

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 584 329**

51 Int. Cl.:

A61K 36/185 (2006.01) **A61K 36/15** (2006.01)
A61K 31/025 (2006.01) **A61K 36/324** (2006.01)
A61K 36/00 (2006.01)
A61K 36/05 (2006.01)
A61K 36/53 (2006.01)
A61K 36/73 (2006.01)
A61K 36/75 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
A61K 36/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.03.2011 E 11762282 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.04.2016 EP 2554177**

54 Título: **Utilización cosmética de aceite de Elemí para mejorar la piel áspera resultante del mal funcionamiento del ritmo circadiano**

30 Prioridad:

31.03.2010 JP 2010083016

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

27.09.2016

73 Titular/es:

**SHISEIDO COMPANY, LTD. (100.0%)
5-5, Ginza 7-chome, Chuo-ku
Tokyo 104-8010, JP**

72 Inventor/es:

**GOZU, YOKO;
HAZE, SHINICHIRO;
MORI, KEIKO y
UMISHIO, KENICHI**

74 Agente/Representante:

PONTI SALES, Adelaida

ES 2 584 329 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 cosmética de aceite de Elemí para mejorar la piel áspera resultante del mal funcionamiento del ritmo circadiano

5

Campo de la invención

[0001] La presente invención se refiere a la utilización cosmética de aceite de Elemí como modulador de la expresión para el gen clock Bmal y a un modulador del ritmo circadiano que lo comprende, tal como se describe en el presente documento.

10

Descripción de la técnica relacionada

[0002] Casi todos los organismos vivos de la Tierra tienen un "reloj biológico" interno que oscila de forma autónoma con un ciclo de aproximadamente 24 horas. El reloj biológico provoca una fluctuación diaria biológica llamada ritmo circadiano, que se considera que controla los cambios diurnos de varios fenómenos (actividades) biológicos/as, incluyendo no sólo los ciclos de sueño-vigilia de los organismos, sino también la temperatura corporal, presión sanguínea, secreción hormonal, metabolismo, así como actividades mentales y físicas, comer y similares. En los últimos años, se ha señalado que la perturbación del ritmo circadiano es un factor patogénico de diversos síntomas psicósomáticos o condiciones de enfermedad que incluyen trastornos del sueño, enfermedades de la piel, enfermedades relacionadas con el estilo de vida y trastornos neuropsiquiátricos, tales como la depresión y similares.

15

20

[0003] Como se ilustra en la figura 1, el reloj biológico es controlado por un sistema generador de ritmo que comprende un grupo de genes llamado "genes clock". En los mamíferos, el núcleo del mecanismo molecular del reloj es un bucle de retroalimentación compuesto por la promoción/supresión de los genes que codifican cuatro proteínas, CLOCK, BMAL1, PERIOD y CRYPTOCHROME. El ritmo circadiano es generado por la pulsación del bucle de retroalimentación con un ciclo de aproximadamente 24 horas.

25

[0004] Aunque el centro de control (reloj central) del ritmo circadiano se encuentra en el núcleo supraquiasmático del hipotálamo, se ha demostrado que los genes clock se expresan incluso en hígado, riñón, piel y otros tejidos periféricos, donde el ritmo circadiano se genera mediante un sistema similar. La expresión de los genes clock periféricos está regulada por señales del núcleo supraquiasmático. Además, se ha establecido que la expresión de los genes clock en los tejidos y las células periféricas está controlada directamente por factores estimulantes de señales como glucocorticoides, catecolaminas, angiotensina II y otros, para generar un ritmo fisiológico. En los últimos años, el ritmo circadiano de células cultivadas, tales como células fibroblásticas, se ha examinado mediante la inducción del ritmo circadiano de la expresión de genes clock in vitro para sincronizar el ritmo de expresión con los factores estimulantes, como glucocorticoides, forskolina, suero y los otros, y mediante la evaluación del ritmo circadiano utilizando su expresión como criterio (documentos que no son de patente 1, 2 y 3).

30

35

[0005] Los genes clock controlan directamente los ritmos de expresión de otros genes como factores de transcripción, y controlan indirectamente la expresión diurna de muchos más genes a través de la regulación de la secreción hormonal y similares. Ha quedado demostrado que la alteración de los ritmos de expresión de los genes clock en organismos provoca problemas de órganos del cuerpo o del sistema endocrino, dando lugar a diversas enfermedades que incluyen enfermedades relacionadas con el estilo de vida, tales como la hipertensión (documento que no es de patente 4). Por ejemplo, se ha descrito que una persona con obesidad muestra una expresión anormal de los genes clock, y también se han descrito asociaciones con la depresión y el cáncer. Además, se ha elucidado que los genes clock regulan el ritmo circadiano de diversas funciones fisiológicas de la piel. En un experimento usando células fibroblásticas normales de piel humana, se describió que el gen de colágeno de tipo I se expresa en un ritmo circadiano con un patrón de expresión similar al del gen clock Period 2 (documento que no es de patente 5).

40

45

50

[0006] Mediante la modulación de la expresión de los genes clock, es posible ajustar varios ritmos de comportamiento y los ritmos circadianos de las funciones fisiológicas de organismos vivos que están controlados por los genes clock. En consecuencia, existe una fuerte necesidad de desarrollar un agente que pueda modular la expresión de los genes clock.

55

[Documento que no es de patente 1]

[0007] H. Okamura, "Clock genes in Cell Clocks: Roles, Actions and Mysteries", Journal of Biological Rhythms, vol. 19, No. 5, pág. 388-399, 2004.

60

[Documento que no es de patente 2]

[0008] A. Balsalobre y otros, "A Serum Shock Induces Circadian Gene Expression in Mammalian Tissue Culture Cells", Cell, Vol. 93, pág. 929-937, 1998.

65

[Documento que no es de patente 3]

[0009] K. Yagita y otros, "Molecular Mechanisms of the Biological Clock in Cultured Fibroblasts", Science, vol. 292, pág. 278-281, 2001.

5 [Documento que no es de patente 4]

[0010] M. Hastings y otros, "Circadian clocks: regulators of endocrine and metabolic rhythms", Journal of Endocrinology, vol. 195, pág. 187-198, 2007.

10 [Documento que no es de patente 5]

[0011] K. Izumi y otros, "Gaijitsu rizumu wo motsu de hifuseiriidennshi sin tansaku (Análisis de los genes fisiológicos de la piel que tienen expresión del ritmo circadiano)," The Molecular Biology Society of Japan, 32ª Reunión Anual, Resumen 2P-0009, 2009.

15 [0012] Haji S. y otros se refiere a un promotor de la producción de colágeno que consiste en aceite esencial obtenido de la destilación al vapor de plantas seleccionadas de Sambucus nigra, Canarium luzonicum y el timo.

20 [0013] FR 2 916 333 se refiere a un proceso de cuidado cosmético de la piel, destinado a prevenir y/o tratar al menos un signo de envejecimiento de la piel, que comprende aplicar tópicamente a la piel una composición que contiene al menos un agente activo capaz de estimular la expresión de tensina 1, y se refiere también a un extracto de Elemí o Canarium indicum L. o Canarium luzonicum o Canarium común y a una composición cosmética que contiene dicho extracto.

25 DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

[0014] La presente invención es como se define en las reivindicaciones.

30 [0015] En vista de las circunstancias descritas anteriormente, el objetivo de la presente invención es proporcionar un agente que puede modular la expresión de un gen Bmal, que es un gen esencial de los relojes biológicos.

[0016] Los inventores han llegado a lograr la presente invención tal como se define en las reivindicaciones, ya que han encontrado que el aceite de Elemí tiene la propiedad de inducir los ritmos de expresión del gen clock Bmal y también de promover su expresión.

35 [0017] Un modulador de expresión para un gen Bmal según el uso de la presente invención comprende aceite de Elemí. Hasta ahora no se conocía en absoluto que el aceite de Elemí puede modular la expresión del gen clock. En la presente invención, la modulación de la expresión génica incluye no sólo la promoción de la expresión génica, sino también la modulación del ritmo de la expresión génica (fase o ciclo).

40 [0018] El modulador del ritmo circadiano para su uso según la presente invención comprende el modulador de expresión mencionado anteriormente para un gen Bmal. Como se ha descrito anteriormente, los genes clock controlan directa o indirectamente la expresión diurna de diversos genes implicados en la función de órganos del cuerpo y en el sistema endocrino. Mediante la modulación de la expresión de un gen Bmal, que es un gen esencial del reloj biológico, es posible regular varios ritmos de comportamiento del organismo vivo y ritmos circadianos de funciones fisiológicas que están bajo el control del gen.

45 [0019] Además, los inventores de la presente invención han encontrado en experimentos con células fibroblásticas de piel humana que el aceite de Elemí con actividad moduladora de la expresión del gen Bmal como se ha descrito anteriormente también puede modular la expresión del gen de la ácido hialurónico sintetasa (Has). Por lo tanto, se considera que el aceite de elemí como modulador de la expresión del gen Bmal de la presente invención puede mejorar la función de la piel mediante la regulación del ritmo circadiano de la producción de ácido hialurónico en la piel y mediante el aumento de su producción.

50 [0020] El modulador de la expresión del gen Bmal para su uso según la presente invención puede usarse solo o en combinación con un modulador de la expresión de otros genes clock. Por ejemplo, se puede usar en combinación con un modulador de la expresión de un gen Period, uno de los otros genes clock esenciales. En el sistema de generación de ritmo circadiano como se ilustra en la Figura 1, BMAL1, el producto de expresión de un gen Bmal, forma un heterodímero con CLOCK para promover la transcripción del gen Period, mientras que PERIOD (PER) expresado forma un heterodímero con CRYPTOCHROME (CRY) para suprimir las actividades de BMAL y CLOCK, de manera que se crea un bucle de retroalimentación que oscila con un período de 24 horas. En los mamíferos, los ritmos circadianos de los genes Bmal y Period se desarrollan con un desfase de aproximadamente 12 horas. La expresión de Bmal aumenta en el tiempo de la noche, mientras que la expresión de Period aumenta durante el día. Por lo tanto, se considera que el ritmo circadiano puede ser modulado de manera más eficiente mediante la regulación del bucle central del reloj biológico a través de la expresión regulada de los genes Period y Bmal.

65

[0021] El modulador de expresión para el gen Bmal de la presente invención es el aceite de elemí. Se puede aplicar mediante diversos modos de administración, tales como administraciones transdérmicas, orales e inhaladas, y puede utilizarse en cosmética. Es posible mejorar la piel áspera como resultado de un mal funcionamiento del ritmo circadiano, mediante la modulación de manera efectiva de la expresión del gen Bmal.

5 **[0022]** Además, se considera que el aceite de elemí mejora la función de la piel mediante la modulación del ritmo circadiano de la producción de ácido hialurónico en la piel, así como mediante el aumento de la cantidad de su producción.

10 BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0023]

La figura 1 es un diagrama esquemático que muestra sólo el bucle central de un sistema de generación de ritmo circadiano por genes clock.

15 La figura 2 es un gráfico que muestra la inducción de los ritmos circadianos de la expresión de genes clock con cortisol y forskolina en células fibroblásticas cultivadas de piel humana.

La figura 3 es un gráfico que muestra la expresión regulada del gen clock Bmal1 por sustancias de prueba en células fibroblásticas cultivadas de piel humana.

20 MEJOR MODO PARA LLEVAR A CABO LA INVENCION

[0024] El modulador de expresión para el gen Bmal para su uso según la presente invención comprende aceite DE elemí como su principio activo.

25 **[0025]** En cuanto a los detalles de aceite de elemí, por favor refiérase al Diccionario de ingredientes cosméticos de Japón (Nihon-Hann-you Keshouhin Genryou Shu) cuarta edición (Yakuji NIPPO LIMITED).

[0026] El aceite de elemí antes mencionado se puede obtener por técnicas habitualmente conocidas, por ejemplo, mediante la inmersión o el calentamiento a reflujo del material de la planta de la que se deriva el extracto con un disolvente de extracción, seguido de filtración y concentración. Como disolvente de extracción se puede emplear cualquier disolvente que se utiliza normalmente para la extracción, incluyendo agua, metanol, etanol, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, la glicerina y otros alcoholes, disolventes hidroalcohólicos, cloroformo, dicloroetano, tetracloruro de carbono, acetona, acetato de etilo, hexano y otros disolventes orgánicos solos o en combinación. Los extractos obtenidos utilizando los disolventes antes mencionados se pueden usar tal como son, o alternativamente, se pueden utilizar después de la eliminación de las impurezas utilizando una técnica de absorción, por ejemplo, una columna de resina de intercambio iónico, o polímero poroso (por ejemplo, Amberlite XAD-2), seguido de elución con metanol o etanol y, a continuación, concentración. También se pueden usar extractos, por ejemplo, con agua/acetato de etilo y otros.

40 **[0027]** El aceite de elemí está disponible comercialmente y se describe brevemente a continuación.

[0028] El aceite de elemí es un aceite esencial obtenido por destilación al vapor de resina (oleoresina) filtrada de la corteza de elemí, un árbol de altura media a alta de la orden Canarium de la familia Burseraceae.

45 **[0029]** El modulador del ritmo circadiano para su uso según la presente invención contiene aceite de elemí como modulador de la expresión para el gen Bmal.

[0030] El aceite elemí como modulador de la expresión para el gen Bmal puede utilizarse solo o en combinación con un agente que tiene una acción para modular la expresión de otros genes clock.

50 **[0031]** Los ejemplos de los otros genes clock incluyen genes Period (Period1, Period2, Period3), gen Clock, gen Cryptochrome, gen de la proteína de unión al sitio D de albúmina (Dbp), gen E4BP4, gen Npas2, y gen Reverb. Es, sin embargo, preferible que el modulador de expresión para el gen Bmal se utilice en combinación con un modulador de la expresión para el gen o genes Period, clock y/o Cryptochrome, otros genes esenciales del reloj biológico, y es especialmente preferible utilizarlo en combinación con un modulador de la expresión de un gen o genes Period.

60 **[0032]** Los moduladores de expresión para el gen Period incluyen, pero no se limitan a, medicamentos a base de hierbas, tales como árnica, Nuphar, extracto de té negro, Zanthoxylum y otros extractos; y fragancias tales como enebro, cedro, lavanda, brote de clavo, ciprés, rosa, ylang-ylang, gálbano, petit-grain, pimienta, tomillo, albahaca, beta-cariofileno y otros aceites esenciales. Se ha confirmado que estas medicinas a base de hierbas o fragancias pueden inducir el ritmo de expresión de un gen Period o promover su expresión en células fibroblásticas de piel cultivadas.

65 **[0033]** Además, el modulador de la expresión para el gen Bmal y el modulador del ritmo circadiano pueden usarse solos o pueden estar contenidos en diversas sustancias. Dependiendo del tipo de sustancia, se puede incluir complementariamente cualquier constituyente, así como el ingrediente indispensable mencionado anteriormente.

[0034] Por ejemplo, cuando la sustancia es una formulación externa que se aplica sobre la piel, cualquier ingrediente que se encuentra normalmente en dicha formulación externa puede estar contenido junto con el modulador de la expresión mencionado anteriormente para el gen Bmal dependiendo de su forma de dosificación (por ejemplo, formulación líquida, formulación en polvo, formulación de polvo granular, formulación en aerosol, formulación sólida, formulación en gel, formulación en parche, formulación en supositorio, y otros) o su forma de producto (es decir, los cosméticos). Una formulación externa que debe aplicarse sobre la piel abarca composiciones para ser aplicadas sobre la piel (incluyendo piel de la cabeza, pelo de la cabeza y uñas), en general, e incluye cosméticos, tales como productos para el cuidado de la piel, productos de maquillaje, productos para el cuidado del cabello, productos para el lavado de cara, productos para el lavado del cabello y otros. Las formas de dosificación incluyen, pero no se limitan a, sistemas a base de agua, sistemas solubilizados, emulsiones, sistemas a base de aceite, geles, pastas, pomadas, aerosoles, sistemas de dos fases agua-aceite, sistemas de tres fases de agua-aceite-polvo, y otros. Como formulación externa que se aplica sobre la piel está un cosmético, que incluye perfumes, colonia, agua de colonia, cremas, emulsiones, bases de maquillaje, polvos para la cara, barras de labios, jabones, champús y acondicionadores, champús para el cuerpo, enjuagues corporales, polvos para el cuerpo, jabones de baño, y otros.

[0035] El modulador de la expresión para el gen Bmal para uso según la presente invención puede estar contenido en desodorantes y cualquier otro producto cosmético, siempre y cuando la presente invención produzca su efecto.

[0036] El contenido del modulador de la expresión para el gen Bmal para su uso según la presente invención en una sustancia no está particularmente limitado, y puede seleccionarse apropiadamente según el tipo y la forma del aceite de elemí, pero es, por ejemplo de 0,00001 % en masa a 100% en masa, preferiblemente de 0,0001% en masa a 50% en masa, y más preferiblemente de 0,0001% en masa a 20% en masa de la masa total de la sustancia.

[0037] La aplicación específica de la presente invención es el uso cosmético de aceite de elemí para modular el ritmo circadiano para la mejora de la piel áspera resultante del mal funcionamiento del ritmo circadiano mediante la inducción de ritmos de expresión de un gen Bmal o promoción de la expresión de un gen Bmal.

[Ejemplos]

[0038] La presente invención se describirá en detalle a continuación con ejemplos, pero la presente invención no se limita a los ejemplos. Se pueden usar células fibroblásticas de piel, células epiteliales, células endoteliales, células de pigmento, células grasas, células nerviosas y varios otros tipos de células como células de cultivo. En los ejemplos, sin embargo, se llevaron a cabo evaluaciones con células fibroblásticas de piel humana. Debido a que el sistema central del gen clock es común a todas las especies de organismos y a todos los tipos de células, se cree que los resultados de evaluación de células fibroblásticas de piel humana deberían ser aplicables a otras especies de organismos y otros tipos de células. En los seres humanos, se conocen dos genes como genes Bmal; Bmal1 y Bmal2. Se cree que se comportan de manera similar, ya que pertenecen a la misma familia de genes. En los ejemplos siguientes, la expresión de Bmal se determinó como un representante.

Examen del sistema de evaluación para el ritmo de expresión de genes clock utilizando células fibroblásticas de piel humana cultivadas

[0039] Se confirmó que el ritmo de expresión de genes clock puede evaluarse en un sistema que utiliza células fibroblásticas de piel humana cultivadas.

[0040] Como células fibroblásticas humanas cultivadas, se adquirieron células fibroblásticas de piel humana normal (Cell Application, Inc.) y se usaron en los experimentos. Se inocularon en medio DMEM suplementado con FBS al 10%, HEPES 20 mM, Glutamax y agentes antibacterianos y se cultivaron a 37°C en CO₂ al 5%. En el sexto día de cultivo, se añadió 50 ng/ml de cortisol o 10 µM de se añadió forskolina, y las muestras se recogieron en diversos tiempos después del tiempo 0, que se definió como el tiempo inmediatamente después de la adición de cortisol o forskolina. Se extrajo ARN de las células con un kit de extracción de ARN disponible comercialmente, y se midieron las cantidades de expresión de los genes pretendidos mediante la tecnología de RT-PCR usando cebadores de PCR disponibles comercialmente (Perfect Real Time Primer, Takara Bio). En cuanto a los genes clock, se determinaron las cantidades de expresión de Period (representado por Period1) y Bmal1, que están involucrados en el sistema central. Del mismo modo, se cuantificaron las cantidades de expresión de un gen constitutivo RPLP0 y se utilizó como patrón interno para el cálculo de la expresión relativa de los genes pretendidos a RPLP0.

[0041] En los organismos vivos, los glucocorticoides, como el cortisol, están involucrados en la regulación del reloj biológico en el tejido periférico y similares, y se piensa que la concentración de cortisol en sangre aumenta al despertarse por la mañana, para restablecer el reloj biológico. En las células cultivadas, las células individuales suelen mantener su ritmo de forma independiente. Los ritmos de expresión de los genes clock se pueden sincronizar para inducir un ritmo circadiano mediante la estimulación con un factor de estimulación de la señal, tal como cortisol o forskolina.

[0042] Los resultados se muestran en la Figura 2. Se confirmó que la expresión de Bmal1 y Period1 es máxima a aproximadamente 16 horas y aproximadamente 2 horas, respectivamente, después de la estimulación, y que ambos genes se expresan de forma recurrente con un ritmo circadiano de aproximadamente un ciclo de 24 horas.

5 Evaluación de las sustancias de ensayo sobre el efecto de modulación de la expresión para un gen Bmal

10 [0043] Los resultados mencionados anteriormente del sistema de evaluación usando células fibroblásticas de piel humana cultivadas demuestran que Bmal1 muestra un ritmo circadiano con un pico de expresión génica a aproximadamente 16 horas después de la estimulación con un reactivo. Se evaluaron las sustancias de ensayo para el efecto de la modulación de la expresión de un gen Bmal en base a la cantidad de la expresión génica a las 16 horas después de la estimulación. Para confirmar la inducción del ritmo de expresión para el gen Bmal, también se determinó la cantidad de expresión del gen Bmal a las 2 horas después de la estimulación.

15 [0044] Las células fibroblásticas de piel humana normal (Cell Application, Inc.) se inocularon según un método similar a los utilizados anteriormente. Se añadió cada sustancia de ensayo en el sexto día de cultivo a una concentración final de 100 ppm, y se recogieron las células 2 y 16 horas después de la estimulación. Se extrajo ARN de las células con un kit de extracción de ARN disponible comercialmente. Las cantidades de expresión del gen Bmal se determinaron mediante la tecnología de RT-PCR usando cebadores de PCR disponibles comercialmente (Perfect Real Time Primer, Takara Bio).

20 [0045] Además, la expresión génica se determinó también de manera similar para la ácido hialurónico sintetasa (HAS) que participa en la producción de ácido hialurónico que juega un papel importante en la retención de humedad de la piel. HAS1, HAS2 y HAS3 son conocidas como HAS, y se examinó HAS2 como una ácido hialurónico sintetasa representativa.

25 [0046] Las cantidades de la expresión génica de un gen constitutivo RPLP0 se cuantificaron y utilizaron como patrón interno para el cálculo de la expresión relativa de los genes diana con respecto a RPLP0. Se realizó la prueba de comparación múltiple de Dunnett sobre las mediciones obtenidas, y se estimó que las mediciones con un nivel de significación de un lado del 5% en comparación con el control eran significativamente efectivas.

30 [0047] La figura 3 muestra las cantidades relativas de la expresión génica del gen Bmal1 a las 2 y 16 horas después de la adición de una variedad de sustancias de ensayo y cortisol o forskolina como controles positivos.

35 [0048] La Tabla 1 siguiente muestra las cantidades relativas de la expresión génica del gen Bmal1 a las 16 horas. Para algunas sustancias de ensayo, las cantidades relativas de la expresión génica del gen Has2 también se muestran en la Tabla 1.

[Tabla 1]

Sustancia de ensayo	Cantidad relativa de la expresión del gen Bmal1 (16 horas)	Cantidad relativa de la expresión del gen Has2 (16 horas)
Control	0,41	4,6
Medicamento a base de hierbas		
Ciprés Hinoki***	0,64**	
Chlorella***	0,63**	
Lúpulo***	0,55*	
Zanthoxylum***	0,6**	
Fragancia		
Enebro***	2,69**	163
Lavanda***	1,2**	
Eucalipto***	1,73**	1549*
Olíbano***	1,09*	
Ciprés***	1,13**	62,6*
Palmarosa***	1,07*	
Aguja de pino***	1,26**	
Rosa***	1,01*	
Ylang-ylang***	4,25**	66*
Elemí	1,3**	448*
Petitgrain***	1,13*	
Pimienta***	1,98**	78,8*
Tomillo***	1,5**	
Manzanilla***	2,25**	
*: p<0,05, **: p<0,01 ***: Ejemplo comparativo		

[0049] Se demostró que el extracto de ciprés hinoki, extracto de Chlorella, extracto de lúpulo, extracto de Zanthoxylum, aceite de enebro, aceite de lavanda, aceite de eucalipto, olíbano, aceite de ciprés, aceite de palmarosa, aceite de aguja de pino, aceite de rosa, aceite de ylang-ylang, aceite de elemí, aceite de petitgrain, aceite de pimienta, aceite de tomillo y aceite de manzanilla, de los cuales sólo el aceite de elemí es de acuerdo a la presente invención y todos los otros son ejemplos comparativos, así como los controles positivos de cortisol y forskolina, pueden inducir un ritmo expresión con un pico a las 16 horas después de la estimulación, y aumentar significativamente cantidades de la expresión génica de Bmal1 y, en consecuencia, estos medicamentos a base de hierbas o fragancias pueden modular la expresión del gen Bmal.

[0050] Además, se sugirió que el enebro, eucalipto, ciprés, ylang-ylang, elemí y pimienta, de los cuales sólo el elemí es de acuerdo a la presente invención y todos los demás son ejemplos comparativos, pueden mejorar o aumentar funciones de la piel mediante el aumento de la producción del ácido hialurónico, ya que se mostró que promovían la expresión del gen Has2 16 horas después de la estimulación.

[0051] El modulador de expresión para el gen Bmal para su uso según la presente invención se puede usar en combinación con un modulador de la expresión de un gen Period, que incluyen, pero no se limitan a, los medicamentos a base de hierbas tales como árnica, Nuphar, extracto de té negro, Zanthoxylum, y otros extractos; y fragancias, tales como el enebro, cedro, lavanda, brote de clavo, ciprés, rosa, ylang-ylang, gálbano, petitgrain, pimienta, tomillo, albahaca, beta-cariofileno, y otros aceites. Se ha confirmado que estos medicamentos a base de hierbas o fragancias pueden inducir el ritmo de expresión del gen Period1 o promover su expresión, como resultado del examen del ritmo de expresión de genes Period en células fibroblásticas de piel cultivadas con Period1 como representante. La Tabla 2 muestra a continuación las cantidades relativas de la expresión génica del gen Period1 a las 16 horas después de la estimulación

[Tabla 2]

Sustancia de ensayo	Cantidad relativa de la expresión del gen Period 1 (2 horas)
Control	0,23
Medicamento a base de hierbas	
Árnica***	0,56**
Extracto de té negro***	0,48*
Nuphar***	0,51**
Zanthoxylum***	0,42*
Fragancia	
Enebro***	0,67*
Cedro***	0,7*
Lavanda***	0,88**
Brote de clavo***	1,11**
Ciprés***	1,29**
Rosa***	0,75*
Ylang-ylang***	1,08**
Gálbano***	0,76*
Petitgrain***	1,06**
Pimienta***	1,44**
Tomillo***	1,81**
Albahaca***	0,68*
beta-cariofileno***	0,44*
*: p<0,05, **: p<0,01 ***: Ejemplo comparativo	

(Ejemplos de composición)

[0052] Los ejemplos comparativos de composición se indican a continuación. En los ejemplos de composición siguientes, se utiliza aceite de ylang-ylang. Puede contener uno, o una mezcla de más de uno, de los medicamentos a base de hierbas y/o fragancias que se describen anteriormente como capaces de modular la expresión del gen Bmal. Las cantidades de composición están todas representadas en porcentaje en masa con respecto a la cantidad total de cada producto

[Fragancia]		
(1)	Alcohol	75,0
(2)	Agua purificada	resto
(3)	Dipropilenglicol	5,0
(4)	Modulador de expresión para el gen Bmal: aceite de ylang-ylang	10,0
(5)	Antioxidante	8,0

ES 2 584 329 T3

	(6)	Colorante	según sea necesario
	(7)	Absorbente de UV	según sea necesario
	[Ambientador]		
5	(1)	Alcohol	80,0
	(2)	Agua purificada	resto
	(3)	Antioxidante	5,0
	(4)	Modulador de expresión para el gen Bmal (aceite de ylang-ylang)	3,0
	(5)	3-metil-3-metoxibutanol	5,0
	(6)	Dibenciliden sorbitol	5,0
10	[Incienso]		
	(1)	Polvo Makko	75,5
	(2)	Benzoato de sodio	15,5
	(3)	Modulador de expresión para el gen Bmal (aceite de ylang-ylang)	5,0
	(4)	Aceite de eucalipto	1,0
15	(5)	Agua purificada	resto
	[Sales de baño]		
	(1)	Sulfato de sodio	45,0
	(2)	Bicarbonato de sodio	45,0
	(3)	Aceite de lavanda	9,0
20	(4)	Modulador de expresión para el gen Bmal (aceite de ylang-ylang)	1,0
	[Gel de masaje]		
	(1)	Eritritol	2,0
	(2)	Cafeína	5,0
25	(3)	Extracto de la corteza de <u>Phellodendron amurense</u>	3,0
	(4)	Glicerina	50,0
	(5)	Polímero de carboxivinilo	0,4
	(6)	Polietilenglicol 400	30,0
	(7)	Edetato trisódico	0,1
	(8)	Copolímero de polioxileno (10) y metilpolisiloxano	2,0
30	(9)	Escualeno	1,0
	(10)	Hidróxido de potasio	0,15
	(11)	Modulador de expresión para el gen Bmal (aceite de ylang-ylang)	1,0
	[Crema de masaje]		
35	(1)	Parafina sólida	5,0
	(2)	Cera de abejas	10,0
	(3)	Vaselina	15,0
	(4)	Parafina líquida	41,0
	(5)	1,3-butilenglicol	4,0
	(6)	Monoestearato de glicerina	2,0
40	(7)	Éster de monolaurato de sorbitán y POE (20)	2,0
	(8)	Bórax	0,2
	(9)	Cafeína	2,0
	(10)	Conservante	según sea necesario
	(11)	Antioxidante	según sea necesario
45	(12)	Modulador de expresión para el gen Bmal (aceite de ylang-ylang)	1,0
	(13)	Agua purificada	resto
	[Fibra aromática]		
50	[0053] Se añadieron microcápsulas que contienen el modulador de expresión para el gen Bmal (diámetro de partícula: no superior a 50 µm (micrómetros); porcentaje de aceite esencial en las microcápsulas: 50% en peso) a una solución de celulosa cuproamónica (concentración de celulosa: 10% en peso; concentración de amonio: 7% en peso; concentración de cobre 3,6% en peso) en el intervalo de 0,1% en peso a 20% en peso del peso de celulosa, se mezclaron, y centrifugaron mediante un método de hilado en húmedo convencional, y se obtuvieron fibras aromáticas después de una etapa de refinado y una etapa de secado		
55			
	[Gránulos]		
	(1)	Sucralosa	0,1
	(2)	Modulador de expresión para el gen Bmal (aceite de ylang-ylang)	0,1
60	(3)	Aromatizante	5,0
	(4)	Excipiente (Ceolus)	10,0
	(5)	Maltitol	resto
	[Comprimidos (tipo masticable)]		
65	(1)	Inositol	11,0
	(2)	Maltitol	21,0
	(3)	Sacarosa	0,5

ES 2 584 329 T3

	(4)	Extracto de esperma de salmón (ADN Na)	0,1
	(5)	Extracto de levadura	0,1
	(6)	Modulador de expresión para el gen Bmal (aceite de ylang-ylang)	0,1
	(7)	Aromatizante	5,0
5	(8)	Excipiente	resto
		[Comprimidos]	
	(1)	Lubricante (éster de ácido graso con sacarosa, etc.)	1,0
	(2)	Solución acuosa de goma árabe (5%)	2,0
	(3)	Acidulante	1,0
10	(4)	Colorante	según sea necesario
	(5)	Modulador de expresión para el gen Bmal (aceite de ylang-ylang)	0,1
	(6)	Azúcares (azúcar en polvo, sorbitol, etc.)	resto
		[Caramelo]	
15	(1)	Azúcar	50,0
	(2)	Jarabe de almidón	47,95
	(3)	Ácidos orgánicos	2,0
	(4)	Modulador de expresión para el gen Bmal (aceite de ylang-ylang)	0,05
		[Chicle]	
20	(1)	Azúcar	43,0
	(2)	Base de goma	30,95
	(3)	Glucosa	10,0
	(4)	Jarabe de almidón	16,0
	(5)	Modulador de expresión para el gen Bmal (aceite de ylang-ylang)	0,05

25 **[0054]** Los productos de estos ejemplos de composición pueden regular la expresión del gen Bmal y modular el ritmo circadiano del organismo vivo mediante un uso de prueba de cada forma de producto en una manera típica de uso.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Utilización cosmética de aceite de elemí para modular el ritmo circadiano para mejorar la piel áspera resultante del mal funcionamiento del ritmo circadiano mediante la inducción de los ritmos de expresión de un gen Bmal o la promoción de la expresión de un gen Bmal.
- 10 2. Utilización cosmética de aceite de elemí, según la reivindicación 1, en la que el aceite de elemí se proporciona como una formulación externa a aplicar sobre la piel.
- 10 3. Utilización cosmética de aceite de elemí, según la reivindicación 2, en la que la formulación externa incluye perfume, colonia, agua de colonia, crema, emulsión, base de maquillaje, polvos para la cara, barra de labios, jabón, champú y acondicionador, champú para el cuerpo, enjuague corporal, polvos para el cuerpo y jabón de baño.
- 15 4. Utilización cosmética de aceite de elemí, según la reivindicación 2 ó 3, en la que la formulación externa se proporciona en la forma de dosificación de un sistema a base de agua, sistema solubilizado, emulsión, sistema a base de aceite, gel, pasta, pomada, aerosol, sistema de dos fases de agua-aceite, o sistema de tres fases de agua-aceite-polvo.