAMENTO DE LA INVENCIÓN.

El cacao es conocido desde hace mucho tiempo por sus características estimulantes y lipolíticas debido a la presencia de pseudoalcaloides pertenecientes a la familia de la metilxantina, tales como la teobromina, la cafeína y la teofilina, que tienen las fórmulas estructurales siguientes:



20 Los pseudoalcaloides pertenecientes a la familia de la metilxantina son conocidos por su acción sobre la inhibición de las enzimas fosfodiesterasa (PDE) de nucleótidos cíclicos, dando por resultado un aumento en la concentración de AMPc intracelular (3', 5' fosfato de adenosina cíclica) y GMP cíclico, con la promoción de la lipólisis en los adipocitos. Junto a este mecanismo, hay también un antagonismo en los receptores de adenosina que, cuando se activan, promueven una reducción de la acumulación de AMPc, y por tanto alterando la lipólisis (Fredholm, B. y Lindgren E.; 1984), así como la estimulación de los receptores β -adrenérgicos. Debido a las características estimuladoras y lipolíticas de las metilxantinas, su uso en productos cosméticos para tratar y prevenir la grasa localizada y la celulitis se ha extendido en gran medida.

25 Se han descrito en la literatura cierto número de procedimientos para la extracción de metilxantinas de cacao. Sin embargo, los procedimientos ya descritos en la técnica no muestran un rendimiento alto en la obtención de las metilxantinas y en su mayor parte son altamente costosos energéticamente y precisan mucho tiempo, y además se centran en la extracción de la cafeína en vez de la teobromina, esta última presente por lo general en concentraciones más pequeñas que la cafeína en los productos finales obtenidos. Esto es debido en parte a las diferencias físicoquímicas entre la cafeína y la teobromina. La cafeína se comporta como una base débil ($pK_a = 14,2$) y por tanto capaz de disolverse en el agua a un pH ácido y en disolventes apolares a un pH básico. La teobromina, a diferencia de la cafeína, tiene un comportamiento anfótero ($pK_a = 10,0$ y $pK_b = 13,9$) (Spiller, G. A.; 1998). Por tanto, la teobromina se disuelve en el agua a valores de pH extremos, o demasiado ácidos o demasiado básicos. Su solubilización en disolventes apolares se produce en un intervalo de pH muy estrecho. Por tanto, para la extracción de la cafeína y la teobromina al mismo tiempo en disolventes apolares, tales como diclorometano, es necesario un control muy estricto del pH en un determinado intervalo.

Los documentos siguientes representan el estado de la técnica más próxima a la presente invención. Todos ellos se refieren a un procedimiento de obtención de metilxantinas a partir de materiales derivados del cacao y/o composiciones que contienen derivados del cacao.

40 La patente de EE. UU. n° 1.073.441 describe un procedimiento para la extracción de las metilxantinas usando cloroformo como disolvente.

La patente de EE. UU. n° 1.855.026 describe un procedimiento para la extracción de metilxantinas mediante el uso de dicloruro de etileno como disolvente.

La patente de EE. UU. n° 1.925.326 describe un procedimiento para la extracción de metilxantinas mediante el uso de tetracloroetano como disolvente.

45 La patente de EE. UU. n° 4.755.391 se refiere a un procedimiento para el tratamiento de granos de cacao y "nibs" de cacao ("cacao descortezado") para eliminar metilxantinas. El procedimiento incluye la extracción acuosa a una temperatura entre aproximadamente 45 °C y aproximadamente 55 °C, y después una serie de pasos de extracción

acuosa a una temperatura entre aproximadamente 90 °C y aproximadamente 105 °C. El uso de una primera extracción acuosa a bajas temperaturas, seguida por una serie de pasos de extracción acuosa a temperaturas altas, tiene por resultado una mayor cantidad de teobromina extraída.

5 Documento US 2003/0170199 A1: esta referencia describe una composición cosmética que contiene un extracto obtenido de granos de cacao que contienen polifenoles para su uso en el tratamiento de la piel. El procedimiento de extracción utilizado en esta referencia es un procedimiento bien conocido para moler granos de cacao seguido de separación hidrófila/lipófila de manteca de cacao y una mezcla de proteínas y polifenoles.

10 Documento WO 2004/103334 A1: esta referencia describe una composición cosmética o dermatológica que comprende cafestol, kahweol o sus derivados, obtenidos a partir del extracto de las semillas de café verde y, opcionalmente, un agente lipolítico como una base de xantina sintética (cafeína o teobromina), para prevenir y/o tratar la celulitis.

15 La patente de EE. UU. n° 1.947.717 (Harvey, Kellogg John et al) describe un procedimiento para la eliminación de alcaloides, tales como la teobromina, de productos que contienen teobromina natural o productos de cacao, ya que se dice que el efecto de la teobromina sobre la sistema humano es nocivo. El procedimiento comprende disolver el producto de cacao en una mezcla de agua y alcohol, hidrolizar con álcali, y filtrar, y a continuación lavar la masa sólida con metanol acuoso hasta que la solución lavada está sustancialmente libre de teobromina. La masa sólida se seca y el sólido resultante, libre de teobromina, es adecuado para uso alimentario. El alcohol empleado en el procedimiento puede ser recuperado por destilación para dejar un residuo de alcaloide, álcali y grasa, el cual residuo puede ser tratado por cualquiera de varios métodos bien conocidos para separar el alcaloide de las grasas para uso comercial.

20

25 Las metilxantinas actúan como inhibidores de la fosfodiesterasa, provocando la acumulación de AMPc intracelular, estableciendo así una señal para el aumento de la actividad lipolítica en los adipocitos. Se ha demostrado en un estudio con modelos *ex vivo* con adipocitos que la cafeína y la teobromina tienen un poder equivalente sobre la lipólisis inducida por noradrenalina. La tasa de lipólisis se ha medido por el aumento del glicerol intracelular (Fredholm, B. y Lindgren E.; 1984). Esos mismos investigadores han demostrado en el mismo trabajo que la teobromina es un 50% más potente que la cafeína en la antagonización de los efectos antilipolíticos de la 2-cloroadenosina, mediada por receptores de adenosina. En un estudio *in vitro* de los inhibidores de la fosfodiesterasa bovina, el poder de la teobromina y la cafeína en la capacidad para aumentar el AMPc han sido también idénticos (Butcher, R. E. y Sutherland, E.W.; 1962). Esa información indica el uso de la cafeína y la teobromina como sustancias prometedoras para el tratamiento de celulitis en las personas, en principio por dos mecanismos distintos, tanto promocionando la acumulación de AMPc como inhibiendo los receptores de adenosina.

30

SUMARIO DE LA INVENCION.

La presente invención se refiere a un procedimiento para obtener un extracto que contiene metilxantinas a partir de las tortas de plantas del género *Theobroma* tales como cacao y/o cupuazú, que comprende los siguientes pasos:

- 35 (i) Extracción de la torta de plantas del género *Theobroma* con un disolvente apolar para la eliminación de grasas;
- (ii) Filtración del producto obtenido en la etapa (i) para formar una torta desgrasada de plantas del género *Theobroma* y un extracto apolar;
- (iii) Secado de la torta bajo vacío, para eliminar trazas de disolventes;
- 40 (iv) Hidrólisis de la torta desgrasada y seca obtenida en la etapa (iii) con una base fuerte tal como, por ejemplo, hidróxido amónico a un pH óptimo de 9,5 a 10,5 para la obtención de un extracto hidrolizado, lo que aumenta la solubilidad de las metilxantinas, especialmente la teobromina.
- (v) Filtración;
- (vi) Extracción de la fase acuosa con un disolvente que puede elegirse entre diclorometano, acetato de etilo y cloroformo, con el fin de obtener una fase apolar;
- 45 (vii) Secado de la fase apolar con sulfato sódico, mediante filtración;
- (viii) Eliminación completa del disolvente contenido en la fase apolar para obtener un extracto enriquecido con metilxantina, especialmente teobromina, en una recuperación del 60 al 70% de teobromina.

50 El procedimiento de la invención puede incluir además las siguientes etapas adicionales con el fin de obtener proteínas crudas a partir de extractos de plantas del género *Theobroma*:

- (ix) Precipitación de las proteínas crudas por acidificación del extracto acuoso obtenido en la etapa (viii) con la adición de un ácido a un pH entre 2,5 y 3,2 bajo agitación constante;

(x) Centrifugación de la mezcla de la etapa (ix) para recoger el extracto que contiene proteínas crudas de cacao y/o cupuazú; y

(xi) Secado para obtener dichas proteínas crudas.

5 La presente invención se refiere también a un procedimiento para la preparación de una composición cosmética que contiene un extracto que contiene metilxantina obtenido de acuerdo con el procedimiento anterior.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS.

Figura 1: Expresión de β -endorfina por cultivos de queratinocitos humanos sometidos a incubación a diferentes concentraciones de extracto X.

10 Figura 2: Producción de β -endorfina en cultivo de fibroblastos humanos después de la incubación con muestras que contienen diferentes concentraciones de cafeína o TC150905MX.

Figura 3: Producción de β -endorfina en cultivo de queratinocitos humanos después de la incubación con muestras que contienen diferentes concentraciones de cafeína o TC150905MX.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION.

15 La presente invención se refiere a un procedimiento para la obtención de derivados que contienen metilxantinas a partir de las tortas de plantas del género *Theobroma* tales como cacao y/o cupuazú. Para los fines de la presente invención, las "tortas de plantas del género *Theobroma*" se definen como los residuos obtenidos en el proceso de obtención de las mantecas de las frutas de esas plantas, como la manteca de cacao o de cupuazú, los cuales residuos se desechan o se incineran. El procedimiento para la obtención de extractos que contienen metilxantinas a partir de las tortas de plantas del género *Theobroma*, desarrollado según la presente invención, comprende las siguientes etapas:

- 20 i. Extracción de la torta de plantas del género *Theobroma* con un disolvente apolar;
- ii. Filtración del producto obtenido en la etapa (i) con el fin de formar una torta desgrasada y un extracto apolar;
- iii. Secado a vacío;
- 25 iv. Hidrólisis de la torta desgrasada y seca obtenido en la etapa (iii) con una base fuerte para obtener un extracto hidrolizado que tiene un pH de 9,5 a 10,5 ya que este intervalo permite la recuperación del 60 al 70% de la teobromina, cuya molécula presenta un comportamiento anfótero;
- v. Separación por un decantador del tipo de centrifugación durante 2 horas; (potenciando así el período de tiempo del procedimiento, la extracción y la reducción de costes);
- 30 vi. Extracción de la fase acuosa con un disolvente que se puede elegir ventajosamente entre diclorometano, éter etílico o éter de petróleo, acetato de etilo y cloroformo, con el fin de obtener una fase apolar; preferiblemente se utiliza diclorometano debido a su baja toxicidad en los seres humanos - formando así una emulsión;
- vii. Eliminación completa del disolvente contenido en la fase apolar, por evaporación, condensación o destilación, para obtener un extracto de las metilxantinas;

35 En otra realización, el procedimiento de la presente invención puede comprender además las siguientes etapas para obtener proteína cruda de los frutos de las plantas del género *Theobroma*, tales como cacao o cupuazú:

- i. Precipitación de las proteínas crudas mediante acidificación del extracto acuoso obtenido en la etapa (vii) con la adición de un ácido a un pH entre 2,5 y 3,2 bajo agitación constante;
- ii. Centrifugación de la mezcla de la etapa (viii) para recoger el extracto que contiene proteínas crudas; y
- 40 iii. Secado con el fin de obtener proteínas crudas.

De acuerdo con una realización preferida de la invención, el procedimiento para la obtención de extractos que contienen metilxantinas comprende las etapas de:

- (a) Extracción de la torta de cacao con hexano, éter etílico o éter de petróleo, preferiblemente hexano, y preferiblemente a temperatura ambiente de 25 a 30 °C, durante aproximadamente 1 hora.
- 45 (b) Filtración del producto obtenido con el fin de formar una torta de cacao desgrasada y el extracto de hexano o éter etílico o éter de petróleo, dependiendo del disolvente usado en la etapa (a);

(c) Secado bajo vacío, preferiblemente a una temperatura de 60 a 70 °C, para la eliminación completa de los disolventes residuales;

5 (d) Hidrólisis de la torta desgrasada obtenida en la etapa (b) con una base fuerte tal como una solución de hidróxido de amonio a una concentración entre el 16% y el 20%, para la obtención de un extracto hidrolizado. Con el fin de asegurar una mejor solubilización de la teobromina en la fase acuosa, la hidrólisis ha de llevarse a cabo a un pH en el intervalo de 9,5 a 10,5, asegurando así una recuperación mayor de teobromina;

(e) Agitación de la mezcla de (d) durante 1 hora a una temperatura de aproximadamente 25 a 30 °C, más preferiblemente a temperatura ambiente;

10 (f) Separación mediante decantador de tipo de centrifugación con el fin de asegurar una mayor recuperación del extracto acuoso y un tiempo menor para que tenga lugar el procedimiento;

(g) Extracción de la fase acuosa con diclorometano utilizando una centrífuga líquido-líquido a 6000 rpm con el fin de obtener una fase apolar. La extracción ha de ocurrir preferiblemente a un pH básico, de 9,5 a 10,5, observándose el intervalo de pH prefijado;

15 (h) Secado con sulfato sódico anhidro para la eliminación de cualquier traza de agua presente en la fase apolar; y

(i) Eliminación completa del disolvente contenido en la fase apolar para obtener un extracto de metilxantinas. Tal la eliminación puede realizarse mediante secado por destilación/estufa bajo vacío (presión de 400 mm de Hg) a una temperatura de 40 a 50 °C durante 4 horas, hasta la eliminación completa de diclorometano del mismo.

20 Como resultado, se obtiene un extracto de al menos 80% de pureza, con 60 a 70% de recuperación de principios activos.

De acuerdo con otra realización de la presente invención, el procedimiento comprende la etapa de centrifugación del extracto obtenido en la etapa (i) con un decantador de tipo centrífuga, preferiblemente para incrementar la purificación del extracto de metilxantina. Tal procedimiento es más simple en comparación con otros procedimientos de extracción ya conocidos, y es capaz de desconcentrar teobromina, recuperar subproductos, separar grasas y proteínas, usar disolventes conocidos y, especialmente, comenzar por residuos que normalmente son desechados.

25 El procedimiento descrito en el presente texto, además de reutilizar un material que generalmente se desecharía o se incineraría, como son las tortas de cacao y/o cupuazú, recupera totalmente el disolvente usado en la etapa de extracción que se puede reutilizar (i) concentrando el extracto obtenido en la etapa de filtración (ii) por destilación bajo vacío (400 mm de Hg) de dicho extracto que contiene el disolvente a una temperatura de 30 a 35 °C. Así pues, se describe la recuperación del disolvente apolar utilizado en la etapa de extracción de cacao y/o de la torta cupuazú.

35 La presente invención se refiere además a la obtención de proteínas crudas de cacao mediante las etapas de acidificación del extracto acuoso obtenido en la etapa (vii) con la adición de un ácido a un pH entre 2,5 y 3,2 bajo agitación constante, preferiblemente con la adición de ácido sulfúrico; centrifugación de la mezcla obtenida usando una bolsa de 5 – 3 µm para recoger el extracto que contiene proteínas crudas de cacao; y secado por pulverización con el fin de obtener proteínas crudas de cacao.

La presente invención se refiere además a un procedimiento para la preparación de una composición cosmética que contiene el extracto de metilxantinas obtenido por el procedimiento descrito anteriormente para su uso como agente lipolítico en el tratamiento y/o prevención de grasas localizadas y celulitis.

40 Además, en pruebas con animales, la administración tópica de extracto de semillas de cacao que contienen 0,017% y 0,208% de cafeína y teobromina, respectivamente, y cafeína y teobromina, a una concentración de 10 mM, fue efectiva en la prevención de la "deformación de las arrugas inducida por luz UVA a la dosis de 13,0 J/cm² en un estudio de 15 semanas (Mitani et al, 2007)".

EJEMPLOS DE LA INVENCION.

45 El extracto de plantas del género *Theobroma* tales como cacao y/o cupuazú obtenido mediante el procedimiento de la presente invención se puede utilizar en varios productos cosméticos. Los ejemplos principales de productos que pueden ser preparados a partir del extracto de cacao obtenido de acuerdo con la presente invención, o de composiciones cosméticas y farmacéuticas que comprenden dicho extracto, son:

- Bálsamo para rostro y cuerpo

50 ▪ Bálsamo para después del afeitado

- Bálsamo para después de la depilación

- Lápiz labial o brillo de labios;
- Gel de rostro y cuerpo.
- Leche corporal hidratante.
- Leche hidratante para el rostro.
- 5 ▪ Crema hidratante para el cuerpo.
- Loción hidratante para el rostro.
- Productos para el cuero cabelludo.
- Protectores solares o bloqueadores para uso de adultos y niños, sean o no dirigidos al uso al mismo tiempo para la práctica deportiva.
- 10 ▪ Productos hidratantes para rostro y cuerpo.
- Productos anti-edad para rostro y cuerpo.
- Productos reafirmantes para rostro y cuerpo.
- Productos autobronceadores.
- Productos repelentes de insectos.
- 15 ▪ Productos humectantes para rostro y cuerpo para la iluminación de la piel.
- Preparados farmacéuticos para administración tópica.
- Preparados cosméticos para rostro y cuerpo para uso infantil.
- Preparados cosméticos de acción localizada, específicos para el área peri-ocular, contorno de los labios, labios, anti-manchas, cremas antisombras para ojos y similares.
- 20 ▪ Productos anti-acné.
- Productos para la iluminación de la piel.
- Composiciones farmacéuticas para el tratamiento de dermatosis específicas.
- Lápices labiales y bases de cera.
- Coloretos blush y bases pigmentadas.
- 25 ▪ Polvos faciales.
- Y cualquier producto para maquillaje de la zona de los ojos.

Composiciones cosméticas y farmacéuticas.

- 30 Las composiciones cosméticas y farmacéuticas que comprenden el extracto de plantas del género *Theobroma* de la presente invención pueden también comprender algunos de los ingredientes ya conocidos de la técnica anterior, tales como emolientes, filtros solares, y vehículos.

Las composiciones cosméticas y farmacéuticas comprenden un extracto de cacao o cupuazú y un portador adecuado (vehículo). Preferiblemente, las composiciones de la presente invención comprenden también un polifenol.

Emolientes.

- 35 Los emolientes juegan papeles diversos en las composiciones cosméticas, entre otros agregar o reemplazar los lípidos y aceites de origen natural en la piel, solubilizar filtros solares, conferir una mejor extensibilidad en la administración del producto, modificar el tacto, etc.

- 40 Como emolientes a añadir a la composición de la presente invención, se pueden utilizar lípidos convencionales tales como, por ejemplo, aceites, ceras, lípidos y otros ingredientes insolubles en agua y lípidos polares que son lípidos modificados para aumentar su solubilidad en agua por esterificación de un lípido para dar un resto hidrófilo tal como, por ejemplo, grupos hidroxí, grupos carbonilo, entre otros. Algunos compuestos que pueden usarse como emolientes son aceites de origen natural y los derivados de plantas, ésteres, aceites de silicona, ácidos grasos poliinsaturados, lanolina y sus derivados. Algunos aceites de origen natural que pueden ser utilizados se derivan de semillas de

albaricoque, semillas de sésamo, habas de soja, cacahuete, coco, oliva, manteca de cacao, almendras, aguacate, carnauba, semilla de algodón, salvado de arroz, hueso de melocotón, hueso de mango, jojoba, nueces de macadamia, café, semillas de uva, semillas de calabaza, entre otros, y sus mezclas.

5 Algunos éteres y ésteres pueden también servir como emolientes, tales como, por ejemplo, los ésteres de alquilo C₈-C₃₀ de ácidos carboxílicos C₈-C₃₀, diol C₁-C₆ monoésteres y diésteres de ácidos carboxílicos C₈-C₃₀, monoésteres de sacarosa de alcoholes C₁₀-C₂₀ y combinaciones de los mismos. Ejemplos de estos compuestos son el éter dicaprílico, lactato de cetilo, palmitato de isopropilo, carbonato de dicaprílico, benzoato de alquilo C₁₂₋₁₅, miristato de isopropilo, isononato de isopropilo, palmitato de sacarosa, oleato de sacarosa, lactato de isoestearilo, behenato de glicerilo, triglicerol-4 isoestearato, ácido carboxílico de lauril pirrolidona, triacetato de pantenilo, y combinaciones de los mismos.

15 Las siliconas también actúan como emolientes en las composiciones cosméticas y farmacéuticas de la presente invención. Algunos ejemplos de silicona que puede añadirse a dichas composiciones son: aceites de silicona volátiles y no volátiles tales como, por ejemplo, ciclometicona, alquildimeticonas, dimeticona-copolioles, dimeticonoles, feniltrimeticonas, caprilil trimeticonas, siliconas aminofuncionales, siliconas modificadas con fenilo, feniltrimeticonas, siliconas modificadas con alquilo, dimetil y dietil polisiloxano, alquil C₁-C₃₀ polisiloxano mixto, dimetil siloxanos, polidimetilsiloxano, α-metil-ω-metoxipolimetilsiloxano, polioxidimetilsilileno, aceite de polidimetil silicona y combinaciones de los mismos o elastómeros de silicona como polímero cruzado de ciclometicona y dimeticona, polímero cruzado de vinil dimeticona y dimeticona, polímero cruzado de dimeticona y dimeticona y polímero cruzado de ciclopentasiloxano y dimeticona.

20 También pueden utilizarse otros alcoholes grasos, éteres de mono-, di- o triglicéridos que tienen una naturaleza lipófila tal como dicaprilil éter, en adición a hidrocarburos sintéticos y de origen natural, carbonatos orgánicos, tales como carbonato de dicaprílico, algunos tipos de siliconas tales como ciclometicona y mezclas de los mismos.

Además, se pueden utilizar también varios compuestos de origen natural como emolientes, tales como, por ejemplo, cera microcristalina, cera de carnauba, la manteca de karyté, cera de abejas, cera de ozoquerita, entre otros.

25 Filtros solares.

Para filtrar la radiación ultravioleta, pueden añadirse agentes de protección solar que pueden ser hidrosolubles o liposolubles.

30 Algunos ejemplos de filtros que absorben rayos ultravioleta que son útiles para ser añadido a la composición cosmética de la presente invención son: camforbencilideno y sus derivados, camforisofthalideno y camfortereftalideno, y sus derivados, ácido cinámico y sus ésteres, ácido salicílico y sus ésteres, ácido benzoico y sus ésteres, ácido p-aminobenzoico y sus derivados tales como sus ésteres, hidroxibenzofenonas sustituidas, dibenzoilmetano sustituido, benzotriazol y algunos derivados tales como 2-arilbenzotriazol, 2-arilbenzimidazol, 2-arilbenzofuranos, 2-arilbenzoxazol, 2-arilindol, mono-fenilcianoacrilatos, difenilcianoacrilatos, entre otros filtros ultravioleta conocidos en el estado de la técnica.

35 Algunos filtros solares útiles en la presente invención son compuestos orgánicos, por lo general poco solubles en agua tales como los derivados de triazina (por ejemplo, compuestos de hidroxifeniltriagina o derivados de benzotriazol), algunas amidas tales como las que contienen un grupo vinilo, derivados del ácido cinámico, bencimidazoles sulfonados, difenilmalonitrilos, oxalilamidas, derivados del alcanfor, derivados del ácido salicílico tales como salicilatos de 2-etilhexilo, homosalatos y salicilatos de isopropilo, difenilacrilatos, derivados de benzofenona tales como benzofenona-2, benzofenona-3, y benzofenona-4, PABA tales como 4-dimetilamino-benzoato de 2-etilhexilo, y otros filtros solares comúnmente añadidos a composiciones de productos para la protección solar.

45 Además del ejemplo citado anteriormente, hay otros ingredientes preferidos que sirven para este fin, tales como: metil sulfato de N, N, N-trimetil-4-(2-oxoborn-3-ilidenmetil)anilinio; ácido 3, 3'-(1,4-fenilendimetil) bis (7,7-dimetil-2-oxo-biciclo-(2.2.1) 1-heptilmetanosulfónico y sus derivados; 1-(4-terc-butilfenil)-3-(4- metoxifenil) propano-1, 3-diona; ácido α-(2-oxoborn-3-iliden) tolueno-4-sulfónico y sus sales de potasio, sodio y trietanolamina; 2-ciano-3,3'-difenilacrilato de 2-etilhexilo; 4-metoxicinamato de 2-etoxietilo; 2, 2'-dihidroxi-4-metoxibenzofenona; antranilato de metilo; salicilato de trietanolamina; 2,2',4,4' tetrahidroxibenzofenona; ácido 2-fenilbenzimidazol-5-sulfónico y sus sales de potasio, sodio y trietanolamina; 4-metoxicinamato de 2-etilhexilo; 2-hidroxi-4-metoxibenzofenona (oxibenzona); ácido 2-hidroxi-4-metoxibenzofenona 5-sulfónico y sus sales de sodio (sulisobenzona y sodio sulisobenzona); ácido 4-aminobenzoico PABA; salicilato de homomentilo; polímero de N-((2 e 4) [(2 oxoborn-3-ilideno)metil]bencil}acrilamida; dióxido de titanio (con o sin un recubrimiento lipófilo); N-etoxi-4-aminobenzoato de etilo; 4-dimetilaminobenzoato de 2-etilhexilo; salicilato de 2-etilhexilo; 4-metoxicinamato de isopentilo; 3-(4'-metilbencilideno)-d-1-alcanfor; 3-benciliden alcanfor; 2, 4, 6-trianilin- (p-carbo-2'-etil-hexil-1'-oxi) -1,3,5-triazina octilo, óxido de zinc (con o sin un recubrimiento lipófilo); 2-(2H-benzotriazol-2-il) -4-metil-6- {2-metil-3- (1,3,3,3-tetrametil-1-((trimetilsilil)oxi) disiloxanil) propil} fenol; ácido benzoico; 4,4'- [[6-[[4 -[[[(1,1-dimetil-etil) amino] carbonil] fenil] amino] -1,3,5-triazina-2,4-diil] diimino]bis,bis (2 etilhexilo); 2,2'-metilen-bis-6-(2H-benzotriazol-2-il)-4-(tetrametil butil) -1,1,3,3-fenol; metilen bis-benzotriazolil tetraetil butil fenol; sal monosódica de ácido 2, 2'-bis-(1,4- fenilen-1H bencimidazol-

4,6-disulfónico; (1,3,5) triazina-2,4-bis[[4-(2-etil-hexiloxi)-2-hidroxi]-fenil]-6-(4-metoxifenilo); bis-etilhexiloxifenol metoxifenil triazina; metilen bis-benzotriazolil tetrametilbutilfenol; metoxidibenzoilmetano, 2-etilhexil p-metoxicinamato de butilo, metilen bis-benzotriazolil tetrametilbutilfenol, 4-butyl-4-metoxidibenzoilmetano, benzofenona 3, bis-etilhexiloxifenol metoxifenil triazina, octiltriazona, dióxido de titanio, cloruro de cinamidopropiltrimonio, dimetilpabamidopropil laurdimonio tosilato.

Sin embargo, hay otros filtros solares que pueden actuar también protegiendo la piel, tales como el óxido de hierro, dióxido de titanio, dióxido de titanio en combinación con simeticona, óxido de zinc, compuestos de mono- o policarbonilo tales como isatina, aloxano, ninhidrina, gliceraldehído, aldehído mesotartárico, glutaraldehído, derivados de pirazolin-4,5-diona o de 4,4-dihidroxipirazolin-5-ona, metilgloxal, dialdehído 2,3-dihidroxisuccínico, dialdehído 2-amino-3-hidroxisuccínico y dialdehído 2-benzilamino-3-hidroxisuccínico.

Vehículos, diluyentes o portadores.

El agua es la base para una diversidad de posibilidades de composiciones cosméticas preparadas a partir del complejo antioxidante ya descrito, actuando como vehículo para los demás adicionales. Las composiciones de la presente invención comprenden preferiblemente agua desmineralizada o destilada en un porcentaje adecuado (q. s.: cantidad suficiente) para llegar al 100% de la fórmula basada en el peso total de la presente composición. Obviamente, se pueden usar otros vehículos aceptables cosméticamente en la presente invención. En los ejemplos de composición que se describirán más adelante, también se pueden utilizar como vehículo alcohol etílico de 96 °GL, vehículos oleosos (aceites en general, ceras y mantecas), vehículos siliconados, y similares.

Otros ingredientes adicionales.

Con el fin de proporcionar las composiciones cosméticas y farmacéuticas de la presente invención con algunas características deseables no conferidas por los ingredientes ya mencionados, se pueden añadir algunos de los ingredientes opcionales que son compatibles con las propiedades de los mismos. Algunos de esos compuestos que se pueden añadir a dichas composiciones son los siguientes:

- Principios activos (encapsulados o no): pueden ser lipófilos o hidrófilos, tales como extractos de algas, extractos de plantas, una combinación de palmitoil hidroxipropil trimonio aminopectina, polímero cruzado de glicerina, lecitina y extracto de semilla de uva, alfa- bisabolol (principio activo antiinflamatorio), D-pantenol (principio activo acondicionante), goma 2 de disacárido y goma 3 de disacárido y otros principios activos añadidos normalmente a composiciones de productos para uso tópico.

- Bacteriostáticos, bactericidas o antimicrobianos.
- Agentes emulsionantes tales como cetilfosfato potásico, y similares.
- Agentes estabilizantes tales como cloruro de sodio, y similares.
- Agentes secuestrantes, tales como ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y sus sales, y similares.
- Agentes de ajuste del pH tales como trietanolamina, hidróxido sódico, y similares.
- Agentes conservantes tales como fenoxietanol, cocoato de PEG-5 y dicocoato de PEG-8 y yodopropinil butilcarbamato e PEG-4, y similares.

- Colorantes de origen natural o sintético.
- Agentes espesantes tales como goma de xantano y carbómero, y similares.
- Extractos de plantas: manzanilla, romero, tomillo, caléndula, extracto de zanahoria, extracto de enebro, extracto de genciana, extracto de pepino, y similares.

- Agentes acondicionantes de la piel.
- Y otros ingredientes cosméticamente aceptables, que son compatibles con el complejo antioxidante de la presente invención.

Ejemplos de composición cosmética.

Los siguientes ejemplos son variaciones preferentes de las composiciones que comprenden el complejo antioxidante de la presente invención y no se interpretarán como una limitación de la misma. En este sentido, se debe entender que el alcance de la presente invención abarca otras posibles modificaciones, sólo limitado por las reivindicaciones adjuntas, incluyendo todos posibles equivalentes en la misma.

Ejemplos de composición cosmética.

Gel:

- | | | |
|----|---|-------|
| | Goma de xantano | 1,0% |
| | EDTA | 0,1% |
| 5 | Extracto de cacao enriquecido | 0,3% |
| | Alcohol etílico | 3,0% |
| | BHT | 0,05% |
| | Fenoxietanol | 0,7% |
| | Agua desmineralizada qsp | 100% |
| 10 | Emulsión: | |
| | Goma de xantano | 0,2% |
| | EDTA | 0,1% |
| | Glicerina | 3,0% |
| | Triglicéridos caprílico/cáprico | 4,0% |
| 15 | Cetil fosfato potásico | 2,5% |
| | Extracto de cacao enriquecido | 0,3% |
| | BHT | 0,05% |
| | Fenoxietanol | 0,7% |
| | Agua desmineralizada csp | 100% |
| 20 | Con el fin de ilustrar la eficacia de los extractos obtenidos mediante el procedimiento descrito en la presente solicitud, se han llevado a cabo varias pruebas de dosis de β -endorfinas (1 a 3). | |
| | Prueba 1: Dosificación de β -endorfina por el método enzimático en muestras de sobrenadante de cultivos de queratinocitos humanos. | |
| 25 | Con el fin de medir la concentración de β -endorfina humana en muestras de sobrenadante de cultivos de queratinocitos humanos, los cultivos de queratinocitos se incubaron a diferentes concentraciones del extracto obtenido de acuerdo con la presente invención. | |
| | Objeto: medir la concentración de β -endorfina humana en muestras de sobrenadante de cultivos de queratinocitos humanos. | |
| | Materiales usados: | |
| 30 | Kit " β -endorfina ELISA" fabricado por "MD Biosciences, Inc.", nº de catálogo EDRF-96, lote 424706-EX, fecha de caducidad 02/2007, para la cuantificación de péptidos específicos de β -endorfina y los relacionados con este, que contiene: | |
| | - Microplaca sensibilizada a anticuerpo secundario lista para uso. | |
| | - Plantilla de β -endorfina liofilizada, rehidratada con 1 ml de tampón de ensayo, concentración de 1000 ng/mL. | |
| 35 | - Control positivo liofilizado, reconstituido con 200 μ L de tampón de ensayo. | |
| | - β -Endorfina liofilizada biotinilada, reconstituida con 5 mL de tampón de ensayo. | |
| | - Suero de conejo anti β -endorfina liofilizado, reconstituido con 5 mL de tampón de ensayo. | |
| | - Concentrado de estreptavidina-peroxidasa, para usar diluido 1/1000 en tampón de ensayo. | |
| | - Solución Sustrato - TMB. | |
| 40 | - Tampón de ensayo concentrado 20 veces, para usar diluido en agua destilada. | |

- Ácido clorhídrico 2N.

- Péptidos utilizados en el kit: Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-Phe-Lys-Asn-Ala-Ile-Lys-Asn-Ala-Tyr-Lys-Lys-Gly-Glu.

Características del ensayo:

- 5 1. Intervalo: 0 a 100 ng/mL
2. Región de linealidad: 0,14 a 2,51 ng/mL
3. Precisión: variación intra-ensayo: < 5%; variación inter-ensayos: < 14%
4. Especificidad: muestra los siguientes grados de reactividad cruzada:
- i. 100% β -endorfina humana
 - 10 ii. 100% β -endorfina de rata
 - iii. 100% Ac- β -endorfina humana
 - iv. 0% Met-enkefalina humana
 - v. 0% Leu-enkefalina humana

Kit de extracción "Phenomenex" lote S201-35 que contiene:

- 15 _ "STRATA C-18-E" (columna de extracción)
- _ Tampón A: ácido tricloroacético (ATF) en agua.
- _ Tampón B: acetonitrilo 60% en ácido tricloroacético al 1%.

Procedimiento del ensayo

- 20 A) Extracción de β -endorfina a partir del sobrenadante de cultivo de células, de acuerdo con las instrucciones del fabricante.
- 1. El sobrenadante de cultivo de queratinocitos humanos se repartió en partes en alícuotas y se almacenó a -70 °C, hasta su uso.
 - 2. Una parte alícuota de cada muestra se descongeló, se homogeneizó, y se acidificaron 400 mL con el mismo volumen de tampón A, se homogeneizaron y centrifugaron a 10.000 g durante 20 minutos a 4 °C.
 - 25 3. Una columna C-18 se equilibró una vez con tampón B y tres veces con tampón A.
 - 4. La muestra se cargó en la columna, y después la columna se lavó dos veces con tampón A y se eluyó con tampón B.
 - 5. El material eluido se evaporó en un concentrador "speedVac", y los tubos de ensayo se almacenaron a -20 °C hasta su uso.
- B) Dosificación de β -endorfina, llevada a cabo de acuerdo con las instrucciones del fabricante.
- 30 1. Se llevó a cabo la resuspensión de la muestra deshidratada al volumen inicial con tampón de ensayo.
 - 2. Se diluyó la plantilla con el fin de obtener concentraciones de 100, 10, 1, 0,1 y 0,01 ng/mL de β -endorfina.
 - 3. 50 μ L de cada dilución de la plantilla, el control y las muestras se pipetearon en la microplaca. Un pocillo se dejó vacío para el blanco de la reacción y uno se llenó de tampón para dilución para el punto cero de la curva.
 - 4. 25 μ L de anti- β -endorfina de conejo se pipetearon en los pocillos excepto el blanco del pocillo de reacción.
 - 35 5. 25 μ L de β -endorfina biotinilada se pipetearon en cada pocillo excepto el blanco del pocillo de reacción.
 - 6. La placa se cubrió y se incubó durante 2 horas a temperatura ambiente.
 - 7. La placa se burbujeó seis veces con tampón de ensayo, excepto el pocillo del blanco.
 - 8. La placa se volvió boca abajo sobre papel absorbente para eliminar cualquier líquido.
 - 9. 100 μ L de estreptavidina-peroxidasa se pipetearon en todos los pocillos, excepto el pocillo del blanco.

10. Se repitió el procedimiento del punto 7.
11. Se pipetearon 100 µL de TMB en todos los pocillos, incluido el pocillo del blanco.
12. Este se cubrió y se incubó durante una hora a temperatura ambiente.
13. Se pipetearon 100 µL de HCl 2 N en todos los pocillos, incluido el del blanco.

5 14. Se lee a 450 nm.

Resultados.

Se utilizaron algunas partes alícuotas para comprobar la variación intra-ensayo e inter-ensayos del método. El coeficiente de variación intraensayo fue el 8,3% y el coeficiente inter-ensayos 19,6%.

10 De acuerdo con el tratamiento pre-determinado de cultivos de queratinocitos, los datos obtenidos permiten definir el comportamiento del mismo en relación con la expresión de β-endorfina, como se representa en la Figura 1.

Prueba 2: Evaluación de la producción de β-endorfina en un cultivo de fibroblastos humanos.

En este ensayo se compararon muestras de cafeína y TC150905MX a diferentes concentraciones (0,038 µg/mL, 0,075 µg/mL, 0,150 µg/mL, 0,300 µg/mL y 0,600 µg/mL) y muestras de control, como se expone en la Tabla 1 a continuación:

15 Tabla 1 Concentraciones usadas (tiempo de incubación)

| Muestras | Concentraciones usadas | Tiempo de incubación |
|------------|------------------------|----------------------|
| Cafeína | 0,0038 | 48 h |
| | 0,075 | |
| | 0,150 | |
| | 0,300 | |
| | 0,600 | |
| TC150905MX | 0,0038 | 48 h |
| | 0,075 | |
| | 0,150 | |
| | 0,300 | |
| | 0,600 | |

Cultivos de células.

Para llevar a cabo los experimentos se usó una línea celular (cultivo puro/aislado) de fibroblastos humanos, edad adulta (madura), 6° pasaje.

20 Las células se cultivaron en placas de cultivo apropiadas (24 pocillos) en medio de cultivo específico, que contienen los suplementos requeridos para el mantenimiento y la proliferación de las células. Para ese propósito se sembraron 1×10^5 células/pocillo, alcanzándose la confluencia después de 48 horas de incubación, en una estufa húmeda, 5% de CO₂, 37 °C.

25 Después de la confluencia (aproximadamente el 80% del área total), se añadieron las muestras a evaluar, en las concentraciones apropiadas y previamente establecidas, de acuerdo con la tabla 1, dejando siempre un grupo como testigo o control (sin tratamiento), con fines comparativos en la evaluación de la eficacia. Las muestras se diluyeron previamente en el medio de cultivo apropiado.

30 Después de 48 horas de incubación (estufa húmeda, 5% de CO₂, 37 °C) con las muestras, se recogió el sobrenadante de los cultivos de células para evaluar la liberación de beta-endorfinas. También se evaluó y se tuvo en cuenta la posible citotoxicidad del compuesto. La evaluación fue solamente cualitativa, por análisis de la morfología y características de las células.

Cuantificación de la beta-endorfina.

La cuantificación de la producción de beta-endorfina por las células en cultivo se llevó a cabo por el método inmunoenzimático ELISA (ensayo inmunosorbente ligado a enzima), usando un kit apropiado para determinar beta-endorfina en muestras biológicas. Las muestras se evaluaron por cuadruplicado.

- 5 Analizando la figura 2 se observa que los cultivos de fibroblastos humanos que fueron incubados con las muestras de cafeína mostraron una mayor producción de β -endorfina en comparación con las muestras a la misma concentración de TC150905MX.

Prueba 3: Evaluación de la producción de β -endorfina en un cultivo de queratinocitos humanos.

- 10 En esta prueba se compararon muestras de cafeína y TC150905MX a diferentes concentraciones (0,038 $\mu\text{g/mL}$, 0,075 $\mu\text{g/mL}$, 0,150 $\mu\text{g/mL}$, 0,300 $\mu\text{g/mL}$ y 0,600 $\mu\text{g/mL}$) y muestras de control como se muestra en la Tabla 2 que sigue:

Tabla 2 Concentraciones usadas (tiempo de incubación)

| Muestras | Concentraciones usadas | Tiempo de incubación |
|------------|------------------------|----------------------|
| Cafeína | 0,0038 | 48 h |
| | 0,075 | |
| | 0,150 | |
| | 0,300 | |
| | 0,600 | |
| TC150905MX | 0,0038 | 48 h |
| | 0,075 | |
| | 0,150 | |
| | 0,300 | |
| | 0,600 | |

Cultivos de células.

- 15 Para llevar a cabo los experimentos de una línea celular (cultivo puro/aislado) de queratinocitos humanos, se usó el 7º pasaje, edad adulta (madura).

Las células se cultivaron en placas de cultivo apropiadas (24 pocillos) en medio de cultivo específico, que contienen los suplementos requeridos para el mantenimiento y la proliferación de las células. Para ese propósito se sembraron 1×10^5 células/pocillo, alcanzándose la confluencia después de 48 horas de incubación, en una estufa húmeda, 5% de CO_2 , 37 °C.

- 20 Después de la confluencia (aproximadamente el 80% del área total), se añadieron las muestras a evaluar, en las concentraciones apropiadas y previamente establecidas, de acuerdo con la tabla 2, dejando siempre un grupo como CONTROL (sin tratamiento), con fines comparativos en la evaluación de la eficacia. Las muestras se diluyeron previamente en el medio de cultivo apropiado.

- 25 Después de 48 horas de incubación (estufa húmeda, 5% de CO_2 , 37 °C) con las muestras, se recogió el sobrenadante de los cultivos de células para evaluar la liberación de beta-endorfina. También se evaluó y se tuvo en cuenta la posible citotoxicidad del compuesto. La evaluación fue solamente cualitativa, por análisis de la morfología y características de las células.

Cuantificación de la beta-endorfina.

- 30 La cuantificación de la producción de beta-endorfina por las células en cultivo se llevó a cabo por el método inmunoenzimático ELISA (ensayo inmunosorbente ligado a enzima), usando un kit apropiado para determinar beta-endorfina en muestras biológicas. Las muestras se evaluaron por cuadruplicado.

Analizando la figura 3 se observa que los cultivos de queratinocitos humanos que fueron incubados con las muestras de cafeína mostraron una mayor producción de β -endorfina en comparación con las muestras a la misma concentración de TC150905MX.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la obtención de extractos que contienen derivados de metilxantina a partir de tortas de plantas del género *Theobroma*, en el que el procedimiento comprende las siguientes etapas:
 - i. Extracción de la torta de plantas del género *Theobroma* con un disolvente apolar;
 - 5 ii. Filtración del producto obtenido en la etapa (i) para formar una torta desgrasada de plantas del género *Theobroma* y un extracto apolar;
 - iii. Secado bajo vacío de la torta desgrasada obtenida en (ii);
 - iv. Hidrólisis de la torta desgrasada y seca obtenida en la etapa (iii) con una base fuerte para obtener un extracto hidrolizado a pH de 9,5 a 10,5;
 - 10 v. Separación del producto resultante de la etapa (iv) por centrifugación;
 - vi. Extracción de la fase acuosa; y
 - vii. Eliminación completa del disolvente contenido en la fase apolar obtenida en la etapa (vi), para obtener un extracto de metilxantinas;
2. Procedimiento según la reivindicación 1ª, en el que dicho procedimiento comprende las etapas:
 - 15 i. Extracción de la torta de plantas del género *Theobroma* con hexano, éter etílico o éter de petróleo;
 - ii. Filtración del producto obtenido para formar una torta desgrasada de plantas del género *Theobroma* y el extracto en hexano o éter etílico o éter de petróleo;
 - iii. Secado bajo vacío, a una temperatura de 60 a 70 °C;
 - iv. Hdrólisis de la torta desgrasada obtenida en la etapa (ii) con solución de hidróxido amónico a una concentración entre el 16% y el 20% para obtener un extracto hidrolizado;
 - 20 v. Separación por decantador de tipo de centrifugación;
 - vi. Extracción de la fase acuosa con diclorometano utilizando una centrífuga líquido-líquido a 6.000 rpm con el fin de obtener una fase apolar; y
 - vii. Eliminación completa del disolvente contenido en la fase apolar para obtener un extracto de metilxantinas.
- 25 3. Procedimiento según la reivindicación 2ª, en el que la etapa de eliminación del disolvente se lleva a cabo por destilación y secado a una temperatura de 40 a 50 °C durante 4 horas.
4. Procedimiento para la obtención de proteínas crudas a partir de tortas de plantas del género *Theobroma*, en el que dicho procedimiento comprende los siguientes pasos:
 - i. Extracción de la torta de plantas del género *Theobroma* con un disolvente apolar;
 - 30 ii. Filtración del producto obtenido en la etapa (i) para formar una torta desgrasada de plantas del género *Theobroma* y un extracto apolar;
 - iii. Secado bajo vacío de la torta desgrasada obtenida en (ii);
 - iv. Hidrólisis de la torta desgrasada y secada obtenida en la etapa (iii) con una base fuerte para obtener un extracto hidrolizado a un pH de 9,5 a 10,5;
 - 35 v. Separación del producto resultante de la etapa (iv) por centrifugación;
 - vi. Extracción de la fase acuosa;
 - vii. Eliminación completa del disolvente contenido en la fase apolar obtenida en la etapa (vi), para obtener un extracto de metilxantinas;
 - viii. Acidificación del extracto acuoso obtenido en la etapa (vii) con la adición de un ácido a un pH entre 2,5 y 3,2 bajo agitación constante;
 - 40 ix. Centrifugación de la mezcla de la etapa (viii) para recoger el extracto que contiene dichas proteínas crudas; y
 - x. Secado del producto obtenido en (ix) con el fin de obtener proteínas crudas.

5. Procedimiento según la reivindicación 4ª, en el que dicho procedimiento comprende las etapas de:
- i. Extracción de la torta de plantas del género *Theobroma* con hexano, éter etílico o éter de petróleo;
 - ii. Filtración del producto obtenido para formar una torta desgrasada de plantas del género *Theobroma* y el extracto de hexano o éter etílico o éter de petróleo;
- 5 iii. Secado bajo vacío de la torta desgrasada obtenida en (ii), a una temperatura de 60 a 70 °C;
- iv. Hidrólisis de la torta desgrasada obtenida en la etapa (iii) con una solución de hidróxido amónico a una concentración entre el 16% y el 20% para obtener un extracto hidrolizado;
 - v. Separación por centrifugación de tipo decantador;
- 10 vi. Extracción de la fase acuosa con diclorometano usando una centrifuga líquido-líquido a 6.000 rpm para obtener una fase apolar;
- vii. Eliminación completa del disolvente contenido en la fase apolar para obtener un extracto de metilxantinas;
 - viii. Acidificación del extracto acuoso obtenido en la etapa (vii) mediante la adición de ácido sulfúrico a un pH entre 2,5 y 3,2 bajo agitación constante;
- 15 ix. Centrifugación de la mezcla de la etapa (viii) usando una bolsa de 5 - 3 µm para recoger el extracto que contiene dichas proteínas crudas; y
- x. Secado en secador de pulverización con el fin de obtener proteínas crudas.
6. Procedimiento según la reivindicación 5ª, en el que la etapa de eliminación del disolvente se lleva a cabo por dilución y secado a una temperatura de 40 a 50 °C durante 4 horas.
7. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1ª a 6ª, en el que dicho procedimiento comprende además la etapa de agitar la mezcla de la etapa (iv) durante 1 hora a una temperatura de aproximadamente 25 a 30 °C.
8. Procedimiento según la reivindicación 7ª, en el que dicho procedimiento comprende además, después de la etapa (vi), la etapa de secado con sulfato sódico anhidro, para la eliminación de cualquier traza de agua presente en la fase apolar.
9. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1ª a 8ª, en el que las plantas del género *Theobroma* son cacao y cupuazú.
- 25 10. Un procedimiento para preparar una composición cosmética, que comprende preparar un extracto que contiene derivados de metilxantina a partir de tortas de plantas del género *Theobroma*, en el que el procedimiento comprende los siguientes pasos:
- i. Extracción de la torta de plantas del género *Theobroma* con un disolvente apolar;
- 30 ii. Filtración del producto obtenido en la etapa (i) para formar una torta desgrasada de plantas del género *Theobroma* y un extracto apolar;
- iii. Secado bajo vacío de la torta desgrasada obtenida en (ii);
 - iv. Hidrólisis de la torta desgrasada y secada obtenida en la etapa (iii), con una base fuerte para obtener un extracto hidrolizado a un pH de 9,5 a 10,5;
- 35 v. Separación del producto resultante de la etapa (iv) por centrifugación;
- vi. Extracción de la fase acuosa;
 - vii. Eliminación completa del disolvente contenido en la fase apolar obtenida en la etapa (vi), y
 - viii. Adición de excipientes, vehículos, diluyentes y portadores aceptables cosméticamente.

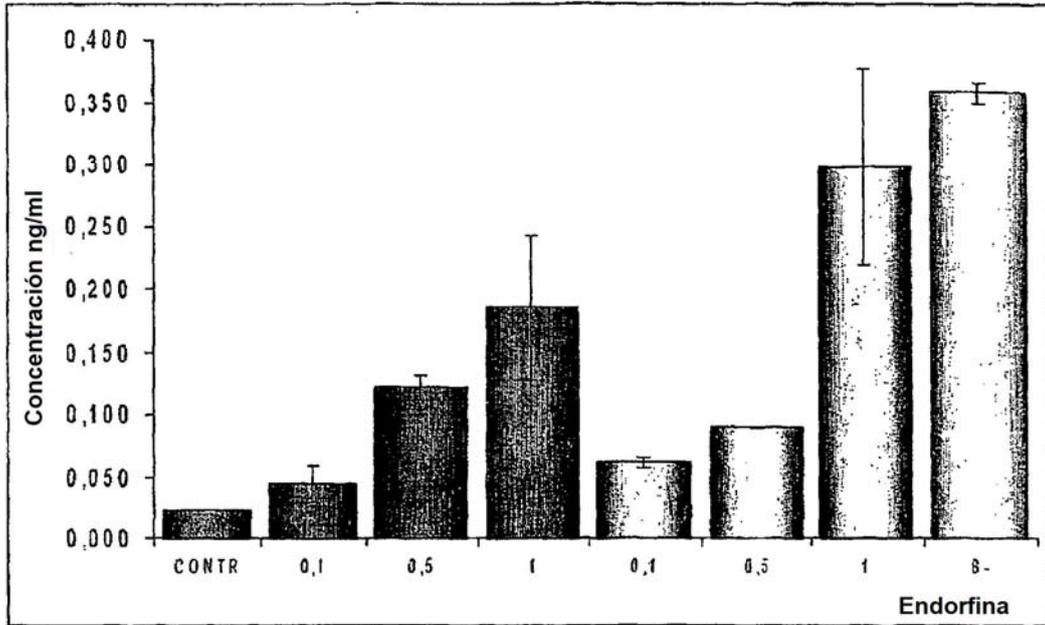


FIG. 1

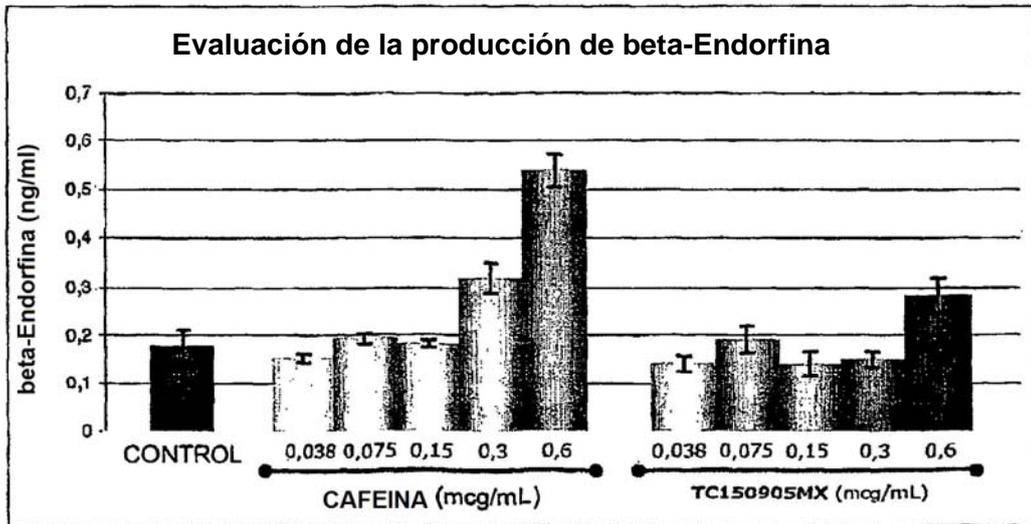


FIG. 2

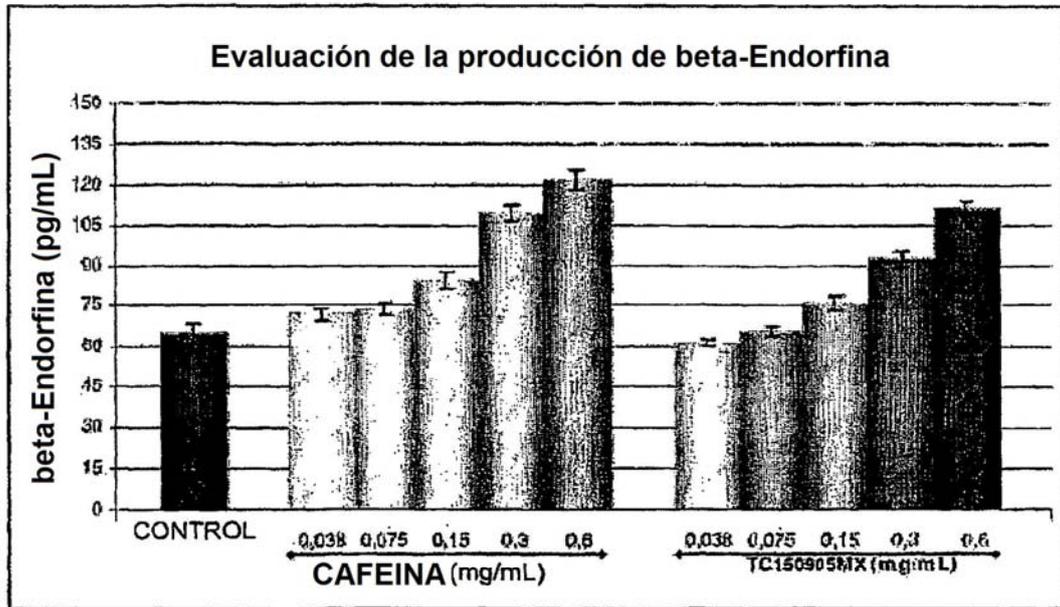


FIG. 3