

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 604 709**

51 Int. Cl.:

A61K 8/97	(2006.01)	A61K 35/744	(2015.01)
A61Q 19/08	(2006.01)	A61K 36/48	(2006.01)
A61Q 19/00	(2006.01)		
A23L 33/105	(2006.01)		
A61K 8/99	(2006.01)		
A61K 8/42	(2006.01)		
A61K 8/60	(2006.01)		
A61K 8/64	(2006.01)		
A61K 8/65	(2006.01)		
A61K 8/67	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.07.2012 PCT/KR2012/005503**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **24.01.2013 WO13012197**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.07.2012 E 12815040 (6)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.09.2016 EP 2735304**

54 Título: **Composición para prevenir o atenuar las arrugas de la piel que contiene extracto de honeybush fermentado como principio activo**

30 Prioridad:

18.07.2011 KR 20110070920

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
08.03.2017

73 Titular/es:

**KOREA INSTITUTE OF ORIENTAL MEDICINE
(100.0%)
461-24 Jeonmin-dong, Yuseong-gu
Daejeon 305-811, KR**

72 Inventor/es:

**CHAE, SUNGWOOK;
CHOI, HWA-JUNG;
SONG, JAE-HYOUNG;
CHOI, GOYA y
LEE, MI YOUNG**

74 Agente/Representante:

MILTENYI, Peter

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 604 709 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

Composición para prevenir o atenuar las arrugas de la piel que contiene extracto de honeybush fermentado como principio activo

Antecedentes de la invención

5 1. Campo de la invención

La presente invención se refiere a una composición para prevenir o atenuar las arrugas de la piel que contiene honeybush fermentado como principio activo.

2. Descripción de la técnica anterior

10 A medida que se envejece, la piel humana también envejece y el síntoma más representativo del envejecimiento de la piel son las arrugas. Las arrugas son un fenómeno que muestra el envejecimiento. El mecanismo principal implicado en la formación de las arrugas de la piel se explica de la siguiente manera: Cuando la piel se expone de manera continua al estrés oxidativo que proviene del ambiente tóxico tal como la contaminación del aire, exposición a UV, estrés o enfermedad, aumentan los radicales del cuerpo para destruir colágeno, elastina y ácido hialurónico, que son tejidos conectivos dérmicos y, por tanto, se produce un asentamiento de una determinada parte de la piel
15 (arruga). Tal mecanismo puede oxidar lípidos adicionalmente en la membrana celular, dando como resultado la destrucción celular, provocando enfermedades tales como dermatitis, acné y cáncer de piel.

La causa de las arrugas, según la estructura de la piel, se explica en más detalle a continuación en el presente documento. La estructura de la piel está compuesta en gran parte por la epidermis y la dermis. La epidermis es una capa fina protectora compuesta por queratinocitos, melanocitos y células de Langerhans. La dermis es una capa
20 más gruesa y más complicada compuesta por tejidos conectivos y tejidos fibrosos que comprenden colágeno y fibras elásticas. El colágeno es una proteína estructural principal de la piel, que es responsable de la resistencia a la tracción y la tenacidad, mientras que la fibra elástica desempeña un papel importante en la resiliencia de la piel y la elasticidad de la piel.

Cuando la renovación de queratinocitos disminuye en la epidermis, se acumula capa córnea y, por tanto, la capa
25 córnea se hace más gruesa y pierde la capacidad de retención de humedad. Por tanto, la queratina se endurece y como resultado se generan arrugas. La zona de la unión demoe epidérmica tiene una implicación importante en el soporte de células epidérmicas, la unión, la transferencia de nutrientes y la regulación de diferenciación epidérmica. El colágeno IV y VII puede reducirse por motivos de envejecimiento, y particularmente por UV. En este momento, el papel de soporte de la epidermis y la dermis de colágeno se debilita, y también lo hace la función de transmisión selectiva. Entonces, los componentes tóxicos pueden afectar a la dermis fácilmente para provocar arrugas (Keene
30 DR *et al.*, The Journal of Cell Biology 1987 104(3):611-621).

La dermis es el tejido que comprende tejidos conectivos debajo de la epidermis, que no es tan compacta como los queratinocitos, las células epidérmicas, y tiene espacio abierto extracelular. Es decir, la dermis está compuesta por
35 una estructura de red de macromoléculas denominada matriz extracelular. Dicha matriz extracelular se genera por fibroblastos en la dermis y se compone de proteínas fibrosas tales como colágeno y elastina y polisacáridos denominados mucopolisacáridos ácidos tales como ácido hialurónico. Los tejidos conectivos implicados en la formación de arrugas de la piel son los componentes fibrosos tales como fibra de colágeno, fibra reticular y fibra elástica. El colágeno y la elastina cooperan de manera elaborada en la dermis para mantener la flexibilidad y elasticidad de la piel.

40 El colágeno es el tejido fibroso responsable de la flexibilidad de la piel, que ocupa aproximadamente el 70% del tejido dérmico total. Como elemento principal que compone la piel, el colágeno está implicado en la rigidez mecánica, coherencia de tejido, unión celular y diferenciación celular en la capa dérmica.

El papel básico de la piel es evitar que la humedad se evapore del cuerpo humano y evitar la invasión de materiales tóxicos extraños. Como la piel siempre está expuesta a estímulos externos, tiene necesariamente muchos
45 mecanismos de defensa. La piel es un tipo de expresión de la belleza. Es decir, la piel sana y luminosa se acepta como un signo de belleza. Recientemente, no son sólo las mujeres sino también los hombres los que están interesados en problemas de la piel incluyendo el envejecimiento de la piel y, por tanto, se desarrollan rápidamente productos para el cuidado de la piel.

Para reducir las arrugas de la piel, se incluyen en cosméticos o medicamentos ácido ascórbico, α -tocoferol, retinol y sus derivados, y superóxido dismutasa (SOD) como antioxidante o eliminador de arrugas de la piel, para prevenir
50 arrugas y otras enfermedades de la piel. Sin embargo, estos materiales tienen desventajas de alto precio e inestabilidad química, que los hace no prácticos. Por tanto, el desarrollo de un material que es más seguro y más eficaz para atenuar las arrugas de la piel ha sido un objetivo importante de estudio no sólo en la industria de la medicina y de la alimentación sino también en la industria cosmética.

55 Los retinoides usados para composiciones cosméticas para atenuar las arrugas de la piel se ejemplifican por retinol,

retinal, ácido retinoico, acetato de retinilo, linoleato de retinilo, y palmitato de retinilo, etc. Entre ellos, el retinol es un compuesto endógeno que es esencial para la diferenciación y el crecimiento de tejido epitelial. En comparación con retinoides tales como ácido retinoico, etc, el retinol es altamente estable, lo que lo hace una materia prima excelente, apropiada en cosméticos para atenuar las arrugas de la piel.

- 5 Se ha demostrado mediante pruebas clínicas para la piel que dicho retinoide es eficaz para atenuar las arrugas de la piel. Sin embargo, cuando se añade en un producto para el cuidado de la piel, podría provocar cambios en el color y el aroma del producto. Además, incluso con una pequeña dosis, puede provocar efectos secundarios tales como irritación en la piel. La reducción de título provocado por cambios en las propiedades y la consiguiente disminución de eficacia son otros problemas.
- 10 Para solucionar dichos problemas del retinoide, se requiere desarrollar una composición cosmética para atenuar las arrugas usando materiales bioactivos generados a partir de sustancias naturales. Tales materiales bioactivos son ventajosos en término de menos efectos secundarios en la piel y menos cambios químicos de las propiedades, indicando que son excelentes en estabilidad y seguridad. Por tanto, los estudios se han concentrado en usar plantas medicinales para el desarrollo de una composición cosmética para prevenir o atenuar las arrugas de la piel.
- 15 El honeybush (*Cyclopia intermedia*) es un arbusto de hoja perenne que pertenece a Melianthaceae, que sólo se distribuye en una zona estrecha de cadena montañosa en la costa este-oeste de la región del Cabo de Sudáfrica y tiene una gran similitud con el rooibos. *Cyclopia intermedia* recibe el nombre de "honeybush" (arbusto de miel) porque su flor huele a miel. La manera de consumir esta hierba o su efecto es similar al del rooibos, pero el sabor es mucho más dulce que el rooibos. El honeybush se procesa principalmente como té. Contiene una pequeña cantidad de tanina pero no tiene nada de cafeína. En su lugar, el honeybush contiene diversos minerales (por ejemplo, hierro, potasio, calcio, cobre, cinc, magnesio, etc). Se ha usado para tratar resfriados, insomnio y dolores de estómago desde hace mucho y se conoce que tiene un efecto de reducción de la glucosa en sangre. En la descripción del documento PCT/EP2008/052863, se describe el efecto antidiabético del extracto de honeybush. Según un informe anterior, el extracto de honeybush puede controlar la diferenciación del papiloma esofágico (Sissing L *et al.*, Nutrition and cancer 2011 63(4):600-610). Sin embargo, todavía no se conoce si el extracto de honeybush tiene el efecto de atenuar las arrugas de la piel.
- 20
- 25

Los presentes inventores estudiaron el desarrollar extractos de plantas naturales para atenuar las arrugas de la piel. Como resultado, los presentes inventores confirmaron que el extracto de honeybush o honeybush fermentado podría reducir la longitud y profundidad de las arrugas de la piel provocadas por la irradiación UV y reducir el espesor de la capa epidérmica, además de suprimir la reacción de degradación del tejido de colágeno, sugiriendo un efecto de atenuación de las arrugas de la piel. Por consiguiente, los presentes inventores completaron esta invención confirmando que el extracto de honeybush o honeybush fermentado podría usarse de manera eficaz como un principio activo de una composición para prevenir o atenuar las arrugas de la piel.

30

Sumario de la invención

35 Es un objeto de la presente invención proporcionar una composición para prevenir o atenuar las arrugas de la piel que contiene extracto de honeybush (*Cyclopia intermedia*), la fracción del mismo, o honeybush fermentado como principio activo.

Es otro objeto de la presente invención proporcionar un método para la prevención de arrugas de en piel que contiene la etapa de administrar el extracto de honeybush, la fracción del mismo, o honeybush fermentado a un sujeto.

40

Es también un objeto de la presente invención proporcionar un método de atenuación para las arrugas de la piel que contiene la etapa de administrar el extracto de honeybush, la fracción del mismo, o honeybush fermentado a un sujeto que tiene arrugas de la piel.

Además, es un objeto de la presente invención proporcionar un uso del extracto de honeybush, la fracción del mismo, o honeybush fermentado para la preparación de una composición para prevenir o atenuar las arrugas de la piel.

45

Para lograr el objeto anterior, la presente invención proporciona una composición cosmética para prevenir o atenuar las arrugas de la piel que contiene honeybush fermentado como principio activo.

La presente invención también proporciona una preparación externa para la piel para prevenir o atenuar las arrugas de la piel que contiene honeybush fermentado como principio activo.

50

La presente invención proporciona además una composición farmacéutica para prevenir o atenuar las arrugas de la piel que contiene honeybush fermentado como principio activo.

La presente invención también proporciona un alimento saludable para prevenir o atenuar las arrugas de la piel que contiene honeybush fermentado como principio activo.

La presente invención también proporciona un método de prevención de las arrugas de la piel que contiene la etapa de administrar honeybush fermentado a un sujeto.

La presente invención también proporciona un método de atenuación para las arrugas de la piel que contiene la etapa de administrar honeybush fermentado a un sujeto que tiene arrugas de la piel.

- 5 La presente invención también proporciona un uso de honeybush fermentado para la preparación de una composición cosmética para prevenir o atenuar las arrugas de la piel.

La presente invención también proporciona un uso del honeybush fermentado para la preparación de una preparación externa para la piel para prevenir o atenuar las arrugas de la piel.

- 10 La presente invención también proporciona un uso de honeybush fermentado para la preparación de una composición farmacéutica para prevenir o atenuar las arrugas de la piel.

Además, la presente invención proporciona un uso de honeybush fermentado para la preparación de un alimento saludable para prevenir o atenuar las arrugas de la piel.

Efecto ventajoso

- 15 Tal como se explicó anteriormente en el presente documento, el honeybush fermentado de la presente invención puede reducir la longitud y profundidad de las arrugas de la piel provocadas por la irradiación UV y reducir el espesor de la capa epidérmica, además de suprimir reacciones de degradación de tejido de colágeno, indicando que es excelente para atenuar las arrugas de la piel, de modo que puede usarse de manera eficaz como principio activo de una composición para prevenir o atenuar las arrugas de la piel.

Breve descripción de los dibujos

- 20 La aplicación de las realizaciones preferidas de la presente invención se entiende mejor con referencia a los dibujos adjuntos, en los que:

La figura 1 ilustra el efecto de atenuación de honeybush fermentado en las arrugas de la piel, confirmado por análisis de réplica.

- 25 La figura 2 ilustra el efecto de atenuación del extracto de honeybush o honeybush fermentado en las arrugas de la piel, confirmado por el análisis de la longitud media de las arrugas.

La figura 3 ilustra el efecto de atenuación del extracto de honeybush o honeybush fermentado en las arrugas de la piel, confirmado por el análisis de la profundidad media de las arrugas.

La figura 4 ilustra el efecto de atenuación del extracto de honeybush o honeybush fermentado en las arrugas de la piel, confirmado por tinción con hematoxilina y eosina (H&E).

- 30 La figura 5 ilustra el efecto de atenuación del extracto de honeybush o honeybush fermentado en las arrugas de la piel, confirmado por tinción tricrómica de Masson.

La figura 6 ilustra el efecto de atenuación del extracto de honeybush o honeybush fermentado en las arrugas de la piel, confirmado por la medición de los cambios de espesor epidérmico.

Descripción de las realizaciones preferidas

- 35 A continuación en el presente documento, la presente invención se describe en detalle.

La presente invención proporciona una composición cosmética para prevenir o atenuar las arrugas de la piel que contiene honeybush fermentado como principio activo.

El extracto de honeybush de la presente invención se prepara preferiblemente mediante el método que comprende, pero no siempre se limita a las siguientes etapas:

- 40 1) extraer honeybush añadiendo un disolvente de extracción;
2) enfriar y filtrar el extracto obtenido en la etapa 1);
3) concentrar el extracto filtrado en la etapa 2) a presión reducida; y
4) preparar polvo secado con el extracto concentrado en la etapa 3).

- 45 En el método anterior, el honeybush de la etapa 1) se obtiene o bien mediante cultivo o bien comprado. Puede usarse cualquier parte de honeybush pero las hojas, semillas, frutos, raíces y partes aéreas del mismo se usan preferiblemente, pero no siempre se limita a los mismos.

- 5 Dicho disolvente de extracción se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en agua, alcohol inferior C₁ ~ C₂, metanol, hexano, acetona, acetato de etilo, butano normal saturado, cloroforno, cloruro de metileno, y un disolvente mezclado de los mismos, pero no siempre se limita a los mismos. El alcohol en el presente documento es preferiblemente alcohol inferior C₁ ~ C₂, y el alcohol inferior es preferiblemente etanol o metanol. Se prefiere más el agua como disolvente de extracción, pero no siempre se limita al mismo.
- 10 El método de extracción es preferiblemente extracción por agitación, o extracción por reflujo, y es más preferida la extracción por reflujo frío, pero no siempre se limita a la misma. El disolvente de extracción se añade preferiblemente a honeybush 2 ~ 10 veces el volumen de honeybush, y más preferiblemente 5 ~ 10 veces, y lo más preferiblemente 10 veces el volumen de honeybush, pero no siempre se limita al mismo. La temperatura de extracción es preferiblemente la temperatura ambiente ~ 100°C, pero no siempre se limita a la misma. El tiempo de extracción es de 1 ~ 3 horas, y más preferiblemente de 1 hora, pero no siempre se limita al mismo. La extracción se repite preferiblemente 1 ~ 3 veces, y más preferiblemente se repite 2 veces, pero no siempre se limita al mismo.
- 15 En este método, la concentración a presión reducida en la etapa 3) se realiza preferiblemente usando un concentrador de vacío o un rotavapor a vacío, pero no siempre se limita a los mismos. El secado en la etapa 4) se realiza preferiblemente por secado a presión reducida, secado a vacío, secado por ebullición, secado por atomización o liofilización, pero no siempre se limita a los mismos.
- 20 La fracción del extracto de honeybush se obtiene por fraccionamiento del extracto obtenido anteriormente y en este momento el disolvente utilizado para el fraccionamiento se selecciona del grupo que consiste en agua, alcohol inferior C₁ ~ C₂, metanol, hexano, acetona, acetato de etilo, butanol normal saturado, cloroforno, cloruro de metileno, y un disolvente mezclado de los mismos, pero no siempre se limita a los mismos.
- El honeybush fermentado se prepara mediante el método que comprende las siguientes etapas:
- 1) inocular leche animal con bacteria de ácido láctico;
 - 2) mezclar la leche inoculada de la etapa 1) con una fuente de carbono y el extracto de honeybush o la fracción del mismo; y
 - 25 3) fermentar la mezcla de la etapa 2).
- La bacteria de ácido láctico de la etapa 1) es preferiblemente *Streptococcus thermophilus*, pero no siempre se limita a la misma y, de hecho, cualquier bacteria de ácido láctico usada posiblemente para fermentación puede usarse en el presente documento.
- 30 La bacteria de ácido láctico de la etapa 1) se cultiva preferiblemente en MRS (de Man, Rogosa & Sharpe), pero no siempre se limita al mismo y, de hecho, cualquier medio utilizable para el cultivo de bacteria de ácido láctico puede usarse en el presente documento.
- La bacteria de ácido láctico de la etapa 1) se inocula preferiblemente a la densidad de $3 \times 10^4 \sim 3 \times 10^6$ UFC/ml, y más preferiblemente a la densidad de 3×10^5 UFC/ml, pero no siempre se limita a la misma.
- La fuente de carbono de la etapa 2) es preferiblemente glucosa o azúcar, pero no siempre se limita a las mismas.
- 35 El extracto de honeybush o la fracción del mismo de la etapa 2) se añade preferiblemente en la proporción del 3 ~ 10% (v/v), y más preferiblemente en la proporción del 5 ~ 6% (v/v), y lo más preferiblemente en la proporción del 5% (v/v), pero no siempre se limita al mismo.
- La fermentación en la etapa 3) se realiza preferiblemente en un incubador a 35 - 38°C durante 1 - 3 días, y más preferiblemente en un incubador a 37 - 38°C durante 1 día, pero no siempre se limita a los mismos.
- 40 En una realización preferida de la presente invención, el honeybush fermentado redujo la longitud y profundidad de las arrugas de la piel provocadas por irradiación UV, redujo el espesor de la capa epidérmica, e inhibió reacciones de degradación de colágeno, indicando efecto de atenuación de las arrugas de la piel, de modo que puede usarse de manera eficaz para una composición cosmética para prevenir o atenuar las arrugas de la piel (véase la figura 1 ~ figura 6).
- 45 La composición cosmética puede proporcionarse en forma de disolución, gel, anhídrido sólido o de pasta, emulsión preparada dispersando fase oleosa en fase acuosa, suspensión, microemulsión, microcápsula, microgránulo, vesícula iónica (liposoma) o no iónica, crema, piel, loción en polvo, pulverizador y barra correctora. Además, la composición cosmética puede formularse como una composición de aerosol que contiene una espuma o propelente comprimido.
- 50 La composición cosmética puede incluir, además del extracto de honeybush, la fracción del mismo, o honeybush fermentado de la presente invención, un complemento generalmente usado en el campo de cosméticos tales como sustancia grasa, disolvente orgánico, resolvente, concentrado, agente gelificante, suavizante, antioxidante, agente de suspensión, estabilizante, agente espumante, odorizante, tensioactivo, agua, agente emulsionante iónico o no

iónico, carga, agente secuestrante, agente quelante, agente conservante, vitamina, bloqueante, agente humectante, aceite esencial, colorante, pigmento, activador hidrófilo o hidrófobo, vesícula lipídica u otros componentes generalmente usados en cosméticos.

5 En una realización preferida de la presente invención, el contenido del extracto de la presente invención en la composición cosmética que contiene honeybush fermentado de la presente invención es del 1 - 15 % en peso del peso total de la composición, y preferiblemente del 2 ~ 10 % en peso.

10 La preparación externa para la piel que contiene honeybush fermentado de la presente invención puede adicionalmente incluir un complemento generalmente usado en el campo de la ciencia de la piel tal como sustancia grasa, disolvente orgánico, resolvente, concentrado, agente gelificante, suavizante, antioxidante, agente de suspensión, estabilizante, agente espumante, odorizante, tensioactivo, agua, agente emulsionante iónico o no iónico, carga, agente secuestrante, agente quelante, agente conservante, vitamina, bloqueante, agente humectante, aceite esencial, colorante, pigmento, activador hidrófilo o hidrófobo, vesícula lipídica u otros componentes generalmente usados en una preparación externa para la piel. La cantidad del complemento anterior puede determinarse como se acepta generalmente en el campo de la ciencia de la piel.

15 La composición cosmética para prevenir o atenuar las arrugas de la piel de la presente invención puede incluir agentes generales además de dicho honeybush fermentado. Cuando se añade un ingrediente adicional que es de ayuda para el cuidado de la salud de la piel, se espera que aumente más el efecto de prevención o atenuación de la composición de la invención en las arrugas de la piel pero también tienen que considerarse la seguridad en la piel, la facilidad de formulación y la estabilidad de principios activos. El agente antiarrugas adicional que puede añadirse a la composición de la presente invención es aquellos materiales funcionales notificados por el Ministerio de Seguridad de Alimentos y Medicamentos que se ejemplifican mediante retinol, palmitato de retinilo, adenosina, retinamida polietoxilada, colágeno, TGF y proteínas de origen placentario animal, etc, pero no siempre se limita a los mismos. El agente antiarrugas adicional puede incluirse en la proporción del 0.0001 ~ 10% en peso. En este momento, el % en peso se regula considerando la actividad de síntesis de colágeno o inhibición de colagenasa, y temas de seguridad para la piel, etc.

La presente invención también proporciona una preparación externa para la piel para prevenir o atenuar las arrugas de la piel que comprende honeybush fermentado como principio activo.

30 El honeybush fermentado puede mezclarse con una preparación externa para la piel como tal o si es necesario en forma de un aditivo preparado mezclando uno o dos o más ingredientes farmacéuticamente aceptables. El ingrediente farmacéuticamente aceptable que puede usarse para una preparación externa para la piel en esta invención se ejemplifica por azúcar reductor, azúcar no reductor, alcohol de azúcar, polisacárido soluble, polímero sintético, antioxidante, y emulsionante, pero no siempre se limita a los mismos. Más particularmente, los derivados de azúcares de α,α -trehalosa, α -glucosil α,α -trehalosa, α -maltosil α,α -trehalosa, y α -maltotriosil α,α -trehalosa e hidratos de carbono que comprenden los derivados de azúcares (denominados derivados de azúcares de de α,α -trehalosa a continuación en el presente documento) descritos en la patente japonesa nº H07-143876 y 3182679 tienen una fuerte actividad para inhibir la degradación de glicósido de vitaminas, para prevenir la consolidación, y para inhibir la absorción de humedad, haciéndolos candidatos más preferibles. Estos ingredientes para una preparación externa para la piel son ventajosos cuando se añaden en el honeybush fermentado de la presente invención porque pueden evitar el malfuncionamiento o consolidación de la misma durante la conservación y el transporte.

40 La proporción de mezcla de tal aditivo para una preparación externa para la piel con respecto al honeybush fermentado de la presente invención o la preparación externa para la piel que contiene el mismo no está limitada siempre que no detenga la función o efecto del mismo. Sin embargo, considerando la función esperada y la conveniencia en el uso, la concentración del aditivo es preferiblemente del 0,01 ~ 20%, más preferiblemente el 0,1 ~ 10%, y lo más preferiblemente el 0,5 ~ 10% del peso total de la preparación externa para la piel.

50 El aditivo para una preparación externa para la piel puede añadirse al honeybush fermentado de la presente invención o la preparación externa para la piel que contiene el mismo en cualquier momento durante el procedimiento de la preparación externa para la piel de la invención desde la etapa de materia prima a la etapa de producto final. En este momento, cualquier método seleccionado del grupo que consiste en mezclado, disolución, fusión, dispersión, suspensión, emulsificación, micelación inversa, infiltración, formación de cristales, pulverización, propagación, nebulización, inyección, remojo, y consolidación puede usarse correctamente. Estos métodos pueden usarse solos o como una combinación de al menos dos métodos.

55 La preparación externa para la piel en esta invención incluye cosméticos, productos parafarmacéuticos, y medicamentos para la piel, y también incluye productos químicos, productos industriales, y productos misceláneos posiblemente puestos en contacto con la piel. La formulación de la preparación externa para la piel no está limitada y un sistema de disolución, sistema de microemulsión, sistema de emulsión, sistema de dispersión de polvo, sistema bifásico de agua-aceite, sistema bifásico de agua-polvo, y sistema trifásico agua-aceite-polvo están todos aceptados. El uso de honeybush fermentado de la presente invención tampoco está limitado. Por ejemplo, el honeybush fermentado de la presente invención puede usarse para la preparación de cosméticos básicos, cosméticos de

5 acabado, cosméticos para la piel, cosméticos limpiadores, limpiadores faciales, lociones para la piel, cremas, lociones lechosas, mascarillas, bases, polvos blancos, polvos, barras de labios, sombras de ojos, perfumes, cosméticos de baño, cosméticos orales, lociones bronceadoras/protectoras solares, cosméticos de maquillaje, cosméticos de uñas, cosméticos de delineadores de ojos, cosméticos labiales, cosméticos orales, cosméticos
 10 faciales, aceites cosméticos, cosméticos aromáticos, cosméticos corporales, cosméticos capilares, cosméticos de lavado capilar, jabones cosméticos, jabones medicinales, pastas dentífricas, colutorios, desodorantes, productos nutritivos capilares, cosméticos de afeitado, protectores solares, antipruriginosos, agentes de limpieza, higienizantes, desinfectantes, agentes de decoloración, y depilatorios en las formas de agua, loción, loción lechosa, crema, ungüento, suspensión, emulsión, pasta, *mousse*, cosmético, sólido, semi-sólido, polvo, polvo sólido, jalea, gel,
 15 aerosol, pulverizador, pastilla, mascarilla, y mascarilla facial para la piel. El honeybush fermentado de la presente invención también puede usarse para la preparación de agentes preventivos o terapéuticos para varias enfermedades tales como pie de atleta, hemorroides, acné, heridas, quemaduras, congelación, dermatitis inducida por laca, llagas, inflamación, infección, alergia, atopía, úlceras, y tumores.

15 Particularmente, el honeybush fermentado de la presente invención puede usarse para la preparación de jabón cosmético, crema limpiadora, espuma limpiadora, leche limpiadora, loción limpiadora, aceite limpiador, crema de masaje, crema *cold cream*, crema hidratante, crema *vanishing*, crema de manos, loción hidratante, aceite cosmético, base líquida, base en polvo, base en pasta, base en barra, base compacta oleosa, base en crema, brocha para las mejillas, base en emulsión, cosméticos básicos, polvo corporal, polvo en crema, polvo blanco, polvo líquido, polvo sólido, polvo amasado, polvo de talco, polvo de colorete, polvo para bebés, colorete de mejillas, pintura para cejas,
 20 máscara, barra de labios, crema labial, mascarilla, crema de afeitado, crema para después del afeitado, loción, loción para las manos, loción de afeitado, loción para después del afeitado, crema bronceadora, aceite bronceador, loción protectora solar, loción bronceadora, agua de tocador emoliente, astringente, agua de tocador limpiadora, loción de agitación, champú facial, champú corporal, champú capilar, polvo limpiador, jabón de manos, enjuague facial, enjuague corporal, enjuague capilar, tratamiento capilar, tónico capilar, cosmético de crecimiento capilar, pomada,
 25 crema capilar, líquido capilar, tónico capilar, tónico de fijación, aceite de peinado fácil, aceite capilar, laca capilar, *mousse* capilar, tinte capilar, decolorante capilar, baño de color, pulverizador de color, disolución de ondas permanentes, polvo compacto, polvo suelto, crema para los ojos, sombra de ojos, sombra de ojos en crema, sombra de ojos en polvo, delineador de ojos, lápiz de cejas, máscara, crema depilatoria, perfume general, perfume en polvo, agua de colonia, desodorante, agente de baño, aceite de baño, sal de baño, aceite cosmético, aceite para bebés,
 30 laca de uñas, esmalte, quitaesmalte, tratamiento de uñas, colutorio, pasta dentífrica, pasta dentífrica en polvo, repelente de insectos (eliminador de insectos), ungüento para curar heridas externas, crema antimicrobiana, ungüento esteroideo, almohadilla de tipo hoja o película aplicada sobre la zona afectada de la piel o cavidad oral, detergente o jabón para la ropa, detergente para el suelo, limpiador de cocina, y limpiador, etc.

35 La presente invención proporciona además una composición farmacéutica para prevenir o atenuar las arrugas de la piel que contiene el honeybush fermentado como principio activo.

La presente invención también proporciona un método de prevención de arrugas de la piel que contiene la etapa de administrar el honeybush fermentado a un sujeto.

La presente invención también proporciona un método de atenuación para las arrugas de la piel que contiene la etapa de administrar el honeybush fermentado a un sujeto que tiene arrugas de la piel.

40 El honeybush fermentado de la presente invención redujo la longitud y profundidad de las arrugas de la piel provocadas por irradiación UV, redujo el espesor de la capa epidérmica, e inhibió reacciones de degradación de colágeno, sugiriendo un excelente efecto de atenuación de las arrugas de la piel, de modo que puede usarse de manera eficaz como una composición farmacéutica para prevenir o atenuar las arrugas de la piel.

45 La composición farmacéutica de la presente invención puede adicionalmente incluir excipientes, agentes desintegrantes, agentes edulcorantes, lubricantes, y aromas, etc. usados generalmente. La composición de la presente invención puede formularse como comprimidos, cápsulas, polvos, gránulos, suspensiones, emulsiones, jarabes, y otras formulaciones líquidas.

50 Particularmente, las formulaciones de la composición farmacéutica de la presente invención para administración oral se ejemplifican mediante comprimidos, pastillas, grageas, suspensiones solubles o basadas en aceites, polvos o gránulos, emulsiones cápsulas duras o blandas, jarabes, y elixires, etc. Cuando la composición farmacéutica de la presente invención se formula como comprimidos o cápsulas, se inducen agentes aglutinantes tales como lactosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidón, amilopectina, celulosa o gelatina, excipientes como fosfato dicálcico, agentes desintegrantes tales como almidón de maíz o almidón de boniato, y lubricantes tales como estearato de magnesio, estearato de calcio, estearil fumarato de sodio o cera de polietilenglicol. En el caso de cápsulas, se incluyen
 55 adicionalmente vehículos líquidos como aceite graso.

La composición farmacéutica de la presente invención puede administrarse por vía oral o parenteral y la administración parenteral incluye inyección subcutánea, inyección intravenosa, inyección intramuscular e inyección intratorácica. Para preparar la composición farmacéutica de la presente invención como una formulación para administración parenteral, el extracto de honeybush, la fracción del mismo, o el honeybush fermentado de la

presente invención se mezcla con un estabilizante o un agente amortiguador en agua para producir una suspensión, que entonces se formula como ampollas o viales.

La composición farmacéutica de la presente invención se trata preferiblemente mediante administración transdérmica, y más preferiblemente se trata mediante aplicación tópica, pero no siempre se limita a las mismas.

- 5 La dosis eficaz de la composición de la presente invención puede determinarse según la absorción del principio activo, velocidad de inactivación, velocidad de excreción, edad, sexo, estado de salud y gravedad de una enfermedad por los expertos en la técnica. En el caso de la administración oral, la composición farmacéutica de la presente invención puede administrarse en 0,01 ~ 500 mg/kg por día para un adulto, y más preferiblemente en 1 ~ 100 mg/kg por día. La frecuencia de administración es una vez al día o algunas veces al día. La dosis no puede
10 limitar el alcance de la presente invención en absoluto. La preparación externa para la piel de la presente invención se aplica preferiblemente en la dosis de 0,5 ml ~ 5,0 ml/día/adulto, 1 ~ 5 veces al día, durante al menos 1 mes.

La presente invención también proporciona un alimento saludable para prevenir o atenuar las arrugas de la piel que contiene el honeybush fermentado como principio activo.

- 15 El honeybush fermentado de la presente invención redujo la longitud y profundidad de las arrugas de la piel provocadas por irradiación UV, redujo el espesor de la capa dérmica, e inhibió reacciones de degradación de colágeno, sugiriendo un excelente efecto de atenuación de las arrugas de la piel, de modo que puede usarse de manera eficaz para un alimento saludable para prevenir o atenuar las arrugas de la piel.

- 20 El honeybush fermentado de la presente invención puede usarse como aditivo alimentario. En ese caso, el extracto de honeybush puede añadirse como tal o mezclado con otros componentes alimentarios según el método convencional.

- 25 El alimento en el presente documento no está limitado. Por ejemplo, el honeybush fermentado de la presente invención puede añadirse a caramelos, carnes, salchichas, panes, chocolates, golosinas, aperitivos, galletas, pizza, fideos instantáneos, tallarines, gomas, productos lácteos incluyendo helados, sopas, té, bebidas, bebidas alcohólicas y complejo vitamínico, etc, y en amplio sentido, puede induirse casi cualquier alimento aplicable en la producción de alimento saludable.

- 30 La composición para bebidas saludables de la presente invención puede incluir adicionalmente varios aromas o hidratos de carbono naturales, etc, como otras bebidas. Los hidratos de carbono naturales anteriores pueden ser uno de monosacáridos tales como glucosa y fructosa, disacáridos tales como maltosa y sacarosa, polisacáridos tales como dextrina y ciclodextrina, y alcoholes de glucosa tales como xilitol, sorbitol y eritritol. Además, puede incluirse como agente edulcorante agentes edulcorantes naturales tales como taumatina y extracto de estevia, y agentes edulcorantes sintéticos tales como sacarina y aspartamo. El contenido del hidrato de carbono natural es preferiblemente de 0,01 ~ 0,04 g y más preferiblemente de 0,02 ~ 0,03 g en 100 ml de la composición.

- 35 Además de los ingredientes mencionados anteriormente, el honeybush de la presente invención puede incluir una variedad de nutrientes, vitaminas, minerales, aromas, agentes colorantes, ácido péctico y sus sales, ácido algínico y sus sales, ácido orgánico, agentes espesantes protectores, reguladores de pH, estabilizantes, antisépticos, glicerina, alcoholes, carbonatadores que solían añadirse a gaseosa, etc. El extracto de honeybush, la fracción del mismo o honeybush fermentado de la presente invención también puede incluir pulpa de fruta que puede añadirse a zumo de fruta natural, bebidas de fruta y bebidas de verduras. Todos los ingredientes mencionados pueden añadirse solos o
40 juntos. La proporción de mezclado de esos ingredientes no importa de hecho, pero en general, cada uno puede añadirse en el 0,01 ~ 0,1 en partes en peso por 100 partes en peso de honeybush fermentado de la presente invención.

- 45 El alimento saludable para prevenir o atenuar las arrugas de la piel de la presente invención puede incluir agentes antiarrugas generales además de dicho honeybush fermentado. Cuando se añade un ingrediente adicional que es de ayuda para el cuidado de la salud de la piel, se espera que aumente más el efecto de prevención o atenuación del alimento saludable de la invención en las arrugas de la piel pero también tienen que considerarse la seguridad en la piel, facilidad de formulación, y estabilidad de principios activos. El agente antiarrugas adicional que puede añadirse al alimento saludable de la presente invención es aquellos materiales funcionales notificados por el Ministerio de Seguridad de Alimentos y Medicamentos que se ejemplifican mediante clorela, espirulina, N-acetilglucosamina y gel de aloe, etc, pero no siempre se limita a los mismos. El agente antiarrugas adicional puede
50 incluirse en la proporción del 0,0001 - 10% en peso. En este momento, el % en peso se regular considerado la actividad de síntesis de colágeno o inhibición de collagenasa, y temas de seguridad para la piel, etc.

La presente invención también proporciona un uso del honeybush fermentado para la preparación de una composición cosmética para prevenir o atenuar las arrugas de la piel.

- 55 La presente invención también proporciona un uso del honeybush fermentado para la preparación de una preparación externa para la piel para prevenir o atenuar las arrugas de la piel.

La presente invención también proporciona un uso del honeybush fermentado para la preparación de una

composición farmacéutica para prevenir o atenuar las arrugas de la piel.

Además, la presente invención también proporciona un uso del honeybush fermentado para la preparación de un alimento saludable para prevenir o atenuar las arrugas de la piel.

5 El honeybush fermentado de la presente invención redujo la longitud y profundidad de las arrugas de la piel provocadas por la irradiación UV, redujo el espesor de la capa epidérmica, e inhibió reacciones de degradación de colágeno, sugiriendo un excelente efecto de atenuación de las arrugas de la piel, de modo que puede usarse de manera eficaz para un método para prevenir o atenuar las arrugas de la piel y para una composición que previene o atenúa las arrugas de la piel.

10 Realizaciones prácticas y preferidas en la actualidad de la presente invención son ilustrativas tal como se muestra en los siguiente ejemplos, ejemplos experimentales y ejemplos de fabricación.

Sin embargo, se apreciará que los expertos en la técnica, en consideración de esta divulgación, pueden hacer modificaciones y mejoras dentro del alcance de la presente invención.

Ejemplo 1: Preparación de extracto de honeybush

15 Honeybush se compró de Renewallife (<http://www.renewallife.com>). La muestra comprada se almacenó en un frigorífico para medicinal oriental en el que la temperatura se mantuvo a $5,5 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$ y la humedad se mantuvo a $50+5\%$. Se añadieron 220 ml a 25 g de honeybush (peso total), seguido de reflujo dos veces, durante una hora cada uno. Como resultado, se obtuvo extracto de honeybush. El extracto preparado se filtró con un papel de filtro y el filtrado obtenido se cargó en un concentrador a vacío para eliminar el disolvente. Como resultado, se obtuvieron 4,3 g del extracto de honeybush de la presente invención.

20 **Ejemplo 2: Preparación de honeybush fermentado**

Para preparar el honeybush fermentado de la presente invención, se inoculó 1 ml de bacteria de ácido láctico (*Streptococcus thermophilus*, 3×10^5 UFC/ml) cultivada en medio MRS (de Man, Rogosa, & Sharpe) en 100 ml de leche animal (leche blanca). Se añadieron 3 g de azúcar y el extracto de honeybush preparado en el ejemplo 1 a la leche inoculada (5%, p/v). Entonces, la mezcla se fermentó en un incubador a 37°C durante 1 día. Como resultado, se obtuvieron 100 g del honeybush fermentado de la presente invención.

Ejemplo experimental 1: Evaluación de efecto de atenuación de las arrugas de honeybush fermentado mediante análisis de réplica

Se realizó análisis de réplica para evaluar el efecto de atenuación de las arrugas del extracto de honeybush (comparativo) o honeybush fermentado de la presente invención.

30 <1-1> Animal de ensayo y tratamiento de la muestra

Se utilizaron ratones macho sin pelo HR-1 (Japan SLC, Inc.) de 7 semanas como animales de ensayo. Los ratones se compraron de Central Lab. Animal Inc., y se adaptaron al entorno durante 1 semana antes de usarse. Durante el periodo de adaptación, se observaron las condiciones generales de los ratones para seleccionar los ratones sanos para el experimento. Las condiciones ambientales fueron las siguientes; temperatura: $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$, humedad relativa: $50 + 5\%$, ciclo luz/oscuridad: 12/12 horas (encendido a 7:00 y apagado a 19:00). Los animales de ensayo se distribuyeron en jaulas de policarbonato (200x320x450 mm, Tres-shine Co., Daejeon, Corea), 5 ratones/jaula. Se proporcionaron libremente piensos exclusivos para ratones (5L79, Charles river, EEUU) y agua esterilizada por UV.

40 Tal como se muestra en la tabla 1, el experimento se realizó con 4 grupos, el grupo de control (control), el grupo irradiado con UV (UV), el grupo tratado con extracto de honeybush (HB) y el grupo tratado con honeybush fermentado (STC HB). La muestra de ensayo se administró por vía oral a los ratones usando un zonde de ratón durante 8 semanas, 5 días a semana.

[Tabla 1]

Irradiación UV y dosis

Grupo experimental	UV	Dosis
Grupo de control	X	-
Grupo irradiado con UV	o	Agua esterilizada con UV: 5 ml/kg
Grupo tratado con extracto de honeybush (HB)	o	100 mg/kg
Grupo tratado con honeybush fermentado (STC HB)	o	5ml/kg

<1-2> Irradiación UV

Los grupos experimentales se irradiaron con UV durante 8 semanas, tres veces a la semana, excepto el grupo de control. Se realizó la irradiación UV usando una lámpara de UVB (Mineralight UV Display lamp, UVP, EEUU). La dosis de UV fue de 60 mJ/cm² durante la semana 1 ~ semana 2, 90 mJ/cm² durante la semana 3 ~ semana 5, y 120 mJ/cm² durante la semana 6 ~ semana 8. La dosis de UV se controló regulando las horas de irradiación después de medir la intensidad de radiación usando un instrumento de medición óptica (Delta OHM, Italia).

<1-3> Evaluación de efecto de atenuación de las arrugas mediante análisis de réplica

Para medir el efecto de atenuación de las arrugas de honeybush fermentado de la presente invención, se hizo una réplica en la piel de la espalda de cada ratón sin pelo del ejemplo experimental <1-1> usando caucho de silicona, seguido de observación de la formación de arrugas.

Particularmente, se preparó la réplica usando Repliflo Cartridge Kit (CuDerm Corporation, EEUU), que se aplicó entonces de manera fina sobre la espalda del ratón. Tras el secado completo, el disco se separó de manera cuidadosa para preparar la réplica. La preparación de la réplica se realizó a 20 - 22°C con una humedad del 40 - 50%.

Como resultado, tal como se muestra en la figura 1, se formaron arrugas gruesas y profundas junto con arrugas finas en el grupo irradiado con UV, en comparación con el grupo de control normal. En el grupo tratado con extracto honeybush o el grupo tratado con honeybush fermentado, el grosor o profundidad de las arrugas provocadas por irradiación UV se atenuaron (figura 1).

Además, la atenuación de arrugas gruesas fue más peculiar en el grupo tratado con honeybush fermentado que en el grupo irradiado con UV. Este efecto de atenuación en el grupo tratado con honeybush fermentado también fue superior que el del grupo tratado con extracto de honeybush. Así, las arrugas gruesas se hicieron más finas, casi cercanas a las del grupo de control normal.

Por tanto, se confirmó que el honeybush fermentado de la presente invención tuvo un excelente efecto de atenuación en las arrugas de la piel provocadas por irradiación UV.

<1-4> Evaluación del efecto de atenuación de las arrugas investigando la longitud y profundidad de las arrugas

Para analizar cuantitativamente el efecto de atenuación de las arrugas del extracto de honeybush (comparativo) o honeybush fermentado de la presente invención, se investigaron la longitud y profundidad de las arrugas.

Particularmente, la réplica preparada en el ejemplo experimental <1-3> se usó para medir la longitud y profundidad de las arrugas usando Visioline VL650. La réplica se insertó en el cartucho estándar diseñado para dejar pasar una fuente luminosa específica. Entonces, la fuente luminosa se pasó a un ángulo de incidencia de 35°. Se archivaron imágenes de intensidad de sombra generadas según el grosor de la réplica usando una cámara CCD. Entonces, se midieron la longitud y profundidad de las arrugas usando software Skin Visiometer VL650. Los resultados obtenidos se analizaron por ANOVA de un factor y la prueba t de Student para evaluar la significancia estadística entre los grupos de control y experimental (p<0,05).

Como resultado, tal como se muestra en la figura 2, la longitud de las arrugas aumentó en el grupo irradiado con UV, en comparación con la del grupo de control. Mientras tanto, la longitud de arrugas en el grupo tratado con extracto de honeybush disminuyó en el 0,89% con respecto al grupo irradiado con UV. La longitud de las arrugas en el grupo tratado con honeybush fermentado disminuyó en el 28% con respecto al grupo irradiado con UV. Estos resultados fueron estadísticamente significativos (p<0,05) (figura 2).

Tal como se muestra en la figura 3, la profundidad de arrugas aumentó en el grupo irradiado con UV, en comparación con la del grupo de control. Mientras tanto, la profundidad de las arrugas en el grupo tratado con honeybush fermentado disminuyó en el 17% con respecto al grupo irradiado con UV, que también fue estadísticamente significativo (p<0,05) (figura 3).

De los resultados anteriores, se confirmó que el extracto de honeybush (comparativo) o honeybush fermentado de la presente invención tuvieron un efecto supresor en las arrugas de la piel provocadas por la irradiación UV, y el efecto supresor del honeybush fermentado fue superior al del extracto de honeybush.

Ejemplo experimental 2: Evaluación del efecto de atenuación de las arrugas por tinción histológica

Para confirmar el efecto de atenuación de las arrugas del extracto de honeybush (comparativo) o honeybush fermentado de la presente invención a través de la observación histológica de la piel, se tomaron tejidos de piel de los ratones sin pelo, seguido de tinción histológica.

Particularmente, se tomaron tejidos de piel de cada ratón sin pelo del ejemplo experimental <1-1>, que se fijaron en disolución de formalina neutra al 10%. Lo tejidos fijados se lavaron, deshidrataron, limpiaron, infiltraron, y se incluyeron en parafina según el método convencional. El bloque de parafina se cortó en secciones con un espesor

de 4 μm , seguido de tinción con Hematoxilina & Eosina (H&E) y tinción tricrómica de Masson.

Como resultado, tal como se muestra en la figura 4, se confirmó por tinción con H&E que la capa córnea aumentó en el grupo irradiado con UV, que fue más peculiar que en el grupo de control, y el espesor epidérmico también aumentó. Mientras tanto, la capa córnea se atenuó en el grupo tratado con extracto de honeybush y en el grupo tratado con honeybush fermentado y se redujo el espesor epidérmico (figura 4).

Tal como se muestra en la figura 5, se confirmó por la tinción tricrómica de Masson que la capa córnea apenas se observó y la capa epidérmica no era espesa en el grupo de control. La mayoría de tejido era la capa dérmica, en la que colágeno estaba distribuida de manera regular. Por otro lado, la capa córnea era espesa y no observó colágeno en el grupo irradiado con UV. En el grupo tratado con extracto de honeybush (comparativo) y en el grupo tratado con honeybush fermentado, aumentaron las fibras de colágeno, en comparación con el grupo irradiado con UV (figura 5).

Además, se confirmó por ambos ensayos de tinción que los efectos de reducir la capa córnea y el espesor epidérmico y aumentar la fibra de colágeno fueron superiores en el grupo tratado con honeybush fermentado que en el grupo tratado con extracto de honeybush.

De los resultados anteriores, se confirmó que el extracto de honeybush o honeybush fermentado de la presente invención tuvieron un efecto de atenuación en las arrugas de la piel provocadas por irradiación UV, y el efecto de atenuación del honeybush fermentado fue superior al del extracto de honeybush.

Ejemplo experimental 3: Evaluación del efecto de atenuación de las arrugas observando los cambios de espesor epidérmico

El efecto de atenuación de las arrugas del extracto de honeybush (comparativo) y honeybush fermentado de la presente invención se investigó midiendo los cambios de espesor epidérmico.

Particularmente, para medir el espesor epidérmico, la distancia de la capa de queratina a la membrana basal epidérmica en el tejido teñido con H&E en el ejemplo experimental se midió usando la regla especial equipada en un microscopio. La significancia de los resultados obtenidos para el control y los grupos experimentales se evaluó por ANOVA de un factor y la prueba t de Student ($p < 0,05$). Los resultados obtenidos se analizaron por ANOVA de un factor y la prueba t de Student para evaluar la significancia estadística los grupos de control y experimental ($p < 0,05$).

Como resultado, tal como se muestra en la figura 6, el espesor epidérmico aumentó en el grupo irradiado con UV, en comparación con el del grupo de control. Mientras tanto, el espesor epidérmico en el grupo tratado con extracto de honeybush se redujo en el 40% con respecto al grupo irradiado con UV, y el espesor epidérmico en el grupo tratado con honeybush fermentado se redujo significativamente en el 56% con respecto al grupo irradiado con UV (figura 6).

Este efecto de atenuación en el grupo tratado con honeybush fermentado fue superior al del tratado con extracto de honeybush ($p < 0,05$).

Por tanto, se confirma que el honeybush fermentado de la presente invención redujo significativamente el espesor epidérmico, sugiriendo que es eficaz en atenuar las arrugas de la piel. En este momento, el honeybush fermentado fue más eficaz que el extracto de honeybush.

Ejemplo de fabricación 1: Preparación de cosméticos que contienen honeybush fermentado como principio activo

<1-1> Preparación de agua de tocador emoliente

Se preparó agua de tocador emoliente que contiene el extracto de honeybush (comparativo) o honeybush fermentado de la presente invención como principio activo según la composición mostrada en la [Tabla 2].

[Tabla 2]

Constituyente	Contenido (parte en peso)
Extracto de honeybush o honeybush fermentado	10,00
1,3-butilenglicol	1,00
EDTA-2Na	0,05
Alantoína	0,10
Glicirrizato dipotásico	0,05
Ácido cítrico	0,01

ES 2 604 709 T3

Citrato sódico	0,02
Glicereth-26	1,00
Arbutina	2,00
Aceite de ricino hidrogenado	1,00
Etanol	30,00
Conservante	Cantidad pequeña
Colorante	Cantidad pequeña
Aroma	Cantidad pequeña
Agua purificada	Cantidad correcta

<1-2> Preparación de crema nutritiva

Se preparó crema nutritiva que contiene el extracto de honeybush (comparativo) o honeybush fermentado de la presente invención como principio activo según la composición mostrada en la [Tabla 3].

5 [Tabla 3]

Constituyente	Contenido (parte en peso)
Extracto de honeybush o honeybush fermentado	10,0
1,3- butilenglicol	7,0
Glicerina	1,0
D-pantenol	0,1
Extracto de planta	3,2
Silicato de magnesio y aluminio	0,3
Estearato de PEG-40	1,2
Acido esteárico	2,0
Polisorbato 60	1,5
Estearato de glicerilo, lipófilo	2,0
Sesquioleato de sorbitan	1,5
Alcohol cetearilo	3,0
Aceite mineral	4,0
Escualeno	3,8
Triglicérido cáprico/caprílico	2,8
Aceite vegetal	1,8
Dimeticona	0,4
Glicirrizato dipotásico	Cantidad pequeña
Alantoína	Cantidad pequeña
Hialuronato de sodio	Cantidad pequeña
Acetato de tocoferilo	Cantidad apropiada

Trietanolamina	Cantidad apropiada
Conservante	Cantidad apropiada
Aroma	Cantidad apropiada
Agua purificada	Cantidad apropiada

<1-3> Preparación de esencia

[Tabla 4]

		Constituyente	Contenido (parte en peso)
Fase acuosa	1	Agua purificada	70,58
	2	Extracto de honeybush o honeybush fermentado	8,00
	3	Metilparabeno	0,15
	4	Extracto de ácido hialurónico	2,50
	5	Glicerina	8,00
Fase oleosa	6	Propilparabeno	0,10
	7	Lecitina	0,60
	8	Aceite de nuez de macadamia	10,0
Aditivo	9	Aroma	0,07

- 5 Según la proporción de composición mostrada en la [Tabla 4], se midieron y mezclaron agua purificada, extracto de honeybush (comparativo) o honeybush fermentado (invención), metilparabeno, extracto de ácido hialurónico, y glicerina a $80 \pm 2^\circ\text{C}$ para preparar la fase acuosa. También se midieron y mezclaron propilparabeno, lecitina y aceite de nuez de macadamia a $80 \pm 2^\circ\text{C}$ para preparar fase oleosa.

- 10 La fase oleosa se añadió a la fase acuosa, seguido de mezclado para hacer una mezcla en forma de emulsión. Se añadió aroma a la mezcla, seguido de enfriamiento a 35°C . Como resultado, se preparó esencia que contiene el extracto de honeybush (comparativo) o honeybush fermentado de la presente invención como principio activo.

Ejemplo de fabricación 2: Preparación de formulaciones farmacéuticas que contienen el extracto de honeybush o honeybush fermentado como principio activo

<2-1> Preparación de jarabes

- 15 Se prepararon jarabes que contienen el extracto de honeybush (comparativo) o honeybush fermentado de la presente invención como principio activo según la composición mostrada en la [Tabla 5].

[Tabla 5]

Constituyente	Contenido (parte en peso)
Extracto de honeybush o honeybush fermentado	2
Sacarina	0,8
Sacarosa	25,4
Glicerina	8
Aroma de alimento	0,04
Etanol	4
Acido sórbico	0,4
Agua destilada	60

<2-2> Preparación de comprimidos

Se prepararon comprimidos contienen el extracto de honeybush (comparativo) o honeybush fermentado de la presente invención como principio activo según la composición mostrada en la [Tabla 6].

[Tabla 6]

Constituyente	Contenido (parte en peso)
Extracto de honeybush o honeybush fermentado	250
Lactosa	175,9
Almidón de patata	180
Acido silílico coloidal	32
Disolución de gelatina al 10%	5
Almidón de patata	160
Talco	50
Estearato de magnesio	5

5

Particularmente, se mezclaron todos juntos 250 partes en peso del extracto de honeybush (comparativo) o honeybush fermentado de la presente invención, 175.9 partes en peso de lactosa, 180 partes en peso de almidón de patata y 32 partes en peso de ácido silílico coloidal. Se añadió disolución de gelatina al 10% a la mezcla, que entonces se trituró y filtró con un tamiz de tamaño de malla 14. La mezcla triturada se secó, a la que se añadieron 160 partes en peso de almidón de patata, 50 partes en peso de talco y 5 partes en peso de estearato de magnesio para preparar comprimidos.

10

Ejemplo de fabricación 3: Preparación de alimentos saludables que contienen el extracto de honeybush o honeybush fermentado como principio activo

Se prepararon alimentos que contienen el extracto de honeybush (comparativo) o honeybush fermentado de la presente invención como principio activo de la siguiente manera.

15

<3-1> Preparación de alimentos de harina

Se añadieron a la harina 0,5 – 5,0 partes en peso del extracto de honeybush (comparativo) o honeybush fermentado de la presente invención. Se prepararon con la mezcla de harina alimentos potenciadores de la salud tales como pan, bizcocho, galletas, galletas saladas y tallarines según el método convencional.

20

<3-2> Preparación de sopas y salsas

Se añadieron a sopas y salsas 0,1 ~ 5,0 partes en peso del extracto de honeybush (comparativo) o honeybush fermentado de la presente invención a sopas y salsas. Se prepararon con esta mezcla productos cárnicos, sopas y salsas potenciadores de la salud por el método convencional.

<3-3> Preparación de carne de vacuno picada

25

Se preparó carne de vacuno picada potenciadora de la salud mezclando 10 partes en peso del extracto de honeybush (comparativo) o honeybush fermentado de la presente invención con carne vacuno picada según el método convencional.

<3-4 > Preparación de productos lácteos

30

Se añadieron a leche 5 ~ 10 partes en peso del extracto de honeybush (comparativo) o honeybush fermentado de la presente invención. Se prepararon con la mezcla de leche productos lácteos potenciadores de la salud tales como mantequilla y helados según el método convencional.

<3-5> Preparación de Sun-Sik

Se gelatinizaron arroz pardo, cebada, arroz glutinoso y Yulmu (lágrimas de Job) según el método convencional, se secaron y se trituraron para obtener polvos de tamaño de malla 60.

35

Se cocieron al vapor y se secaron soja negra, sésamo negro y sésamo silvestre según el método convencional y se

trituran para obtener polvos de tamaño de malla 60.

El extracto de honeybush (comparativo) o honeybush fermentado de la presente invención se concentró a presión reducida, se secó por pulverización y se trituró para obtener polvos secos de tamaño de malla 60.

5 Se preparó Sun-Sik mezclando los polvos secos de los granos, semillas y el extracto de honeybush o honeybush fermentado de la presente invención según la proporción a continuación.

Granos (arroz pardo: 30 partes en peso, Yulmu: 15 partes en peso, cebada: 20 partes en peso),

Semillas (sésamo silvestre: 7 partes en peso, soja negra: 8 partes en peso, sésamo negro: 7 partes en peso),

Polvos secos de extracto de honeybush (comparativo) o honeybush fermentado de la presente invención (3 partes en peso),

10 *Ganoderma lucidum* (0,5 partes en peso),

Rehmannia glutinosa (0,5 partes en peso)

<3-6> Preparación de chocolate

Manteca de cacao 30,0 partes en peso

Leche entera en polvo 30,0 partes en peso

15 Azúcar en polvo 41,85 partes en peso

Lecitina 0,45 partes en peso

Aroma 0,1 partes en peso

Extracto de honeybush (comparativo) o honeybush fermentado (invención) 0,6 partes en peso

20 Se preparó chocolate que contiene el extracto de honeybush (comparativo) o honeybush fermentado de la presente invención basándose en las composiciones y los contenidos anteriores siguiendo el método convencional.

<3-7> Preparación de caramelo

Sirope de almidón 37,43 partes en peso

Azúcar blanco 5,33 partes en peso

Aceite vegetal 9,35 partes en peso

25 Emulsionante 0,018 partes en peso

Sal 0,056 partes en peso

Leche desnatada en polvo 28,07 partes en peso

Leche condensada endulzada 3,74 partes en peso

Crema fresca 5,61 partes en peso

30 Aroma 0,07 partes en peso

Extracto de honeybush o honeybush fermentado 10,326 partes en peso

Se preparó caramelo que contiene extracto de honeybush (comparativo) o honeybush fermentado de la presente invención basándose en las composiciones y los contenidos anteriores siguiendo el método convencional.

<3-8> Preparación de golosinas

35 Azúcar 50,0 partes en peso

Sirope de almidón 33,0 partes en peso

Ácido cítrico 1,0 partes en peso

Aroma 0,2 partes en peso

Extracto de honeybush o honeybush fermentado 0,4 partes en peso

Agua 15,4 partes en peso

Se prepararon golosinas que contienen el extracto de honeybush (comparativo) o honeybush fermentado de la presente invención basándose en las composiciones y los contenidos anteriores siguiendo el método convencional.

<3-9> Preparación de pan

5 Huevos 2 cada uno

Azúcar 50 partes en peso

Harina blanda 33,5 partes en peso

Almidón de maíz 6,6 partes en peso

Levadura química 3,3 partes en peso

10 Extracto de honeybush o honeybush fermentado 6,6 partes en peso

Se preparó pan que contiene el extracto de honeybush (comparativo) o honeybush fermentado de la presente invención basándose en las composiciones y los contenidos anteriores siguiendo el método convencional.

Ejemplo de fabricación 4: Preparación de bebidas que contienen el extracto de honeybush o honeybush fermentado como principio activo

15 <4-1> Preparación de bebidas saludables

El extracto de honeybush (comparativo) o honeybush fermentado de la presente invención (0,5%) se mezcló con fructosa líquida (0,5%), oligosacárido (2%), azúcar (2%), sal (0,5%), y agua (75%). Tras mezclar completamente, la mezcla se esterilizó instantáneamente y se rellenó en recipientes pequeños tales como botellas de vidrio, botellas de pet, etc, para preparar bebidas saludables.

20 <4-2> Preparación de zumo vegetal

Se preparó zumo vegetal potenciador de la salud añadiendo 5 g del extracto de honeybush fermentado de la presente invención a 1.000 ml de zumo de tomate o zanahoria según el método convencional.

<4-3> Preparación de zumo de frutas

25 Se preparó zumo de frutas potenciador de la salud añadiendo 1 g del extracto de honeybush o honeybush fermentado de la presente invención a 1.000 ml de zumo de manzana o uva según el método convencional.

Aplicabilidad industrial

30 Tal como se explicó anteriormente en el presente documento, el honeybush fermentado de la presente invención tiene el efecto supresor en la formación de arrugas de la piel provocadas por UV, de modo que puede usarse de manera eficaz para el desarrollo y la producción de cosméticos, preparaciones externas para la piel, medicamentos, o alimentos saludables para prevenir o atenuar las arrugas de la piel.

35 Los expertos en la técnica apreciarán que las concepciones y las realizaciones específicas dadas a conocer en la descripción anterior pueden utilizarse fácilmente como base para modificar o diseñar otras realizaciones para llevar a cabo los mismos fines de la presente invención. Los expertos en la técnica también apreciarán que tales realizaciones equivalentes no se apartan del alcance de la invención tal como se expone en las reivindicaciones adjuntas.

REVINDICACIONES

1. Uso de una composición cosmética que comprende honeybush fermentado como principio activo para prevenir o atenuar las arrugas de la piel, en el que el honeybush fermentado se prepara mediante el método que comprende las siguientes etapas:
 - 5 1) inocular leche animal con bacteria de ácido láctico:
 - 2) mezclar la leche inoculada de la etapa 1) con una fuente de carbono y el extracto de honeybush; y
 - 3) fermentar la mezcla de la etapa 2).
- 10 2. Uso de la reivindicación 1, en el que el extracto de honeybush se prepara extrayendo honeybush con un disolvente seleccionado del grupo que consiste en agua, alcohol inferior C₁ ~ C₂, metanol, hexano, acetona, acetato de etilo, butano normal saturado, clorofomo, cloruro de metileno, y un disolvente mezclado de los mismos.
3. Uso de la reivindicación 2, en el que el alcohol inferior es etanol o metanol.
- 15 4. Uso de la reivindicación 1, en el que la bacteria de ácido láctico de la etapa 1) es *Streptococcus thermophilus*.
5. Uso de la reivindicación 1, en el que la bacteria de ácido láctico de la etapa 1) se inocula a la concentración de $3 \times 10^4 \sim 3 \times 10^6$ UFC/ml.
6. Uso de la reivindicación 1, en el que el extracto de honeybush de la etapa 2) se añade al inóculo en la proporción del 3 ~ 10% (v/v) del volumen total del inóculo.
- 20 7. Uso de la reivindicación 1, en el que la fermentación de la etapa 3) se realiza en un incubador a 35 ~ 38°C durante 1 ~ 3 días.
8. Uso de la reivindicación 1, en el que el honeybush fermentado incluye adicionalmente otros agentes antiarrugas.
- 25 9. Uso de la reivindicación 8, en el que el agente antiarrugas se selecciona del grupo que consiste en retinol, palmitato de retinilo, adenosina, retinamida polietoxilada, colágeno y proteínas de origen placentario animal.
10. Uso de una aplicación externa para la piel que comprende honeybush fermentado como principio activo para prevenir o atenuar las arrugas de la piel.
11. Composición farmacéutica que comprende honeybush fermentado como principio activo para su uso para prevenir o atenuar las arrugas de la piel.
- 30 12. Composición de alimento saludable que comprende honeybush fermentado como principio activo para su uso para prevenir o atenuar las arrugas de la piel.
13. Composición de alimento saludable para el uso de la reivindicación 12, en la que el honeybush fermentado adicionalmente incluye otros agentes antiarrugas.
- 35 14. Composición de alimento saludable para el uso de la reivindicación 13, en la que el agente antiarrugas se selecciona del grupo que consiste en clorela, espirulina, N-acetilglucosamina y gel de aloe.

Fig. 1

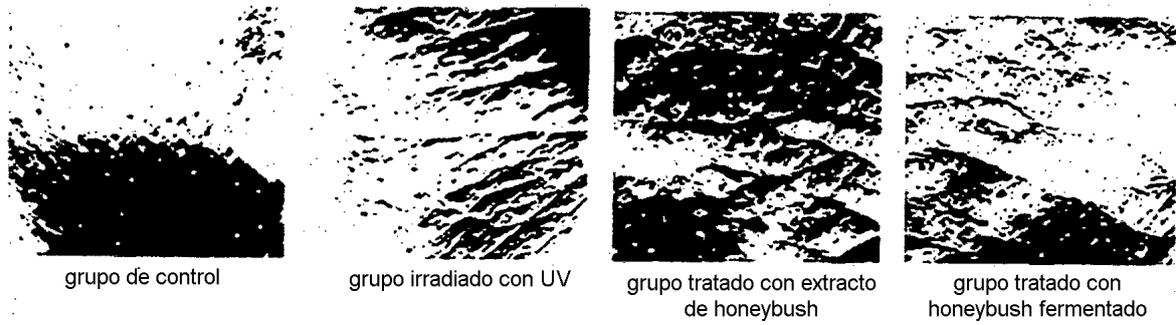


Fig. 2

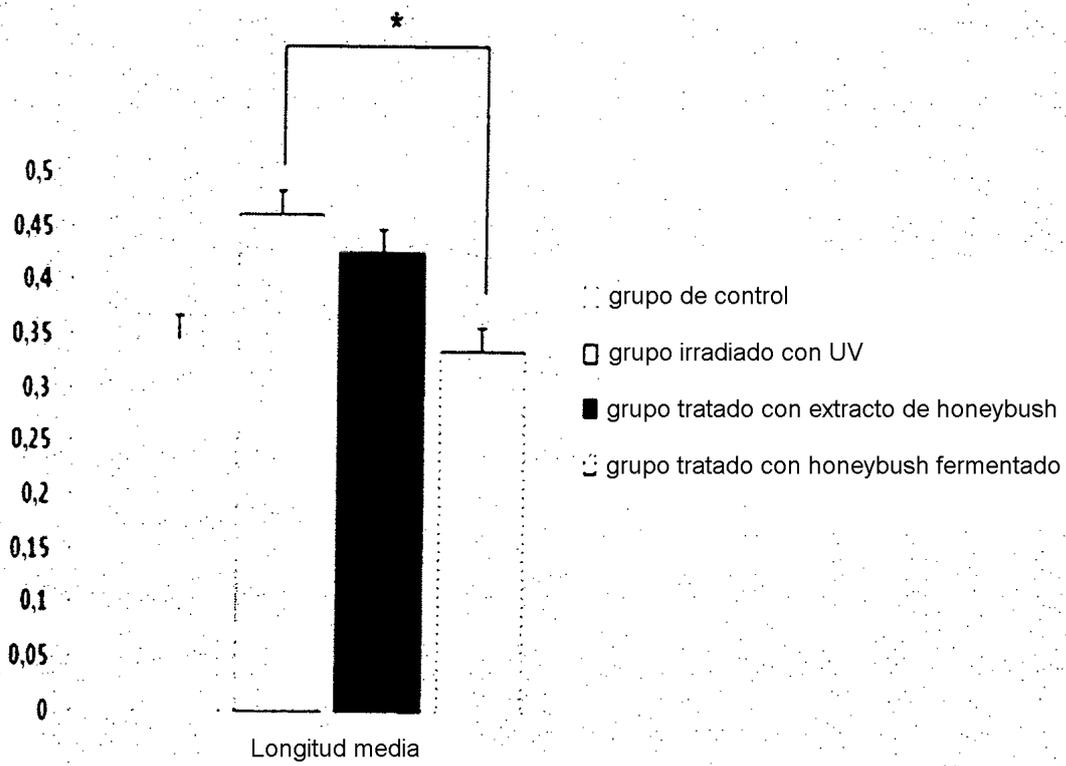


Fig. 3

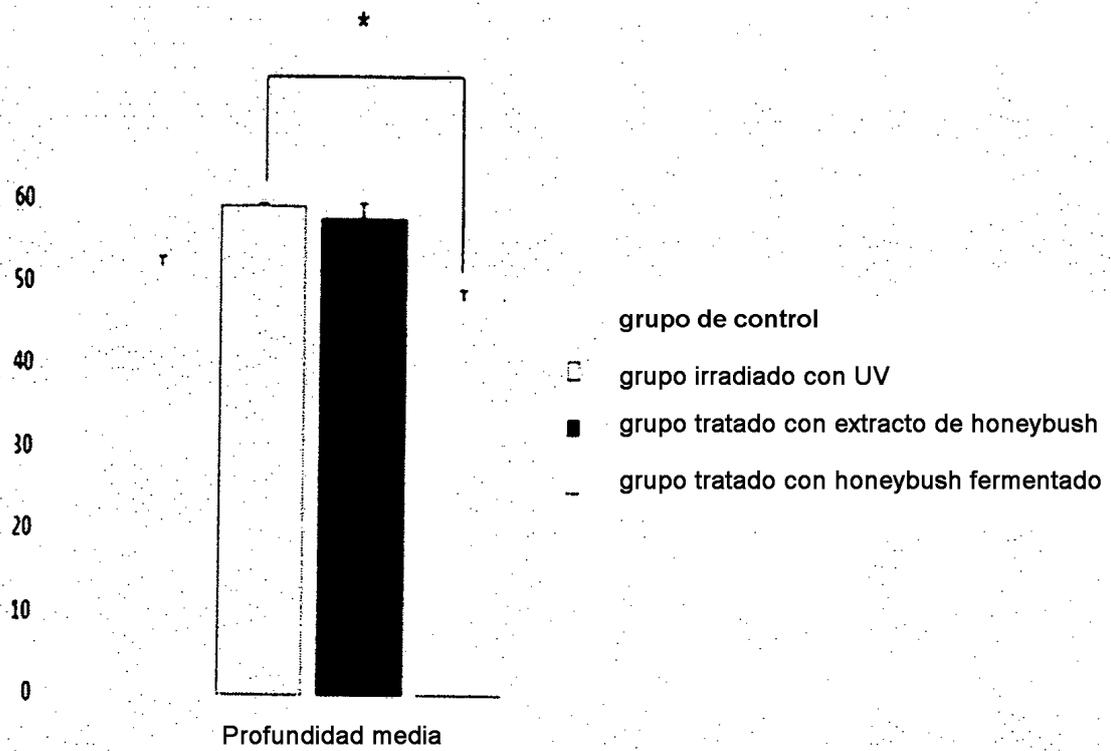


Fig. 4

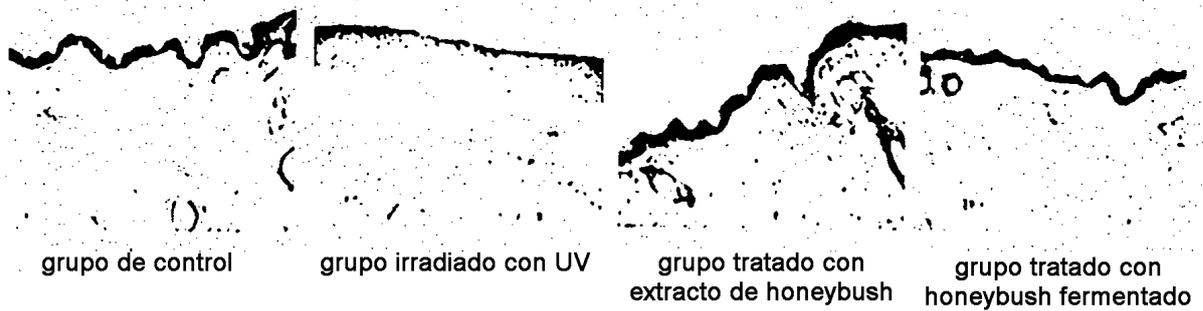


Fig. 5

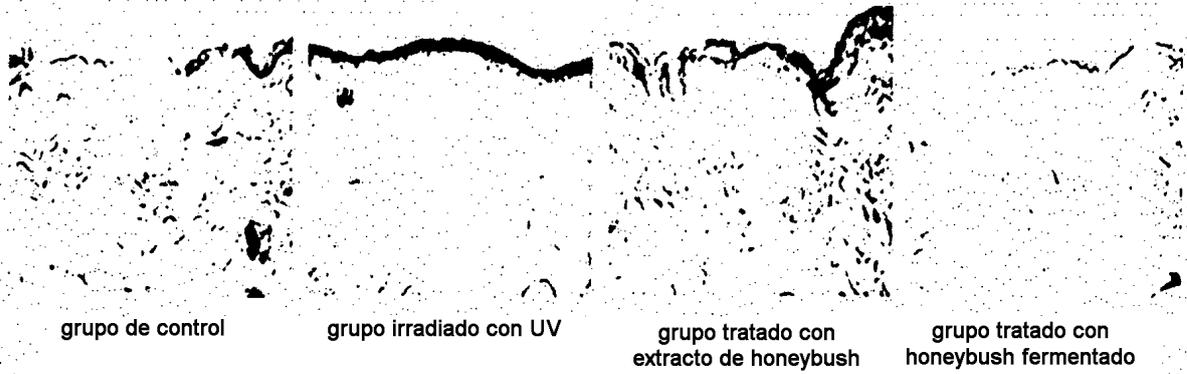


Fig. 6

