

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 588 585**

51 Int. Cl.:

A61K 36/185 (2006.01)

A61K 8/97 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.04.2006 PCT/FR2006/000965**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.11.2006 WO06117465**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.04.2006 E 06755465 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.06.2016 EP 1879602**

54 Título: **Utilización de polifenoles de cacao para regular la pigmentación de la piel**

30 Prioridad:

03.05.2005 FR 0504493

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

03.11.2016

73 Titular/es:

**SOCIETE DE RECHERCHE COSMETIQUE SARL
(100.0%)
4 place de Paris
2314 Luxembourg, LU**

72 Inventor/es:

LECLERE, JACQUES

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 588 585 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 polifenoles de cacao para regular la pigmentación de la piel

5 La presente invención se refiere a una nueva utilización de polifenoles extraídos de cacao en cosmética y en dermatología, y más particularmente una nueva utilización de polifenoles extraídos de cacao para asegurar la regulación de la pigmentación de la piel.

10 La piel constituye un verdadero órgano que comprende varias capas integradas, que va de la capa superficial, la epidermis, hasta las capas más profundas, la dermis y la hipodermis, 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 las células de Langerhans, tiene un grosor variable según las diferentes partes del cuerpo.

20 La dermis, más gruesa, se compone principalmente de colágeno, de elastina y de proteoglicanos. Estos tres tipos de moléculas son sintetizados por los fibroblastos dérmicos. Las fibras de colágeno aseguran la resistencia mecánica y la textura de la piel, la elastina es responsable de la elasticidad, y los proteoglicanos desempeñan un papel principal 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 pigmentación de la piel resulta de la presencia de melanina en la epidermis y la dermis. La melanina está producida por los melanocitos, situados principalmente en la capa basal, en presencia de la tirosina (o monofenol mono-oxigenasa), una enzima cupro-proteica que cataliza la transformación de la tirosina en dihidroxifenilalanina (dopa) que es después transformada en dopaquinona, después en dopacroma, para llegar a la melanina según un mecanismo complejo. Esta biosíntesis, o melanogénesis, es un proceso complejo que es actualmente relativamente bien conocido.

35 En condiciones normales, la pigmentación de la piel es uniforme. Sin embargo, se observa frecuentemente la aparición de una hiperpigmentación, es decir una pigmentación excesiva de forma local, que puede manifestarse por pecas, lentigo senil, melasma, manchas de envejecimiento, una pigmentación debida a una exposición excesiva al sol, una hiperpigmentación post-inflamatoria debida a la abrasión, dermatitis, etc. A la inversa, es a veces deseable favorecer la pigmentación de la piel por razones estéticas o para luchar contra los efectos de ciertas afecciones, como por ejemplo el vitiligo, que se traducen por un defecto localizado de pigmentación.

40 La hiperpigmentación de la piel puede ser combatida mediante un compuesto susceptible de degradar la melanina, o inhibir la biosíntesis de la melanina, o también utilizando un inhibidor de tirosina que bloquea o inhibe el mecanismo descrito anteriormente. Así, la hidroquinona y algunos de sus derivados pueden actuar inhibiendo la tirosinasa e impidiendo la fijación de su sustrato natural, la tirosina. Así, la patente EP-A-060.092 describe la utilización de un éster de hidroquinona y de ácido graso, y la patente US-A-4.692.261 describe una composición despigmentante que contiene hidroquinona, un detergente aniónico y un estabilizante. Se conocen también unas asociaciones a base de hidroquinona, como por ejemplo la asociación de hidroquinona y de ácido salicílico descrita en la patente FR-A-2.754.253. Sin embargo, la hidroquinona presenta el inconveniente de una fuerte toxicidad que conlleva unos efectos secundarios tales como una irritación de la piel.

45 Se han propuesto otras sustancias despigmentantes, y por ejemplo unos derivados de melatonina como en la patente FR 2.751.535, unos derivados de ácido salicílico como en la patente FR 2.732.594, unos extractos de plantas del género *Mitracarpus* como en la patente FR 2.751.874, o también unos ésteres de ácido kójico que presentan una acción aclarante sobre la piel, como se describe en la patente FR 2.460.131. Unos extractos de Glycyrrhiza que contienen unas sustancias tales que la glabridina, también se han utilizado para inhibir la producción de melanina por las células de la dermis bloqueando la tirosinasa utilizada en su síntesis, y unas composiciones despigmentantes que contienen glabridina se han propuesto como en la patente FR 2.822.067.

50 Se sabe también que numerosas sustancias favorecen la melanogénesis y la pigmentación de la piel, y por ejemplo unos carotenoides y ciertas vitaminas, tales como la vitamina E y la vitamina C. Se conoce también, como compuestos que favorecen la síntesis de la melanina, unos alfa-hidroxi ácidos como en la solicitud WO 99.51198, unos extractos de plantas, en particular *Sanguisorba officinalis* como en la patente EP 993.826, o también unos compuestos que activan la expresión de la tirosinasa como unos psoralenos.

65 La solicitud WO 03082227 describe una composición destinada a regular la melanogénesis, que comprende al mismo tiempo unos promotores y unos inhibidores de la síntesis de la melanina.

Algunos polifenoles también se han propuesto para reforzar la pigmentación de la piel. Así, la solicitud de patente FR 2.851.916 describe la utilización de polifenoles catéquicos a fin de favorecer la pigmentación natural de la piel, y por ejemplo unos extractos de cacao utilizables en composiciones para la administración por vía oral. Unos extractos de xantinas, eventualmente incorporados en liposomas, pueden ser utilizados en composiciones cosméticas y dermatológicas que favorecen la pigmentación de la piel, y la patente FR 2.654.935 describe unos extractos de xantinas obtenidos a partir de semillas de cacao.

Por otro lado, la patente EP 1.289.491 enseña que los polifenoles extraídos del cacao (*Theobroma cacao*) poseen unas propiedades interesantes utilizables en composiciones cosméticas y dermatológicas, en particular una actividad anti-arrugas.

Se distinguen tres grupos de polifenoles de cacao, que pertenecen todos a la familia de los flavonoides: las catequinas (flavanoles, un 37% aproximadamente) y en particular la (-)epicatequina, las procianidinas (oligómeros flavanólicos, un 58%) y los antocianos (5%).

Los estudios realizados por la solicitante han mostrado que los polifenoles extraídos del cacao podían también tener una influencia sobre la tirosinasa y la melanina, y ejercer una actividad de regulación de la pigmentación de la piel que puede manifestarse bien inhibiendo la pigmentación, o bien favoreciéndola, según la dosis utilizada.

Además, se ha constatado que, de manera inesperada, el efecto sobre la pigmentación de la piel podía invertirse en función de la dosis utilizada. Así, a baja dosis, el efecto es inhibitorio de la pigmentación, mientras que a dosis elevada es promotor de la pigmentación. Estos resultados permiten entonces proponer unas composiciones a base de polifenoles de cacao capaces de desempeñar un papel regulador de la pigmentación de la piel, y más particularmente inhibir la pigmentación de la piel.

La presente invención describe una nueva utilización de polifenoles extraídos de cacao para la preparación de una composición cosmética destinada a regular la pigmentación de la piel.

La invención describe una nueva utilización de polifenoles extraídos de cacao para la preparación de una composición que permite inhibir la pigmentación de la piel.

La invención describe una nueva composición tópica especialmente adecuada para tal utilización, que comprende un extracto de polifenoles de cacao o unas células de cacao en una concentración adecuada para el efecto buscado.

Los estudios efectuados han mostrado el interés de los polifenoles de cacao, tanto como extractos de cacao (*Theobroma cacao*), eventualmente encapsulados, como células de cacao.

Estos estudios han mostrado en particular, como se indica más adelante, que los polifenoles de cacao según la invención

* presentan una perfecta inocuidad frente a células endoteliales de la epidermis, siendo las imágenes histológicas de las epidermis tratadas similares a las de los controles no tratados;

* provocan una disminución significativa del porcentaje de la melanina y de la actividad de la tirosina a nivel de los explantes de piel humana tratados, a la concentración del 0,5%;

* provocan un aumento del porcentaje de melanina y de la actividad de la tirosinasa, a la concentración del 2%.

Así, las composiciones tópicas descritas en la invención pueden ser utilizadas ventajosamente en cosmética para asegurar la regulación de la pigmentación de la piel en sujetos susceptibles de ser afectados por un trastorno que puede manifestarse por una hiperpigmentación.

Las composiciones descritas en la presente invención pueden presentarse en cualquier forma galénica habitual adecuada para una aplicación tópica, y preferentemente en forma de loción, crema, leche o suero.

Pueden comprender menos del 1% en peso de extracto de polifenoles de cacao, con respecto al peso total de la composición, cuando se busca un efecto despigmentante. A la inversa, una concentración de más del 1% en peso, por ejemplo entre el 1,5 y el 5% en peso, es útil cuando se busca un efecto pigmentante. En el caso de la utilización de células de cacao, las composiciones pueden comprender menos del 0,10% en peso de células de cacao, con respecto al peso total de la composición, cuando se busca un efecto despigmentante. Una concentración de más del 0,10% en peso, por ejemplo entre el 0,15 y el 0,5% en peso, proporciona un efecto pigmentante.

Como se ha indicado anteriormente, en lugar de utilizar unos extractos de polifenoles de cacao, se pueden utilizar unas células de cacao obtenidas mediante técnicas conocidas de crecimiento o multiplicación celular, en medio líquido o sólido, de células de origen vegetal cultivadas *in vitro* en un entorno controlado, en condiciones asépticas

en ausencia de microorganismos. Así, se podrá referir a los trabajos efectuados sobre suspensiones celulares de cacao tales como los de Gurney y Evans, Exp. Bot. 43, 769-775, (1992), Wen y Kinsella, J. Food Sc. 57, 1452-1457 (1992) y Leathers y Scragg, Plant Sc. 62, 217-228 (1989). Así, se pueden utilizar más particularmente unas células desdiferenciadas liofilizadas de cacao cuyos contenidos de los tres principales componentes son respectivamente de 1,2 mg de antocianos, 136,0 mg de oligómeros procianidólicos (OPC) y 11,2 mg de epicatequina, por gramo de células liofilizadas. La liofilización de las células permite facilitar su conservación y, después, su incorporación en las composiciones cosméticas.

Las composiciones descritas en la presente invención pueden ser presentadas en formas clásicamente utilizadas para una aplicación tópica, es decir en forma de loción, gel, emulsión (en particular crema o leche), máscara, pomada, liposomas o también de parches transdérmicos, 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 un extracto de polifenoles de cacao según la invención.

Estas formas de administración por vía tópica se preparan mediante las técnicas habituales, 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 usar unas emulsiones de estructura laminar que contienen pocos productos etoxilados o que no contienen ninguno.

Las composiciones tópicas pueden por ejemplo comprender 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 etoxidiglicol, 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-diisosteato de poliglicerilo, el poliisobuteno hidrogenado, el alcohol cetílico, el palmitato cetílico, el fosfato cetílico; los emulsionantes tales como una lecitina o un tensioactivo a base de inulina como el Inutec[®] de la compañía Orafiti; los conservantes tales como el fenoxietanol, el parahidroxibenzoato de metilo (metilparabeno), el parahidroxibenzoato de etilo (etilparabeno), el parahidroxibenzoato de propilo (propilparabeno) y el Phenonip[®] que asocia fenoxietanol y 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 también añadir a la composición unos agentes acondicionadores de la piel tales como el nylon y el nitruro de boro.

Unos agentes de protección contra los rayos ultravioletas pueden también ser ventajosamente incorporados en las composiciones, y por ejemplo unos filtros solares UV-A y UV-B hidrófilos o lipófilos, seleccionados de entre la benzofenona o un derivado de benzofenona tal como la 2-hidroxi-4-metoxi-benzofenona (Eusolex[®] 4360), o un éster de ácido cinámico y más particularmente el metoxicinamato de octilo (Eusolex[®] 2292), el metoxicinamato de etil-2-hexilo (Parsol MCX[®]) o también un ciano-β,β-difenilacrilato tal como el octocrieno (Eusolex[®] OCR), el 4-metilbencilidenalcafor (Eusolex 6300[®]) y unos derivados del dibenzoilmetano tales como el 4-isopropildibenzoilmetano (Eusolex 8020), el t-butil-metoxi dibenzoilmetano (Parsol 1789[®]) y el 4-metoxi-dibenzoilmetano. Se pueden utilizar también unos pigmentos que forman una pantalla anti-ultravioleta, como por ejemplo el dióxido de titanio, el óxido de zinc, el óxido de circonio o también el óxido de aluminio.

Se dan a continuación unos ejemplos no limitativos de composiciones conformes a la presente invención. Salvo que se indique lo contrario, los porcentajes y partes son indicados en peso.

Ejemplo 1

Según las técnicas clásicas, se prepara un gel despigmentante regulador de la pigmentación que tiene la composición ponderal siguiente.

EDTA trisódico	0,10
Pentilenglicol	5,00
Caprililglicol	3,00
Sorbato de potasio	0,30
Carbómero	0,30
Hidróxido de sodio	0:10
Extracto polifenólico de cacao	0,50
Extracto de té verde	1,00
Agua de rosas	20,00
Agua desmineralizada	csp 100,00

El extracto polifenólico utilizado en la composición anterior es un extracto obtenido por trituración de habas de cacao

y separación hidrófila/lipófila de la manteca de cacao, por un lado, y de una mezcla de proteínas y de polifenoles por otro. La separación hidrófilo/lipófilo permite, por extracción de la semilla triturada, separar el agua de los cuerpos grasos sobrenadantes de la fase polifenoles/proteínas. Se utiliza preferentemente agua llevada a temperatura comprendida entre 80°C y 100°C aproximadamente.

5 El gel que tiene la composición indicada anteriormente se utiliza en aplicación sobre los brazos y la cara, una a dos veces por día durante un periodo de 4 a 6 semanas.

Ejemplo 2

10 Una crema de regulación de la pigmentación de la piel que tiene la composición ponderal siguiente puede ser preparada de manera habitual.

Agua desmineralizada	csp 100,00
EDTA trisódico	0,10
Pentilenglicol	5,00
Octildodecanol	3,00
Poliacrilato de sodio	1,00
Triglicéridos caprílico/cáprico	4,00
Palmitato de cetilo	2,00
Alcohol behenílico	3,00
Polisorbato 60	3,50
Estearato de sorbitán	2,50
Extractos de polifenoles de cacao	2,00
Gugulípidos	0,50
Esencia de geranio	0,02
Esencia de naranja amarga	0,10
Esencia de agujas de pino	0,03
Conservante	0,15

15 Ejemplo 3

Evaluación de la citotoxicidad

La citotoxicidad del extracto de polifenoles frente a células endoteliales se ha evaluado de la siguiente manera.

20 El extracto polifenólico de la invención, en las concentraciones del 0,5 y el 2% en peso, y un placebo (misma base sin el extracto de polifenol) se depositan a razón de 10 $\mu\text{l}/\text{cm}^2$ sobre unos explantes de piel humana durante 24 horas, en comparación con explantes control. Este ensayo sobre cuatro lotes (dos según la invención, un control y un placebo) se ha llevado a cabo por duplicado.

25 Se constata que la composición de la invención no induce ninguna toxicidad.

Las imágenes histológicas, después de la coloración HES de los explantes tratados son similares a las de los explantes control.

30 Estos resultados muestran que el extracto de polifenoles no presenta ninguna actividad citotóxica frente a células endoteliales de la epidermis, sea cual sea la concentración

Ejemplo 4

35 Evaluación del efecto sobre la pigmentación

La evaluación sobre la pigmentación (efecto despigmentante y efecto pigmentante) se ha estudiado a través

40 * de la evaluación de la actividad de la tirosinasa

* de la evaluación de la síntesis de la melanina (estudio cualitativo de la melanina intracelular por espectrometría a 475 nm).

45 El estudio se ha realizado en epidermis reconstituidas (Skinetic[®]). Unos queratinocitos de origen humano son cultivados en un medio definido (MCDB 153 modificado) y suplementados. Las células son cultivadas durante 10 días en la interfaz aire/líquido, cambiándose el medio de cultivo cada dos días.

50 Las epidermis así formadas son puestas en co-cultivos con melanocitos de fototipos II, IV y VI sobre unos filtros de policarbonato. El estudio se realiza entre el día 11 y el día 17 del cultivo.

Se han constituido seis lotes:

- 5 * lote 1: epidermis control (control negativo) que no recibe ningún producto,
- * lote 2: epidermis control (control positivo) tratado por un despigmentante conocido (ácido kójico),
- * lote 3: epidermis tratada por la composición a base de extracto de polifenoles de la invención, al 0,5%,
- 10 * lote 4: epidermis tratada por la composición a base de extracto de polifenoles de la invención, al 2%,
- * lote 5: epidermis tratada por unas células de cacao (0,05%),
- 15 * lote 6: epidermis tratada por unas células de cacao (0,10%).

El ensayo se lleva a cabo por triplicado después de 3 días de contacto.

Determinación de la melanina:

- 20 La evaluación de la síntesis de la melanina intracelular (estudio cualitativo) se ha efectuado, como se ha indicado anteriormente, por espectrometría a 475 nm después de la digestión de los explantes de piel humana, y después de disolución en NaOH 1N y dimetilsulfóxido durante 30 minutos.

Los resultados se reúnen en la tabla siguiente.

25

	Absorbancia (475 nm)	%
Control negativo	0,185 ± 0,04	-
Control positivo (ácido kójico)	0,107 ± 0,01	-42
Extracto de polifenoles de cacao 0,5%	0,145 ± 0,03	-21
Extracto de polifenoles de cacao 2%	0,215 ± 0,02	+16
Células de cacao 0,05%	0,134 ± 0,07	-27
Células de cacao 0,10%	0,223 ± 0,09	+20

- 30 Estos resultados muestran que la composición a base de extracto de polifenoles a la dosis del 0,5%, provoca una disminución significativa del porcentaje de melanina, mientras que, por el contrario, provoca un aumento significativo del porcentaje de melanina a concentración más elevada del 2%. Este es también el caso para las células de cacao, en las concentraciones del 0,05% y del 0,10% respectivamente.

Evaluación de la actividad tirosinásica:

- 35 Al final del periodo de incubación, se ha extraído el medio de cultivo, después se han aclarado las epidermis con PRS y se ha puesto en contacto con Triton X-100 (Sigma, Francia) al 1%, y después se ha incubado durante 10 minutos. La reacción enzimática se ha iniciado por la adición de L-dopamina (Sigma, Francia) a 10 mM en PBS desprovisto de Ca²⁺ y de Mg²⁺.

- 40 Después de 1 hora de incubación a 37°C protegido de la luz, la actividad de la tirosinasa se ha evaluado por la medición de la absorción a 475 nm mediante un espectrofotómetro.

Los resultados se reúnen en la tabla siguiente.

	Absorbancia (475 nm)	%
Control negativo	0,235 ± 0,05	-
Control positivo (ácido kójico)	0,122 ± 0,03	-48
Extracto de polifenoles de cacao al 0,5%	0,186 ± 0,03	-20
Extracto de polifenoles de cacao al 2%	0,275 ± 0,09	+17
Células de cacao al 0,05%	0,175 ± 0,07	-25
Células de cacao al 0,10%	0,274 ± 0,04	+16

- 45 Estos resultados confirman que la composición en forma de extracto de polifenoles o de células de cacao provoca una disminución significativa del porcentaje de actividad de la tirosinasa a bajas concentraciones (el 0,5% y el 0,05% respectivamente), mientras que provoca un aumento de la actividad de la tirosinasa a concentraciones más elevadas (el 2% y el 0,10% respectivamente).

- 50 Así, la composición presenta una perfecta inocuidad frente a la epidermis y posee la particularidad de presentar una actividad despigmentante o, al contrario, pigmentante, según la concentración.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Utilización no terapéutica de una composición cosmética tópica, que comprende un extracto de polifenoles de cacao (*Theobroma cacao*) a una concentración del 0,5% en peso con respecto al peso total de la composición, o células de cacao a una concentración del 0,05% en peso con respecto al peso total de la composición, para la despigmentación de la piel.
- 10 2. Composición cosmética para uso tópico con efecto despigmentante, caracterizada por que comprende un extracto de polifenoles de cacao a una concentración del 0,5% en peso o unas células de cacao a una concentración del 0,05% en peso, con respecto al peso total de la composición.