

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 545 964**

51 Int. Cl.:

A61K 8/97 (2006.01)

A61Q 19/00 (2006.01)

A61K 36/66 (2006.01)

A61P 17/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.12.2008 E 08872355 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.05.2015 EP 2229145**

54 Título: **Utilización de un extracto de pétalos de amapola para la nutrición de la epidermis**

30 Prioridad:

11.12.2007 FR 0708617

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

17.09.2015

73 Titular/es:

**SOCIETE DE RECHERCHE COSMETIQUE
(100.0%)**

**7A, rue Robert Stümper
2557 Luxembourg, LU**

72 Inventor/es:

LECLERE, JACQUES

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 545 964 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

Utilización de un extracto de pétalos de amapola para la nutrición de la epidermis

5 La presente invención se refiere a extractos de pétalos de amapola en una composición para una utilización a título de medicamento dermatológico nutritivo.

10 La piel comprende varias capas integradas, que van desde la capa superficial, la epidermis (tejido epitelial), hasta capas más profundas, la dermis y la hipodermis (tejido conjuntivo), y cada una posee unas propiedades específicas que permiten al conjunto reaccionar y adaptarse a las condiciones de su entorno.

15 La epidermis, principalmente compuesta de queratinocitos (el 90% de las células epidérmicas), de melanocitos (del 2 al 3% de las células epidérmicas) y unas células de Langerhans, tiene un grosor variable según las diferentes partes del cuerpo. Debido a que constituye la capa externa de la piel, la epidermis desempeña un papel fundamental para asegurar la protección y el mantenimiento de una buena troficidad. Es por ello que se han desarrollado numerosas composiciones a fin de protegerla y mejorar sus funciones, y en particular reforzar su elasticidad y su firmeza.

20 La dermis, más gruesa, sólida, rica en nervios, en vasos sanguíneos y en glándulas sudoríparas, se compone principalmente de colágeno, de elastina y de proteoglicanos. Estos tres tipos de moléculas son sintetizadas por los fibroblastos dérmicos. Las fibras de colágeno, dispuestas en bandas entrecruzadas que representan el 70% del peso seco de la dermis, aseguran la resistencia mecánica y la textura de la piel, la elastina es responsable de la elasticidad, y los proteoglicanos desempeñan un papel mayor de estructura y de hidratación de la piel. Otras células como los macrófagos y los leucocitos están también presentes en la capa de la dermis.

25 La hipodermis, que es la capa más profunda de la piel, contiene los adipocitos que producen unos lípidos para que el tejido subcutáneo fabrique una capa grasa que protege los músculos, los huesos y los órganos internos contra los choques.

30 La evolución de las células dérmicas del tejido conjuntivo, en particular las células de colágeno y de elastina, se acompañan de una pérdida de elasticidad de la piel y de formación de arrugas y patas de gallo, después conlleva la aparición de marcas pigmentarias, la disminución del grosor de la piel y su flacidez. Numerosos factores tales como la exposición al sol, el entorno, en particular la polución y el frío, así como los radicales libres, tienen por efecto acelerar la degradación del colágeno de la dermis.

35 La capacidad de la piel para sustituir el colágeno dañado disminuye no sólo con el tiempo, sino también con factores del entorno y con el estado de estrés, y aparecen progresivamente unos espacios y unas irregularidades en la red del colágeno. A escala de la piel, se observa una disminución de las síntesis proteicas (colágeno, elastina), una disminución de la síntesis de los proteoglicanos, así como una elevación de las metaloproteinasas de tipo MMP3. Resulta de manera general una disminución de la capacidad de las células del tejido conjuntivo para renovarse y
40 para regular los intercambios de agua y de macromoléculas tales como los glúcidos, lípidos y proteínas.

45 Los queratinocitos, y de manera general las células eucariotas, deben asegurar su equilibrio homeoestático con el entorno tisular. Así, las células del organismo, en particular las células dérmicas, necesitan una aportación equilibrada de nutrimentos para poder funcionar correctamente. Además de los iones y de las vitaminas, las células necesitan unas macromoléculas que entran en la constitución celular.

50 Si la absorción de alimentos por vía oral y su asimilación por el organismo puede aportar a la hipodermis los nutrimentos que son necesarios para el crecimiento y para la regeneración celular, no es el caso para la dermis y, sobretudo, la epidermis, debido a la vascularización más débil de estas capas de la piel. Ahora bien, una nutrición insuficiente de la piel conlleva una pérdida de flexibilidad, de elasticidad y de tonicidad. Es por lo tanto deseable poder disponer de composiciones tópicas con efecto nutritivo de la piel que favorezcan el equilibrio fisiológico de la epidermis.

55 La patente FR 2.694.692 describe una composición para la nutrición de la piel que asocia unos ácidos grasos esenciales, unos oligoelementos y unos compuestos vitaminados. La patente FR 2.857.978 describe unas composiciones a base de extractos peptídicos de espirulina que presenta una actividad estimulante sobre las células de la dermis, utilizables para reestructurar, reafirmar e hidratar la piel. Según la patente FR 2.753.374, unas composiciones que asocian un aceite peroxigenado tal como el aceite de maíz y unos extractos vegetales, permiten reforzar los efectos de los extractos vegetales, en particular unos hidrolizados de cereales con acción nutritiva. La
60 patente IT 1243593 describe una loción fortificante antiarrugas preparada a partir de una infusión de hojas y de pétalos secados de rosa, amapola, salvia, romero y menta.

65 Sin embargo, a pesar de las diversas composiciones disponibles, existe todavía la necesidad de poder disponer de nuevas composiciones tópicas alternativas, y en particular unas composiciones tópicas a base de extractos vegetales susceptibles de tener unos efectos favorables sobre la nutrición celular.

La amapola (*Papaver rhoeas*) contiene readina, alcaloide de la serie de las tetrahydrobenzazepinas, que tiene supuestamente unas propiedades neurolépticas. Esta planta se ha descrito por poder ser utilizada en casos de eretismo cardiaco del adulto, como calmante en los adultos y los niños, y también para el tratamiento sintomático de la tos.

5 Unas composiciones que comprenden unos extractos de amapola (*Papaver rhoeas*) en asociación con unos extractos de loto azul (*Nymphaea caerulea*), que presentan unos efectos de inhibición de las contracciones musculares faciales, son descritas en la patente FR 2.871.382. Estos extractos son obtenidos a partir de las semillas de las plantas. Una composición farmacéutica administrable por vía oral a base de extractos de pétalos de amapola se ha propuesto en la patente GB 171920 para el tratamiento de la tuberculosis. Un estudio farmacotológico en el ratón ha mostrado que unos extractos de pétalos de amapola podrían tener un efecto sedativo a unas dosis elevadas (R. Soulimari *et al.*, "Medicinal and Aromatic Plants Abstracts", vol. 23 n° 5, oct. de 2001).

15 Los estudios efectuados por la solicitante han mostrado que unos extractos que provienen específicamente de los pétalos de amapola presentaban de manera asombrosa unas propiedades útiles actuando favorablemente sobre la nutrición celular.

La invención tiene por objeto la utilización de un extracto de pétalos de amapola (*Papaver rhoeas*) para la preparación de una composición dermatológica destinada a favorecer la nutrición, la estimulación del crecimiento y la regeneración celular dérmica y epidérmica.

20 Los estudios efectuados, como se describen a continuación, han puesto en evidencia, en efecto, interesantes propiedades de los extractos de pétalos de amapola (*Papaver rhoeas*) y más particularmente un efecto nutritivo sobre las células, que procura una actividad nutritiva, un efecto reparador que procura una actividad regeneradora y un efecto modulador de la actividad celular útil para estimular el crecimiento de las células. Estos efectos se han puesto en evidencia por la evaluación de la velocidad de transporte de macromoléculas tales como glúcidos, lípidos y proteínas, a nivel de los microsomas aislados y de los queratinocitos humanos normales.

30 Esta actividad permite evaluar el estado del metabolismo celular. La comunicación celular es una componente del metabolismo ya que, incluso si la síntesis de las macromoléculas está activada, una activación del flujo molecular entre los diferentes organitos y entre los medios extracelulares e intracelulares constituye una etapa importante del metabolismo celular.

35 Los microsomas membranarios son habitualmente utilizados para la exploración de los efectos de productos nuevos sobre el transporte celular y para la obtención de datos preliminares sobre las interacciones susceptibles de aparecer entre diferentes sustancias. Los microsomas de queratinocitos humanos constituyen una fracción membranaria, que puede ser obtenida por centrifugación diferencial a alta velocidad de un homogeneizado de células.

40 Los resultados descritos en detalle a continuación se obtuvieron *in vitro* utilizando un extracto de pétalos de amapola (*Papaver rhoeas*) a diversas concentraciones, y confirman que, en aplicación tópica, un extracto de pétalos de amapola presenta un efecto nutritivo y regenerador celular. Muestran en particular que, en un sistema acelar (efecto directo sobre los microsomas) y sobre un sistema celular (efecto sobre la célula antes de la separación de los microsomas), la velocidad de transporte de las macromoléculas (glúcidos, lípidos y proteínas) se aumenta de manera significativa, lo que tiene un efecto confirmado sobre la nutrición celular.

50 Se señala que los estudios efectuados sobre unos extractos de semillas de amapola (*Papaver rhoeas*), a diferencia de los pétalos, y más particularmente del mucílago, no han demostrado tal efecto nutritivo y regenerador celular. Las semillas contienen principalmente unas proteínas y readina mientras que los pétalos, y en particular el mucílago, contienen unos polisacáridos.

55 El extracto de pétalos de amapola de la invención es preferentemente un extracto acuoso, obtenido a partir de mucílago. Según un método preferido, los pétalos son extraídos mediante agua en pH ácido (4,6 - 6,6), lo que permite obtener las osas neutras, y después la decoloración. Así, el extracto es totalmente acuoso. Se puede conservar en presencia de un conservante autorizado para los productos biológicos (benzoato de sosa y sorbato de potasio).

El extracto de mucílago de pétalos de amapola se presenta en forma de un líquido que se caracteriza por:

- | | | |
|----|---------------------------------|------------------------------|
| 60 | - materias secas | del 0,5 al 2% |
| | - densidad | de 0,980 a 1,020 |
| | - índice de refracción (a 22°C) | de 1,320 a 1,350 |
| 65 | - contenido en osas neutras | del 15 al 45% (media de 40%) |

- pH (en contacto directo): de 4,6 a 6,6 (media de 5).

Las materias secas pueden representar del 0,5 al 2%, como se ha indicado anteriormente, pero lo más frecuentemente del 1,5 al 2%. El contenido en osas neutras se expresa con respecto a la materia seca.

El extracto de la invención descrito antes puede eventualmente estar concentrado y liofilizado.

Según una forma ventajosa de realización, el extracto de pétalos de amapola se completa por unos principios activos o ingredientes auxiliares seleccionados por sus propiedades complementarias, a fin de completar los efectos nutritivos celulares de la composición. Así, es particularmente ventajoso combinarlo con unas cantidades apropiadas de proteínas de semillas de amaranto (*Amarantus caudatus*) o unas globulinas de guisante a fin de obtener un efecto tensor de la piel, de aceite de *Calophyllum* a fin de reforzar el efecto antiarrugas, de *Imperata cylindrica*, por ejemplo MOIST 24[®] de la compañía Sederma, a fin de favorecer la hidratación de la piel por modificación de la presión osmótica, del aceite de *Echium* por su efecto antiinflamatorio, o también un palmitoil-pentapéptido-3 tal como el Matrixyl[®] o unos derivados tales como el palmitoil GHK (que posee la cadena Glicil-Histidil-Lisina) y el palmitoil GQPR (Glicil-Glutamil-Propil-Arginina) o el palmitoil VGVAPG (Valil-Glicil-Valil-Alanil-Propil-Glicina) asociado a una ceramida-2, así como, de manera general, cualquier combinación con una ceramida.

Puede ser particularmente ventajoso incorporar a las composiciones que contienen el extracto de pétalos de amapola de la invención unos principios activos de tipo lípidos, aminoácidos y glúcidos.

Por ejemplo, se pueden añadir unos lípidos tales como el aceite de Inca Inchi que contiene unos omega 3, 6 y 9, o aceite de borraja, de onagra, de rosa mosqueta, de ciruela o de cereza, o unos aceites que aportan unos ácidos grasos de origen natural, o también de manteca de semillas de *Cupuaçu* (*Theobroma longifolia*), rica en lípidos, en particular en ácido linoleico. Se puede también incorporar en la composición unos extractos peptídicos, unos hidrolizados proteicos o unos aminoácidos de origen natural. Los glúcidos que se pueden añadir a la composición se pueden seleccionar principalmente de entre la glucosa, el glicógeno y la trehalosa.

Los extractos de pétalos de amapola de la invención están más particularmente destinados a composiciones para administración por vía tópica externa, es decir una administración para una acción localizada directa, no sistémica, sin paso por el sistema sanguíneo, a diferencia de una administración oral.

Las composiciones según la presente invención se pueden presentar en cualquier forma galénica habitual adecuada para una aplicación tópica externa que comprende un soporte fisiológica y cosméticamente aceptable, es decir compatible con la piel.

Pueden comprender entre el 0,1% y el 10% en peso de extracto de pétalos de amapola, tal como se ha definido anteriormente, con respecto al peso total de la composición, y preferentemente entre el 0,5 y el 6% en peso. La selección de la dosis en la composición se puede realizar en función de la utilización considerada.

Las composiciones conformes a la presente invención pueden estar presentadas en todas las formas clásicamente utilizadas para una aplicación tópica, es decir en forma de solución acuosa o hidroalcohólica, de gel, loción emulsión (en particular crema o leche), barras para los labios, máscara, pomada, suero, parches transdérmicos, nanocápsulas o liposomas que contienen unos excipientes y soportes habituales compatibles y farmacéuticamente aceptables. Pueden también presentarse en forma de toallitas húmedas empapadas de una solución que contiene el extracto de pétalos de amapola. Estas formas de administración por vía tópica son preparadas mediante las técnicas conocidas, y por ejemplo en el caso de una crema, por dispersión de una fase grasa en una fase acuosa para obtener una emulsión aceite en agua, o a la inversa, para preparar una emulsión agua en aceite. En el caso de cremas, se prefieren utilizar unas emulsiones de estructura laminar que contienen pocos productos etoxilados o que no los contienen.

El extracto de pétalos de amapola de la invención se puede utilizar ventajosamente en una forma encapsulada en los liposomas. Según una técnica conocida en la fabricación de las composiciones cosméticas, los liposomas están constituidos por unas pequeñas esferas huecas, de diámetro generalmente inferior a 500 nm, cuya pared está formada de una doble capa de lípidos tales como unos glucolípidos o unos fosfolípidos, es decir de naturaleza parecida a la de la membrana celular, que facilita la penetración en la piel. Se pueden obtener por ejemplo por tratamiento con ultrasonidos de una mezcla de un soluto acuoso y de lípidos. Los lípidos (fosfolípidos o glucolípidos) se reorganizan en una configuración en la que la energía del conjunto es mínima, por lo tanto termodinámicamente más estable. Los liposomas se utilizan en la industria cosmética para suministrar unos compuestos en el interior de células cuando la vesícula se fusiona con la membrana plasmática.

Las composiciones tópicas según la invención pueden comprender por ejemplo unos excipientes apropiados para una administración tópica externa, en particular unos excipientes aceptables en el plano dermatológico y cosmetológico. Estos excipientes apropiados para la formulación son bien conocidos por el experto en la materia y comprenden en particular unos agentes de penetración tales como el etoxidifenol, el fitantriol, el octildodecanol y la escina; los espesantes tales como las gomas naturales y los polímeros de síntesis; los emolientes y los tensioactivos

tales como el octanoato de cetearilo, el miristato de isopropilo, el isononanoato de cetearilo, la dimeticona, la ciclometicona, el 3-diisoestearato de poliglicerilo, el poliisobuteno hidrogenado, el alcohol cetílico, el palmitato cetílico, el fosfato cetílico; los emulsionantes; los conservantes tales como el fenoxietanol, el para-hidroxibenzoato de metilo (metilparabeno), el parahidroxibenzoato de etilo (etilparabeno), el parahidroxibenzoato de propilo (propilparabeno) y el Phenonip[®] que asocia un fenoxietanol y unos parahidroxibenzoatos de metilo, etilo, butilo e isobutilo; los colorantes; los perfumes; etc.

Otros ingredientes pueden ser utilizados en las composiciones: los agentes hidratantes tales como el propilenglicol, la glicerina, el butilenglicol y también las vitaminas antioxidantes, tales como la vitamina E, por ejemplo el acetato de tocoferol o el tocotrienol, la vitamina C, los polifenoles naturales. Se pueden añadir también a la composición unos agentes acondicionadores de la piel tales como el nylon y el nitruro de boro.

Los ejemplos siguientes ilustran la invención más en detalle sin limitar su alcance. En todos los ejemplos de composiciones siguientes, las partes son expresadas en peso, salvo que se indique lo contrario.

Ejemplo 1

Siguiendo las técnicas clásicas, se prepara una leche desmaquillante que contiene un extracto de pétalos de amapola, que tiene la composición ponderal siguiente.

Fase A	
Glucósido de araquidilo	1,5
Glucósido de cetearilo	1,0
Alcohol behenílico	2,0
Manteca de Cupuaçu	1,0
Aceite de borraja	1,0
Triglicéridos cáprico/caprílico	3,0
Tocoferol	00,5
Fase B	
Agua desmineralizada	c.s.p. 100,0
Glicerina	3,0
Ácido fítico	0,2
Ácido deshidroacético	0,2
Benzoato de sodio	0,2
Goma de xantana	0,1
Fase C	
Extracto de pétalos de amapola	3,0
Agua de rosas	20,0

Los componentes de la fase A oleosa se mezclan a una temperatura de 70°C, después se añade la fase B acuosa previamente mezclada de manera homogénea a 70°C. Se añade después el extracto de pétalos de amapola y el agua de rosas a 40°C aproximadamente, después eventualmente un 0,05% de esencia de geranio trabajando a 37°C. El pH se ajusta a 5,5 - 6 por adición de potasa o de ácido cítrico.

El extracto de pétalo de amapola utilizado anteriormente es un extracto acuoso, obtenido mediante extracción por agua en pH ácido y después decoloración, siguiendo una técnica estándar.

La leche desmaquillante que tiene la composición indicada anteriormente se puede utilizar en aplicación sobre la cara, una a dos veces por día.

Ejemplo 2

Siguiendo las técnicas clásicas, se prepara una crema nutritiva que tiene la composición ponderal siguiente.

Fase A	
Lecitina hidrogenada + C ₁₀ -C ₂₀ alcohol (Biophilic H de Lucas Meyer)	4,0
Aceite de borraja	2,0

ES 2 545 964 T3

Aceite de Inca inchi	2,0
Aceite de ciruela	1,0
Macerado oleoso de caléndula	0,5
Manteca de Cupuaçu	3,0
Alcohol behenílico	2,0
Aceite de copra biológico	2,0
Tocoferol	0,7
Fase B	
<hr/>	
Agua desmineralizada	c.s.p. 100,0
Potasa	0,04
Fase C	
<hr/>	
Agua desmineralizada	c.s.p. 10,0
Ácido deshidroacético	0,1
Alcohol bencílico	0,5
Ácido fítico	0,1
Goma de xantana	0,1
Fase D	
<hr/>	
Glicógeno	1,0
Péptidos de semillas de amaranto	0,5
Agua de rosas	10,0
Extracto de pétalos de amapola	5,0

5 Los componentes de la fase A oleosa se mezclan a una temperatura de 75°C, se añade la fase B acuosa previamente mezclada de manera homogénea 75°C, y después la fase C tras la homogeneización a 50°C, y finalmente la fase D que contiene el extracto de pétalos de amapola a 45°C, después eventualmente un 0,02% de esencia de rosa, trabajando a 30°C.

El extracto de pétalos de amapola utilizado en la composición anterior es idéntico al del ejemplo 1.

10 Ejemplo 3

Se prepara una loción tónica que tiene la composición ponderal siguiente, mezclando sucesivamente los componentes indicados.

Agua de rosas	30,0
Agua de aciano	10,0
Extracto de pétalos de amapola	5,0
Extracto de flor de nenúfar	2,0
Extracto de raíz de malvavisco	1,0
Serina	0,02
Lisina	0,02
Glicocol	0,02
Glicerina	3,0
Alcohol bencílico	0,9
Ácido fítico	0,1

15 Ejemplo 4

Se prepara un suero activador de nutrición que tiene la composición ponderal siguiente.

A. Polvo	
<hr/>	
Liofilizado de extracto de pétalos de amapola	0,5

ES 2 545 964 T3

Manitol	0,5
B. Disolvente para 100 g	
Agua de rosas	c.s.p. 100,0
Glicocol	0,05
Trealosa	0,5
Glicógeno	1,0
Aceite de borraja	2,0
Benzoato de sodio	0,1
Sorbato de potasio	0,1
Glicerina	3,0
Ácido cítrico	0,1

El pH de la solución se ajusta a 5,5 aproximadamente mediante el ácido cítrico. El extracto de pétalos de amapola utilizado en la composición anterior es idéntico al del ejemplo 1.

5 Ejemplo 6

Efectos sobre los microsomas aislados

10 El estudio consiste en una evaluación de la velocidad de transporte de las macromoléculas (glúcidos, lípidos y proteínas) sobre unos microsomas aislados. El estudio se realizó utilizando unos sistemas de membranas separadas a partir de queratinocitos humanos, es decir unos microsomas, y unos marcadores radioactivos o fluorescentes. Los marcadores radioactivos [³H]-3-O-metil-glucosa y [³H]-colina se utilizaron para evaluar la velocidad de transporte de los glúcidos y de los lípidos, respectivamente, y el marcador fluorescente albúmina-FITC para las proteínas.

15 Protocolo experimental

Transporte de los glúcidos

20 El ensayo se lleva a cabo en triplicado después del tratamiento directo de microsomas sobre 8 lotes constituidos de la siguiente manera:

* lote 1: control negativo que no recibe ningún producto.

25 * lote 2: control positivo (inhibición por la floretina)

* lotes 3-5: tratados mediante el extracto de pétalos de amapola de la invención (3 concentraciones: 0,1%, 0,2% y 0,5%)

30 * lotes 6-8: tratados por la floretina y el extracto de la invención (3 concentraciones).

La floretina se utiliza a la concentración de 0,25 mM.

La velocidad del transporte de los glúcidos se evaluó de la siguiente manera:

35 Los microsomas obtenidos a partir de queratinocitos humanos en cultivo se aclararon tres veces con un tampón PBS sin glucosa, después de preincubaron en 1 ml del mismo tampón durante 30 minutos a 37°C. Después de la eliminación de la solución, los microsomas se ponen en el tampón PBS sin glucosa que contiene 3-O-metil-glucosa (MG) y [³H]-3-O-MG bajo agitación en baño maría a 37°C.

40 La captura del [³H]-3-O-MG se detiene por adición de 1 ml de PBS frío que contiene citocalasina B. La cinética de incubación se realiza entre 30 y 120 segundos.

45 Los microsomas son después aclarados dos veces con PBS, después disueltos en NaOH 1M a 4°C durante una noche. La radioactividad se mide mediante un contador de centelleo.

El tratamiento de los microsomas por los lotes definidos anteriormente se efectúa al mismo tiempo que la introducción de [³H]-3-O-MG en el medio de incubación.

50 El ensayo de las proteínas se realizó según el método de Bradford. El aumento de la absorbancia a 595 nm es proporcional a la concentración de las proteínas determinada con la ayuda de un espectrofotómetro.

Transporte de los lípidos

5 El ensayo se lleva a cabo en triplicado después de un tratamiento directo de los microsomas sobre 8 lotes constituidos de la siguiente manera:

* lote 1: control negativo que no recibe ningún producto.

10 * lote 2: control positivo (inhibición por la difenhidramina)

* lotes 3-5: tratados mediante el extracto de pétalos de amapola de la invención (3 concentraciones: 0,1%, 0,2% y 0,5%)

15 * lotes 6-8: tratados por la floretina y el extracto de la invención (3 concentraciones).

La difenhidramina se utiliza a la concentración de 1 mM.

20 La velocidad de transporte de los lípidos se evaluó mediante la misma técnica que anteriormente para los glúcidos, sustituyendo el tampón PBS sin glucosa por un tampón Tris 25 mM y el 3-O-MG por la [³H]-colina, siendo la captura de la colina detenida por adición de un tampón de lisis (50 mM de Tris, 140 mM de NaCl, 1,5 mM de MgSO₄, 0,5% de Igepal-Ca-630, 0,2% de SDS).

25 Como anteriormente, el tratamiento de los microsomas por los lotes definidos anteriormente se efectúa al mismo tiempo que la introducción de [³H]-colina en el medio de incubación.

Transporte de las proteínas (albúmina)

30 El ensayo se lleva a cabo en triplicado después del tratamiento directo de los microsomas sobre 8 lotes constituidos de la siguiente manera:

* lote 1: control negativo que no recibe ningún producto.

* lote 2: control positivo (inhibición por el nocodazol)

35 * lotes 3-5: tratados mediante el extracto de pétalos de amapola de la invención (3 concentraciones: 0,1%, 0,2% y 0,5%)

* lotes 6-8: tratados por la floretina y el extracto de la invención (3 concentraciones).

40 El nocodazol se utiliza a la concentración de 6 mg/ml

45 La velocidad de transporte de las proteínas se evalúa mediante la misma técnica que anteriormente para los glúcidos, sustituyendo el tampón PBS sin glucosa por un tampón HBSS y el 3-O-MG por la albúmina FITC, siendo la captura de la albúmina detenida por adición de una solución de Ringer (125 mM de NaCl, 5,4 mM de KCl, 1,2 mM de CaCl₂, 0,8 mM de MgCl₂, 0,8 mM de Na₂PO₄, 0,2 mM de NaHPO₄, 5,5 mM de glucosa, 10 mM HEPES, pH 7,4).

Los microsomas se tratan después mediante Triton X-100 (0,1% v/v en el ácido 3-N-morfolinopropanosulfónico, 20 mM, pH 7,4. La fluorescencia se mide por un espectrofluorómetro (excitación a 430 nm; emisión a 520 nm).

50 Como anteriormente, el tratamiento de los microsomas por los lotes definidos anteriormente se efectúa al mismo tiempo que la introducción de la albúmina FITC en el medio de incubación.

Resultados

55 Transporte de los glúcidos

Los resultados se reúnen en la tabla 1 siguiente:

Tabla 1

60

	captura du [³ H]-3-O-MG (nmol/mg de proteína)			
	30s	60s	90s	120s
Control negativo	13	19	23	27
Extracto de la Inv. (0,1%)	14	18	23	28

	captura de $[^3\text{H}]\text{-3-O-MG}$ (nmol/mg de proteína)			
	30s	60s	90s	120s
Extracto de la Inv. (0,2%)	13	19	24	28
Extracto de la Inv. (0,5%)	15	20	24	27

El extracto de la invención es el extracto de pétalos de amapola utilizado en la composición del Ejemplo 1.

5 Los resultados reunidos en la tabla anterior, obtenidos después del tratamiento directo de los microsomas de queratocitos por el extracto acuoso de la invención a las concentraciones de 0,1%, 0,2% y 0,5%, muestran que el extracto no conlleva ninguna inhibición de la velocidad del transporte de la glucosa.

10 La cinética de la captura de glucosa, en las condiciones fisiológicas, es en efecto prácticamente idéntica entre los microsomas control y los microsomas tratados por el extracto de la invención a las tres concentraciones estudiadas.

Los resultados reunidos en la tabla 2 siguiente muestran los efectos inhibidores conocidos de la floretina y el efecto del extracto de la invención.

Tabla 2

	captura de $[^3\text{H}]\text{-3-O-MG}$ (nmol/mg de proteína)			
	30s	60s	90s	120s
Control negativo	13	19	23	27
Floretina (0,25 mM)	8	10	12	12
Extracto de la inv. (0,1%)+floretina	9	15	21	23
Extracto de la inv. (0,2%)+floretina	10	16	22	25
Extracto de la inv. (0,5%)+floretina	11	18	22	26

15 Como lo muestran los resultados de la tabla 2, el tratamiento directo de los microsomas por la floretina inhibe fuertemente la velocidad de transporte de la glucosa. Por el contrario, el tratamiento por el extracto de pétalos de amapola de la invención, a las tres concentraciones ensayadas, en presencia de floretina, restablece la velocidad de transporte de la glucosa de manera significativa. Así, la velocidad de transporte de la glucosa está perfectamente restablecida por el extracto de la invención a pesar de la presencia del inhibidor floretina.

Transporte de los lípidos

25 Los resultados se reúnen en la tabla 3 siguiente:

Tabla 3

	captura de la $[^3\text{H}]\text{-colina}$ (pmol/mg de proteína)			
	30s	60s	90s	120s
Control negativo	165	210	272	312
Extracto de la inv. (0,1%)	188	222	278	321
Extracto de la inv. (0,2%)	174	220	286	331
Extracto de la inv. (0,5%)	202	252	291	321

30 El extracto de la invención es el extracto de pétalos de amapola utilizado en la composición del Ejemplo 1.

Los resultados reunidos en la tabla anterior, obtenidos después del tratamiento directo de los microsomas de queratocitos por el extracto acuoso de la invención a las concentraciones del 0,1%, 0,2% y 0,5%, muestran que el extracto no conlleva ninguna inhibición de la velocidad de transporte de los lípidos.

35 La cinética de la captura de la colina, en las condiciones fisiológicas, es, en efecto, prácticamente idéntica entre los microsomas control y los microsomas tratados por el extracto de la invención a las tres concentraciones estudiadas.

40 Los resultados reunidos en la tabla 4 siguiente muestran los efectos inhibidores conocidos de la difenhidramina (DPA) y el efecto del extracto de la invención.

Tabla 4

	captura de la [³ H]-colina (pmol/mg de proteína)			
	30s	60s	90s	120s
Control negativo	165	210	272	312
Difenhidramina DPA (0,25 mM)	83	115	141	153
Extracto de la inv. (0,1%) + DPA	112	132	163	195
Extracto de la inv. (0,2%) + DPA	124	142	179	208
Extracto de la inv. (0,5%) + DPA	132	152	198	210

5 Los resultados de la tabla 4 muestran que el tratamiento directo de los microsomas por la difenhidramina inhibe fuertemente la velocidad de transporte de los lípidos. Por el contrario, el tratamiento por el extracto de pétalos de amapola de la invención, a las tres concentraciones ensayadas, en presencia de difenhidramina, restablece la velocidad de transporte de los lípidos. Así, la velocidad de transporte de los lípidos está perfectamente restablecida por el extracto de la invención a pesar de la presencia del inhibidor difenhidramina.

10 Transporte de las proteínas

Los resultados se reúnen en la tabla 5 siguiente:

Tabla 5

15

	captura de la albúmina FITC (µg/mg de proteína)			
	30s	60s	90s	120s
Control negativo	0,51	0,64	0,76	0,96
Extracto de la inv. (0,1%)	0,52	0,66	0,78	0,95
Extracto de la inv. (0,2%)	0,56	0,71	0,83	0,96
Extracto de la inv. (0,5%)	0,62	0,74	0,86	0,97

El extracto de la invención es el extracto de pétalos de amapola utilizado en la composición del Ejemplo 1.

20 Los resultados reunidos en la tabla anterior, obtenidos después del tratamiento directo de los microsomas de queratinocitos por el extracto acuoso de la invención a las concentraciones del 0,1%, 0,2% y 0,5%, muestran que el extracto no conlleva ninguna inhibición de la velocidad de transporte de las proteínas.

25 La cinética de la captura de la albúmina, en las condiciones fisiológicas, es, en efecto, prácticamente idéntica entre los microsomas control y los microsomas tratados por el extracto de la invención a las tres concentraciones estudiadas.

Los resultados reunidos en la tabla 6 siguiente muestran los efectos inhibidores conocidos del nocodazol (ND) y el efecto del extracto de la invención.

30

Tabla 6

	captura de la albúmina FITC (µg/mg de proteína)			
	30s	60s	90s	120s
Control negativo	0,51	0,64	0,76	0,96
Nocodazol ND (0,25 mM)	0,31	0,49	0,54	0,63
Extracto de la inv. (0,1%) + ND	0,22	0,50	0,53	0,61
Extracto de la inv. (0,2%) + ND	0,39	0,53	0,58	0,72
Extracto de la inv. (0,5%) + ND	0,43	0,58	0,64	0,77

35 Los resultados de la tabla 6 muestran que el tratamiento directo de los microsomas por el nocodazol inhibe fuertemente la velocidad de transporte de los lípidos. Por el contrario, el tratamiento por el extracto de pétalos de amapola de la invención, a las tres concentraciones ensayadas, en presencia de nocodazol, restablece la velocidad de transporte de los lípidos. Sin embargo, no se observa ningún efecto a la concentración del 0,1%. Así, la velocidad de transporte de los lípidos está restablecida por el extracto de la invención a las concentraciones del 0,2% y 0,5%,

a pesar de la presencia del inhibidor nocodazol.

Ejemplo 7

5 Efecto sobre los queratinocitos humanos normales

El estudio consiste en una evaluación de la velocidad de transporte de las macromoléculas (glúcidos, lípidos y proteínas) sobre unos queratinocitos humanos normales.

10 Protocolo experimental

El método utilizado es el de los explantes, que permiten obtener a partir de una biopsia de la piel humana, unos cultivos primarios de queratinocitos. Los ensayos se llevaron a cabo en unos queratinocitos entre el 2º y el 4º paso a fin de asegurar una reproductibilidad entre los diferentes experimentos.

15 Los queratinocitos se repartieron en cajas multipocillos (6 pocillos) a razón de 10^5 células por pocillo en 1 ml de medio de cultivo KGM (Clonetics) suplementado por la insulina y la hidrocortisona. Las células se incubaron en presencia y en ausencia del extracto a estudiar.

20 Transporte de los glúcidos

El ensayo se lleva a cabo en triplicado después del tratamiento directo de los microsomas sobre 8 lotes constituidos como en el Ejemplo 5.

25 La velocidad de transporte de los glúcidos se evaluó de la siguiente manera:

El tratamiento de los queratinocitos por el extracto acuoso de pétalos de amapola de la invención, en presencia y en ausencia de floretina (0,25 mM) se efectuó durante 20 minutos a 37°C. Los microsomas membranarios se separaron por centrifugación diferencial.

30 Se utiliza el mismo protocolo de captura del [3 H]-3-O-metilglucosa que en el Ejemplo 5, para evaluar la velocidad de transporte de la glucosa.

35 Transporte de los lípidos

El ensayo se lleva a cabo en triplicado después del tratamiento directo de los microsomas sobre 8 lotes constituidos como en el Ejemplo 5.

40 La velocidad de transporte de los lípidos se evaluó de la siguiente manera:

El tratamiento de los queratinocitos por el extracto acuoso de pétalos de amapola de la invención, en presencia y en ausencia de difenhidramina (1 mM) se efectuó durante 120 minutos a 37°C. Los microsomas membranarios se separaron por centrifugación diferencial.

45 Se utiliza el mismo protocolo de captura de la [3 H]-colina que en el Ejemplo 5, para evaluar la velocidad de transporte de la colina.

Transporte de las proteínas (albúmina)

50 El ensayo se lleva a cabo en triplicado después del tratamiento directo de los microsomas sobre 8 lotes constituidos como en el Ejemplo 5.

La velocidad de transporte de las proteínas se evaluó de la siguiente manera:

55 El tratamiento de los queratinocitos por el extracto acuoso de pétalos de amapola de la invención, en presencia y en ausencia de nocodazol (1 mM) se efectuó durante 120 minutos a 37°C. Los microsomas membranarios se separaron por centrifugación diferencial.

60 Se utiliza el mismo protocolo de captura de la albúmina FITC que en el Ejemplo 5, para evaluar la velocidad de transporte de la albúmina.

Resultados

Transporte de los glúcidos

65 Los resultados se reúnen en la tabla 7 siguiente:

Tabla 7

	captura de [³ H]-3-O-MG (nmol/mg de proteína)			
	30s	60s	90s	120s
Control negativo	10	16	19	33
Extracto de la inv. (0,1%)	11	14	20	21
Extracto de la inv. (0,2%)	12	17	21	22
Extracto de la inv. (0,5%)	14	18	22	21

5 El extracto de la invención es el extracto de pétalos de amapola utilizado en la composición del Ejemplo 1.

Los resultados reunidos en la tabla anterior, obtenidos después del tratamiento de los queratinocitos normales por el extracto acuoso de la invención a las concentraciones del 0,1%, 0,2% y 0,5%, confirman que el extracto no conlleva ninguna inhibición de la velocidad de transporte de la glucosa.

10 La cinética de la captura de la glucosa, en las condiciones fisiológicas, es en efecto prácticamente idéntica entre los microsomas de los queratinocitos control y los microsomas de los queratinocitos tratados por el extracto de la invención a las tres concentraciones estudiadas.

15 Los resultados reunidos en la Tabla 8 siguiente muestran los efectos inhibidores conocidos de la floretina y el efecto del extracto de la invención.

Tabla 8

	captura de [³ H]-3-O-MG (nmol/mg de proteína)			
	30s	60s	90s	120s
Control negativo	10	16	19	23
Floretina (0,25 mM)	9	12	13	14
Extracto de la inv. (0,1%)+floretina	10	14	19	22
Extracto de la inv. (0,2%)+floretina	11	17	20	23
Extracto de la inv. (0,5%)+floretina	12	18	21	22

20 Como lo muestran los resultados de la tabla 8, el tratamiento directo de los queratinocitos normales por la floretina previamente a la separación de los microsomas inhibe fuertemente la velocidad de transporte de la glucosa. Por el contrario, el tratamiento por el extracto de pétalos de amapola de la invención, a las tres concentraciones ensayadas, en presencia de floretina, restablece la velocidad de transporte de la glucosa de manera significativa.

25 Así, la velocidad de transporte de la glucosa está perfectamente restablecida por el extracto de la invención a pesar de la presencia del inhibidor floretina.

Transporte de los lípidos

30 Los resultados se reúnen en la tabla 9 siguiente:

Tabla 9

	captura de la [³ H]-colina (pmol/mg de proteína)			
	30s	60s	90s	120s
Control negativo	161	195	221	237
Extracto de la inv. (0,1%)	173	189	219	240
Extracto de la inv. (0,2%)	181	190	223	237
Extracto de la inv. (0,5%)	191	205	228	241

35 El extracto de la invención es el extracto de pétalos de amapola utilizado en la composición del Ejemplo 1.

Los resultados reunidos en la tabla anterior, obtenidos después del tratamiento de los queratinocitos normales por el extracto acuoso de la invención a las concentraciones del 0,1%, 0,2% y 0,5%, previamente a la separación de los microsomas, muestran que el extracto no conlleva ninguna inhibición de la velocidad de transporte de los lípidos.

5 La cinética de la captura de la colina, en las condiciones fisiológicas, es en efecto prácticamente idéntica entre los microsomas de los queratinocitos control y los microsomas de los queratinocitos tratados por el extracto de la invención a las tres concentraciones estudiadas.

10 Los resultados reunidos en la Tabla 10 siguiente muestran los efectos inhibidores conocidos de la difenhidramina (DPA) y el efecto del extracto de la invención.

Tabla 10

	captura de la [³ H]-colina (pmol/mg de proteína)			
	30s	60s	90s	120s
Control negativo	161	195	221	237
Difenhidramina DPA (0,25 mM)	113	134	165	175
Extracto de la inv. (0,1%) + DPA	131	149	180	193
Extracto de la inv. (0,2%) + DPA	140	153	184	200
Extracto de la inv. (0,5%) + DPA	149	160	193	209

15 Los resultados de la tabla 10 muestran que el tratamiento de los queratinocitos normales por la difenhidramina, previamente a la separación de los microsomas, inhibe moderadamente la velocidad de transporte de los lípidos. Por el contrario, el tratamiento por el extracto de pétalos de amapola de la invención, a las tres concentraciones ensayadas, en presencia de difenhidramina, restablece la velocidad de transporte de los lípidos. Así, la velocidad de transporte de los lípidos está restablecida por el extracto de la invención a pesar de la presencia del inhibidor difenhidramina.

20 Transporte de las proteínas

Los resultados se reúnen en la tabla 11 siguiente:

25

Tabla 11

	captura de la albúmina FITC (µg/mg de proteína)			
	30s	60s	90s	120s
Control negativo	0,44	0,58	0,64	0,82
Extracto de la inv. (0,1%)	0,45	0,61	0,69	0,84
Extracto de la inv. (0,2%)	0,49	0,66	0,74	0,88
Extracto de la inv. (0,5%)	0,52	0,65	0,76	0,91

30 El extracto de la invención es el extracto de pétalos de amapola utilizado en la composición del Ejemplo 1.

Los resultados reunidos en la tabla anterior, obtenidos después del tratamiento de los queratinocitos normales, previamente a la separación de los microsomas, por el extracto acuoso de la invención, a las concentraciones estudiadas, muestran que el extracto no conlleva prácticamente ninguna inhibición de la velocidad de transporte de las proteínas.

35

La cinética de la captura de la albúmina, en las condiciones fisiológicas es idéntica a la concentración del 0,1%, y está sólo en débil aumento entre los microsomas de los queratinocitos control y los microsomas de los queratinocitos tratados por el extracto de la invención a las concentraciones del 0,2% y del 0,5%.

40 Los resultados reunidos en la Tabla 12 siguiente muestran los efectos inhibidores conocidos del nocodazol (ND) y el efecto del extracto de la invención.

Tabla 12

	captura de la albúmina FITC (µg/mg de proteína)			
	30s	60s	90s	120s

Control negativo	0,44	0,58	0,64	0,82
Nocodazol ND (0,25 mM)	0,19	0,42	0,46	0,57
Extracto de la inv. (0,1%) + ND	0,31	0,45	0,47	0,58
Extracto de la inv. (0,2%) + ND	0,32	0,49	0,58	0,71
Extracto de la inv. (0,5%) + ND	0,38	0,51	0,59	0,73

Los resultados de la tabla 12 muestran que el tratamiento de los queratinocitos normales por el nocodazol, previamente a la separación de los microsomas, inhibe la velocidad de transporte de las proteínas.

- 5 Por el contrario, el tratamiento por el extracto de pétalos de amapola de la invención, a las tres concentraciones ensayadas, en presencia de nocodazol, restablece la velocidad de transporte de los lípidos a las concentraciones del 0,2% y 0,5%, a pesar de la presencia del inhibidor nocodazol. Sin embargo, no se observa ningún efecto a la concentración del 0,1%.
- 10 Se constata por lo tanto que el tratamiento directo de los microsomas, al igual que el tratamiento de queratinocitos normales previamente a la especiación de los microsomas, no induce ninguna modificación de la velocidad de transporte de las macromoléculas en unas condiciones fisiológicas. Además, induce un aumento claro de la velocidad de transporte en condiciones de inhibición provocadas por unos inhibidores tales como la floretina, la difenhidramina y el nocodazol. Este efecto es particularmente importante en lo que se refiere al transporte de los
- 15 glúcidos.

Estos resultados ponen en evidencia el efecto nutritivo ejercido por el extracto de pétalos de amapola de la invención.

20

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición dermatológica para aplicación tópica, que comprende una cantidad eficaz de un extracto de pétalos de amapola (*Papaver rhoeas*) para una utilización a título de medicamento dermatológico para favorecer la nutrición, la estimulación del crecimiento y la regeneración celular dérmica y epidérmica.
2. Composición según la reivindicación 1, caracterizada por que comprende un extracto de mucílago de pétalos de amapola.
- 10 3. Composición según la reivindicación 1 o 2, caracterizada por que la concentración en extracto de pétalos de amapola está comprendida entre el 0,1% y el 10% con respecto al peso total de la composición.
- 15 4. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada por que el extracto de amapola (*Papaver rhoeas*) se presenta en forma de un líquido que se caracteriza por:
- materias secas del 0,5 al 2%
 - densidad de 0,980 a 1,020

20 - índice de refracción (a 22°C) de 1,320 a 1,350

 - contenido en osas neutras del 15 al 45% (media de 40%)
 - pH (en contacto directo): de 4,6 a 6,6 (media de 5).
- 25 5. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizada por que comprende además unos lípidos tales como el aceite de Inca Inchi, de borraja, de onagra, de rosa mosqueta, de ciruela o de cereza, o manteca de semillas de cupuaçu (*Theobroma longifolia*), unos extractos peptídicos, unos hidrolizados proteicos o unos aminoácidos de origen natural, o unos glúcidos seleccionados entre la glucosa, el glicógeno y la trehalosa.
- 30 6. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizada por que comprende además unas proteínas de semillas de amaranto (*Amaranthus caudatus*) o unas globulinas de guisante, aceite de *Calophyllum*, *Imperata cylindrica*, aceite de *Echium*, palmitoilpentapéptido-3 o derivados tales como el palmitoil GHK y el palmitoil GQPR o el palmitoil VGVAPG asociado a una ceramida-2, así como una ceramida.
- 35