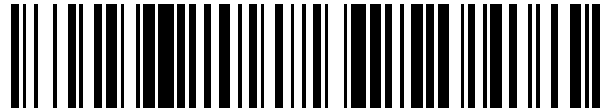


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 608 714**

51 Int. Cl.:

A61K 8/97 (2006.01)

A61Q 19/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.05.2009 PCT/FR2009/050866**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.12.2009 WO09147345**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.05.2009 E 09757721 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.10.2016 EP 2291173**

54 Título: **Asociación de extractos de pasionaria y de anchusa utilizable en cosmética**

30 Prioridad:

13.05.2008 FR 0802590

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

12.04.2017

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

Observaciones :

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

ES 2 608 714 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

Asociación de extractos de pasionaria y de anchusa utilizable en cosmética

- 5 La presente invención se refiere a una nueva composición cosmética y/o dermatológica para la prevención y el tratamiento de los síntomas del envejecimiento cutáneo, y más particularmente a una composición a base de extractos de pasionaria y de anchusa, que proporciona un efecto relajante de la piel y capaz de actuar eficazmente contra las contracciones musculares, en particular las contracciones faciales y las líneas de expresión.
- 10 La piel constituye al mismo tiempo una barrera anatómica viva y una zona de intercambio entre el cuerpo y su entorno, cuya eficacia condiciona el mantenimiento de un buen equilibrio homeostático. Comprende una capa superficial constituida por la epidermis, y unas capas más profundas que forman la dermis y la hipodermis, y cada una de estas capas posee unas propiedades específicas que permiten al conjunto reaccionar y adaptarse a las condiciones de su entorno.
- 15 La capa superficial que forma la epidermis tiene un grosor variable según las diferentes partes del cuerpo, y está principalmente compuesta de queratinocitos (del 85 al 90% de las células epidérmicas), de melanocitos (del 2 al 3% de las células epidérmicas) y de las células de Langerhans. La dermis, más gruesa, se compone principalmente de colágeno, de elastina y de proteoglicanos. Estos tres tipos de moléculas son sintetizadas por los fibroblastos dérmicos. Las fibras de colágeno aseguran la resistencia mecánica y la textura de la piel, la elastina es responsable de la elasticidad, y los proteoglicanos tienen un papel importante 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. La capa más profunda de la piel, la hipodermis, contiene los adipocitos que producen unos lípidos a fin de que el tejido subcutáneo pueda fabricar una capa grasa que proteja los músculos, los huesos y los órganos internos contra los choques.
- 20 El envejecimiento de la piel puede ser intrínseco, o extrínseco, es decir provocado por el entorno, incluyendo las agresiones climáticas, que pueden contribuir en particular a acelerar la degradación del colágeno de la dermis, y en particular la exposición al sol, las variaciones de temperaturas y los radicales libres. Los primeros síntomas del envejecimiento de la piel, tales como las arrugas y las pequeñas arrugas, son generalmente provocados por el estrés y los cambios biológicos y fisiológicos, acelerados por el entorno exterior o por los modos de vida. La aparición de marcas pigmentarias, la disminución del grosor de la piel y su hundimiento son también cambios observados durante el envejecimiento. Se sabe que la capacidad de la piel para sustituir el colágeno dañado disminuye con el tiempo, y en consecuencia, aparecen unos espacios e irregularidades en la red del colágeno.
- 30 El envejecimiento de la piel se acompaña frecuentemente de sensaciones de pesadez, de presión durante el sueño y también de contracciones de los músculos faciales, que determinan las líneas de expresión, en particular alrededor de los ojos y de la boca, o la modificación del microrrelieve epidérmico, en particular debido al estrés. En particular, las líneas de expresión son provocadas por múltiples contracciones y espasmos que padecen diariamente las líneas faciales bajo la acción de los músculos subcutáneos de la cara, que se contraen y se relajan sucesivamente de manera incesante según el ritmo de las emociones.
- 35 Para luchar contra estos síntomas del envejecimiento, es por lo tanto necesario disminuir las fuerzas de contracción de los músculos faciales ejerciendo una inhibición de la liberación de los neuromediadores. Este fenómeno de inhibición tiene como consecuencia provocar una distensión de las líneas faciales y reducir la profundidad de las arrugas faciales.
- 40 Algunos tratamientos conocidos pueden tener por efecto limitar o inhibir las contracciones musculares faciales. Así, se sabe que es posible efectuar un tratamiento estético por inyección de toxina botúlica a nivel de las arrugas a fin de inmovilizar las células en contacto con la toxina, dando a la piel un aspecto más liso. Se ha propuesto también unos implantes de colágeno y de ácido hialurónico para disminuir las líneas de expresión alrededor de los ojos o de la boca, la dermoabrasión para eliminar la capa superior de la piel dañada, la cirugía estética, tal como la blefaroplastia (cirugía de los párpados), o un "lifting" para retensar una piel que presenta flacidez, o también una reestructuración con la ayuda de un láser con dióxido de carbono para eliminar las pequeñas arrugas.
- 45 Se ha propuesto también utilizar unas composiciones cosméticas que contienen unas sustancias con acción exfoliante, como los alfa-hidroxi ácidos, por ejemplo el ácido láctico y el ácido glicólico, para facilitar la eliminación de las células muertas y estimular la formación de colágeno y de elastina. Se conocen también unas composiciones a base de ácido retinoico o de retinol que pueden actuar contra los síntomas del envejecimiento cutáneo tales como la sequedad, la pérdida de elasticidad de la piel y la formación de arrugas, así como unas cremas relajantes a base de magnesio o de manganeso que inhiben el flujo de calcio en las células, que causa la la contracción muscular, a fin de reducir las microespasmos de la piel y retardar la aparición de las líneas de expresión.
- 50 Sin embargo, a pesar de las diversas composiciones disponibles, existe todavía la necesidad de poder disponer de nuevas composiciones tópicas alternativas que permitan luchar eficazmente contra los efectos del envejecimiento cutáneo y las líneas de expresión, y en particular unas composiciones tópicas a base de extractos vegetales
- 55
- 60
- 65

apropiados que provienen preferiblemente de plantas conocidas por sus propiedades favorables.

La pasionaria, de la familia de las passifloraceae, es una planta medicinal perenne utilizada en infusiones por su efecto calmante y sedativo. Comprende varios centenares de especies, de las cuales, algunas como *Passiflora edulis* y *Passiflora ligularis* son conocidas por dar unos frutos comestibles (fruta de la pasión y granadilla). La patente EP 1 541 037 describe unas composiciones para la administración por vía oral, que contiene un extracto de pasionaria y de ácidos grasos, que pueden ser utilizadas como aditivos alimenticios. La solicitud de patente EP 1 537 789 describe una composición con actividad antiinflamatoria para la aplicación tópica o para la administración por vía oral que contiene un carotenoide, un tocoferol, un extracto de pasionaria y un extracto de arándano; tales composiciones son eficaces para luchar contra los efectos perjudiciales generados por una exposición excesiva a las radiaciones solares. Otros aditivos dietéticos a base de extractos de raíces de kava en asociación con unos extractos vegetales, en particular de flores de pasionarias y de camomila, se describen en la patente US 5,770,207. En la patente EP 1 002 524 se describen unas composiciones cosméticas destinadas a luchar contra el envejecimiento de la piel y que contiene unos aceites ricos en ácidos grasos esenciales, así como un extracto de pasionaria. La solicitud de patente US 2007/134189 describe unas composiciones antiarrugas a base de extractos de pasionaria, de menta, de amapola y de arándanos. La solicitud de patente JP 2002-332224 describe una composiciones cosméticas para luchar contra el envejecimiento cutáneo que contiene un extracto de pasionaria a título de compuesto que permite eliminar los iones superóxido y un aditivo seleccionado entre los agentes hidratantes, los anti-oxidantes, los activadores de células, los agentes de blanqueamiento y los filtros solares.

Unos extractos de anchusa (*Anchusa officinalis*) se propusieron en unas composiciones alimenticias, en asociación con otros extractos vegetales tales como *Magnolia officinalis*, *Nelumbo nucifera* y *Origanum vulgare*, para inhibir la formación de mercaptanos bajo la acción de bacterias, como se indica en la patente JP 2005/162697. Unos estudios han mostrado que unos extractos de raíces de *Anchusa strigosa* pueden tener un efecto protector de la úlcera inducida por el etanol en la rata (AM Disi *et al.*, J. Ethnopharmacol. 1998, p.189-98). Ya se ha propuesto, en particular en la solicitud de patente US 2006/018867, la utilización de extractos de anchusa a título de agente hidratante o suavizante en unas composiciones cosméticas.

Los trabajos realizados por la solicitante han mostrado que es posible actuar eficazmente contra las contracciones musculares faciales responsables de los síntomas del envejecimiento cutáneo y en particular de las líneas de expresión, mediante composiciones tópicas a base de extractos de pasionaria y de anchusa.

La presente invención tiene por lo tanto por objeto una nueva composición cosmética y/o dermatológica a base de plantas, y más particularmente a base de extractos de pasionaria y de anchusa que presenta unos efectos de inhibición de las contracciones musculares faciales incontroladas que provocan las líneas de expresión.

La presente invención tiene también por objeto la utilización de un extracto de pasionaria asociado a un extracto de anchusa para la preparación de una composición tópica cosmética y/o dermatológica destinada a luchar contra los síntomas del envejecimiento cutáneo, y en particular las líneas de expresión provocadas por las contracciones musculares faciales incontroladas.

La invención tiene también por objeto un procedimiento cosmético de tratamiento de la piel para luchar contra los síntomas del envejecimiento cutáneo, y en particular las líneas de expresión provocadas por las contracciones musculares faciales incontroladas, que consiste en aplicar sobre las zonas de la piel que necesitan tal tratamiento, una composición cosmética tópica que comprende una cantidad eficaz de la asociación de un extracto de pasionaria y de un extracto de anchusa según la invención, en combinación, llegado el caso, con soportes y excipientes cosméticamente aceptables.

Las composiciones según la presente invención comprenden, en asociación con un extracto de pasionaria y un extracto de anchusa, llegado el caso, en combinación con los soportes y excipientes habituales en las composiciones cosméticas y dermatológicas, farmacéutica y cosméticamente aceptables.

La relación en peso del extracto de pasionaria con el extracto de anchusa en las composiciones de la invención puede variar de 1:30 a 6:1 aproximadamente, y preferentemente de 1:1 a 4:1.

La concentración del extracto de pasionaria en la composición total de la invención puede variar del 0,1% al 3%, preferentemente del 0,2% al 2%, mientras que la concentración en extracto de anchusa varía generalmente del 0,2% al 3%, preferentemente del 0,5% al 1%. Estas concentraciones se expresan en extracto hidroglicerinado de pasionaria y de anchusa, tal como se describe a continuación. A título de ejemplo, en el caso de una asociación de pasionaria y de anchusa en una relación en peso de 2:1, la concentración de la asociación en la composición total puede variar del 0,1 al 20% en peso, y preferentemente del 2 al 10%.

Según la invención, se utilizan las partes aéreas, en particular las puntas florecidas de anchusa y de pasionaria, que comprenden las flores y nuevas hojas de la parte apical, con preferencia a las demás partes de las plantas, para preparar los extractos utilizables en las composiciones cosméticas y dermatológicas.

Los extractos se preparan a partir de plantas secas, representando el extracto alrededor del 5% del peso total de la planta. Se pueden preparar por ejemplo unos extractos hidroalcohólicos, por ejemplo unos extractos hidroglicólicos o hidroetanólicos, o unos extractos hidroglicerizados como se indica a continuación. Después del secado y de la pulverización de las plantas, la extracción se lleva a cabo preferentemente por percolación a razón de 100 g de planta por 500 g de agua. Se exprime la pasta y los licores se combinan y se completan con 500 g mediante adición de glicerina biológica.

El extracto de pasionaria utilizado en la invención presenta las características siguientes. En este ejemplo, el extracto utilizado es un extracto hidroglicerizado obtenido a partir de la especie *Passiflora incarnata*.

10

<i>Passiflora incarnata</i> (extracto seco) (partes aéreas florecidas)	0,5%
Agua	49,75%
Glicerina	49,75%
Densidad a 22°C (1,050 – 1,150)	1,117
Índice de refracción a 22°C (1,380 – 1,420)	1,400
pH (4,9 a 6,9)	5,89

Las características del extracto de anchusa de la invención se indican a continuación. La especie de anchusa utilizada en este ejemplo es *Anchusa arvensis*.

15

<i>Anchusa arvensis</i> (extracto seco)(puntas florecidas)	1,0%
Agua	49,5%
Glicerina	49,5%
Densidad a 22°C (1,050 – 1,150)	1,122
Índice de refracción a 22°C (1,380 – 1,420)	1,401
pH (6,0 a 8,0)	7,0

Los extractos hidroglicerizados utilizados en la invención presentan la ventaja de poder ser conservados durante un periodo prolongado en condiciones normales de temperatura y de humedad, sin que sea necesario añadir un conservante. Sin embargo, es posible disminuir la cantidad de glicerina y añadir un conservante habitual. Así, se puede utilizar un extracto con el 20 o 30% de glicerina adicionado de un conservante apropiado, tal como el benzoato de sodio o el sorbato de potasio.

20

Las composiciones de la invención pueden ser utilizadas ventajosamente en cosmetología y en dermatología para el tratamiento o la prevención de los síntomas del envejecimiento cutáneo, más particularmente para prevenir o reducir las líneas de expresión que resultan de las contracciones musculares faciales incontroladas.

25

Las diversas especies y variedades conocidas de pasionaria tienen unas propiedades sedativas, mientras que la anchusa (o guglosa o alkana), que pertenecen a la familia de las borragináceas, en particular *Anchusa sylvestris*, es conocida por sus propiedades colorantes, diuréticas y antitusivas. Las pasionarias son unas plantas que se encuentran en abundancia en diversas regiones de clima suave y cuyo cultivo es relativamente fácil. La anchusa es una planta perenne de tallo recto que puede alcanzar 40 a 60 cm, que da unas flores de azules a purpúreas en racimos, que se encuentran habitualmente en diversas regiones europeas, en particular en el área mediterráneo, así como en Asia.

30

Según la invención, se utiliza un extracto de la especie *Passiflora incarnata*.

35

Según la invención, se utiliza un extracto de la especie *Anchusa arvensis*.

Se ha constatado que, de manera inesperada, la asociación de extractos de pasionaria y de extractos de anchusa presenta unas propiedades útiles en cosmetología y en dermatología para luchar eficazmente contra las contracciones faciales y las líneas de expresión.

40

Las propiedades de la asociación de pasionaria y de anchusa según la presente invención se han demostrado mediante unos ensayos de evaluación del efecto de la composición frente a la sensibilidad y la relajación cutánea inducidas por los neuropéptidos (sustancia P, CGRP y acetilcolina).

45

Los resultados de los ensayos detallados a continuación han demostrado una excelente actividad de la asociación de pasionaria y de anchusa sobre el CGRP ("Calcitonine Gene Related Protein"), la sustancia P y la acetilcolina. Así, según las concentraciones utilizadas, se ha podido constatar:

50

* una disminución de hasta el 25% de la liberación de la sustancia P,

* una disminución de hasta el 23% de la liberación de la CGRP (Calcitonine Gene Related Protein),

* una disminución de hasta el 28% de la fijación de la sustancia P sobre su receptor a nivel de los queratinocitos humanos en cultivo,

* una disminución de hasta el 27% de la liberación de acetilcolina con respecto al control no tratado.

5 Estos resultados se han obtenido con una asociación de extractos hidroglicerizados de pasionaria y de anchusa sobre unos cultivos celulares, y confirman que, en aplicación tópica, la composición de la invención presenta un efecto de relajación muscular.

10 Como se ha indicado anteriormente, la invención se refiere también a un procedimiento cosmético de tratamiento de la piel afectada por unas líneas de expresión que resultan de contracciones musculares faciales incontroladas. Según la invención, se puede aplicar la composición descrita anteriormente a razón de una o dos aplicaciones por día durante un periodo de tiempo adecuado a la situación de la persona.

15 Según una forma ventajosa de realización, la composición a base de extractos de pasionaria y de anchusa se puede completar por unos principios activos o ingredientes auxiliares seleccionados por sus propiedades complementarias, a fin de reforzar el efecto de inhibición de las contracciones musculares faciales o complementar los efectos anti-edad de la composición.

20 Así, es particularmente ventajoso combinarla con unas cantidades apropiadas de extractos de flores de loto azul (*Nymphaea caerulea*) y de malvavisco (*Althea officinalis*), y eventualmente de extracto de amapola (*Papaver rhoeas*), o también un palmitoilpentapéptido-3 tal como el Matrixyl® o unos derivados tales como el palmitoil GHK (que posee la cadena glicil-histidil-lisina) y el palmitoil GQPR (glicil-glutamil-prolil-arginina) o el palmitoil VGVAPG (valil-glicil-valil-alanil-prolil-glicina).

25 Se pueden añadir también unas globulinas de guisante o unos mucílagos tales como unos mucílagos de frutas de baobab a fin de obtener un efecto tensor de la piel, de aceite de *Calophyllum* a fin de reforzar el efecto antiarrugas, de *Imperata cylindrica*, a fin de favorecer la hidratación de la piel por modificación de la presión osmótica, del mucílago de amapola, unos extractos de *Senna alata* que favorece la protección solar, así como, de manera general, cualquier asociación con una ceramida.

30 Las composiciones conformes a la presente invención se pueden presentar en formas clásicamente utilizadas para una aplicación tópica, es decir en forma de gel, loción, emulsión (en particular crema o leche), suero (o esencia), máscara o pomada, que contiene unos excipientes y soportes habituales compatibles y farmacéuticamente aceptables. Pueden también presentarse en forma de toallitas húmedas de una solución que contiene los extractos según la invención.

35 Estas formas de administración por vía tópica se preparan mediante las técnicas conocidas, y por ejemplo, en el caso de una crema, por dispersión de una fase grasa en una fase acuosa para obtener una emulsión de aceite en agua, o a la inversa, para preparar una emulsión de agua en aceite. En el caso de cremas, se utilizan preferentemente unas emulsiones de estructura laminar que contienen poco o ningún producto etoxilado.

40 Las composiciones tópicas según la invención pueden comprender diversos excipientes habituales adecuados 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, por ejemplo, unos agentes que favorecen la penetración tales como el etoxidifenol, el fitantriol, el octildodecanol y la escina; unos agentes hidratantes tales como el propilenglicol, la glicerina, el butilenglicol; unos espesantes tales como las gomas naturales y los polímeros de síntesis; unos emolientes y unos 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; unos emulsionantes; unos colorantes; unos perfumes; etc. Se pueden añadir también unas vitaminas antioxidantes tales como la vitamina E, por ejemplo el acetato de tocoferol o el tocotrienol, la vitamina C, los polifenoles naturales, o también unos agentes de exfoliación de la piel, tales como el nylon y el nitrato de boro.

45 Llegado el caso, se pueden añadir unos conservantes tales como el benzoato de sodio, el sorbato de potasio, el fenoxietanol, el Phenonip® que asocia un fenoxietanol y unos parahidroxibenzoatos de metilo, etilo, butilo e isobutilo.

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

Ejemplo 1

55 El estudio de los efectos de la asociación de extractos de pasionaria y de anchusa de la presente invención se ha llevado a cabo en unos ganglios de la raíz dorsal de ratas según el protocolo experimental siguiente.

Protocolo experimental

5 Las células de ganglios se han extraído lo más estérilmente posible, y se han conservado en un tampón bajo antibiótico. Se han cultivado durante 17 días en un medio DMEM que contiene suero fetal de ternera. Durante este tiempo de cultivo, las células han emitido unas prolongaciones de dendritis que segregan los neuropéptidos.

10 Después de 17 días de cultivo, el medio se ha eliminado y se ha añadido un medio fresco, o bien solo, o bien adicionado de diferentes concentraciones de la asociación de extractos según la invención. Las cajas se pusieron a incubar durante 24 horas a 37°C en un horno con un 95% de oxígeno y un 5% de CO₂.

10 Al final del periodo de incubación (24 horas), el medio de cultivo se recuperó. Los neuropéptidos (sustancia P, CGRP, adrenalina y acetilcolina) se analizaron gracias a un anticuerpo monoclonal específico.

15 Análisis de la sustancia P

15 Las células se incuban en presencia o en ausencia del producto en estudio. Al final del tiempo de incubación, se extrae el medio, después se determina la sustancia P por reacción inmunológica con unos anticuerpos monoclonales específicos para este neuropéptido.

20 El ensayo se lleva a cabo por triplicado después de 24 horas de tratamiento.

* lote 1: control negativo

25 * lote 2: control positivo (inducción por la capsaicina)

* lotes 3 – 5: tratados por la asociación de extractos de pasionaria y de anchusa a 3 concentraciones (0,1%, 0,5% y 1%).

30 La relación en peso pasionaria/anchusa es de 2:1 para las tres concentraciones ensayadas.

Los resultados se agrupan en la tabla siguiente:

	Sustancia P (pg/ml)	Porcentaje
Control	45,9 ± 3,4	-
Control positivo capsaicina (25 µM)	67,4 ± 4,2	+47
Pasionaria + anchusa (0,1%)	38,2 ± 3,0*	-14
Pasionaria + anchusa (0,5%)	36,3 ± 2,2*	-21
Pasionaria + anchusa (1%)	34,2 ± 3,7*	-25

35 * significativamente diferente con respecto al control $p \leq 0,05$ (Wilcoxon Rank Sum Test).

35 Análisis de la CGRP

40 Los cultivos primarios de células nerviosas se obtienen de la misma manera que para la sustancia P y el análisis de la CGRP se lleva a cabo por reacción inmunológica con unos anticuerpos monoclonales específicos de la CGRP.

El ensayo se lleva a cabo por triplicado después de 24 horas de tratamiento.

* lote 1: control negativo

45 * lote 2: control positivo (inducción por la capsaicina)

* lotes 3 – 5: tratados por la asociación de extractos de pasionaria y de anchusa a 3 concentraciones (0,1%, 0,5% y 1%).

50 Como para el análisis anterior, la relación en peso pasionaria/anchusa es de 2:1 para las tres concentraciones ensayadas.

Los resultados se agrupan en la tabla siguiente:

	CGRP (pg/ml)	Porcentaje
Control	275,4 ± 13,8	-
Control positivo capsaicina (25 µM)	321,3 ± 10,7*	+17
Pasionaria + anchusa (0,1%)	238,3 ± 17,3*	-13
Pasionaria + anchusa (0,5%)	233,0 ± 21,2*	-19

ES 2 608 714 T3

Pasionaria + anchusa (1%)	212,3 ± 19,6*	-23
---------------------------	---------------	-----

* significativamente diferente con respecto al control $p \leq 0,05$ (Wilcoxon Rank Sum Test).

Análisis de la acetilcolina

5 Las células nerviosas son inoculadas como anteriormente. Las células se incuban en presencia o en ausencia de la asociación de extractos de la invención. Al final del tiempo de incubación, se extrae el medio, después se analiza la acetilcolina por reacción inmunológica con unos anticuerpos monoclonales específicos.

10 El ensayo se lleva a cabo por triplicado después de 24 horas de tratamiento.

* lote 1: control negativo

15 * lotes 2 - 4: tratados por la asociación de extractos de pasionaria y de anchusa a 3 concentraciones (0,1%, 0,5% y 1%).

20 El análisis de la acetilcolina se determina con la ayuda del kit Amplex[®] Red (acetilcolina/acetilcolinesterasa) que proporciona un método ultrasensible. Los usos potenciales de este kit incluyen el cribado de los inhibidores de acetilcolina esterasa y la medición de la liberación de la acetilcolina de los sinaptosomas.

20 El análisis de la acetilcolina se evalúa con la ayuda de un lector de microplaca utilizando una excitación a 560 nm y una detección de la fluorescencia a 590 nm.

Los resultados se agrupan en la tabla siguiente:

	Acetilcolina (µM)	Porcentaje
Control	27,2 ± 2,2	-
Pasionaria + anchusa (0,1%)	23,0 ± 1,8*	-15
Pasionaria + anchusa (0,5%)	21,1 ± 2,4*	-22
Pasionaria + anchusa (1%)	19,8 ± 1,5*	-37

* significativamente diferente con respecto al control $p \leq 0,05$ (Wilcoxon Rank Sum Test).

Evaluación de la afinidad frente al receptor de la sustancia P a nivel de los queratinocitos humanos en cultivo

30 Los queratinocitos se incuban en presencia o en ausencia del producto en estudio o del ligando no radioactivo (Sar9, Met(O2)11)-SP, con 3H (Sar9, Met(O2)11)-SP.

35 Después de la incubación, se analiza la radioactividad para determinar el potencial del producto en estudio para entrar en competencia con la sustancia P.

El ensayo se lleva a cabo por triplicado después de 24 horas de tratamiento.

* lote 1: control negativo

40 * lote 2: control positivo (competencia del ligando marcado y no marcado)

45 * lotes 3 – 5: tratados por la asociación de extractos de pasionaria y de anchusa a 3 concentraciones (0,1%, 0,5% y 1%).

Como para los análisis anteriores, la relación en peso pasionaria/anchusa es de 2:1 para las tres concentraciones ensayadas.

50 Este estudio se basa en la competencia de la asociación de extractos de pasionaria y de anchusa con la sustancia P marcada. Este resultado se traduce por una disminución de la fijación específica de la sustancia P marcada en su receptor cuando el producto entra en competencia.

Los resultados son agrupados en la tabla siguiente:

	Cpm	Porcentaje
Control	1823 ± 117	-
Pasionaria + anchusa (0,1%)	1539 ± 132*	-16
Pasionaria + anchusa (0,5%)	1424 ± 163*	-22
Pasionaria + anchusa (1%)	1305 ± 112*	-28

* significativamente diferente con respecto al control $p \leq 0,05$ (Wilcoxon Rank Sum Test).

5 Así, los resultados expuestos en los ensayos anteriores, muestran que el producto ensayado, con respecto al producto no tratado:

* inhibe hasta el 25% de la liberación de la sustancia P,

10 * inhibe hasta el 23% de la liberación de CGRP,

* inhibe hasta el 28% de la fijación de la sustancia P en su receptor a nivel de los queratinocitos humanos en cultivo,

* inhibe hasta el 27% de la liberación de acetilcolina con respecto al control no tratado.

15 Estos resultados muestran que la asociación pasionaria/anchusa según la invención puede eliminar la actividad de la sustancia P y la CGRP, inhibiendo su liberación y entrando en competencia con la sustancia P en su receptor. Esta actividad a nivel de los neuropéptidos, y más precisamente la inhibición de su liberación, se puede deber a la inhibición de la acetilcolina. En efecto, se ha demostrado que la acetilcolina puede activar las fibras C nociceptivas con, como consecuencia, un aumento de la concentración de CGRP y de la sustancia P.

20 Ejemplo 2

Según las técnicas clásicas, se prepara una emulsión fluida relajante de los músculos faciales que tiene la composición ponderal siguiente.

25 Fase A

Araquidilo glucósido	1,5
Cetearilo glucósido	1,0
Alcohol behenílico	2,0
Alcohol araquidílico	0,5
Manteca de Cupuaçu	1,0
Manteca de Karité	1,0
Aceite de hueso de ciruela	1,0
Triglicéridos cáprico/caprílico	2,0
Tocoferol	0,5
<u>Fase B</u>	
Agua desmineralizada	c.s.p. 100,0
Ácido fítico	0,2
Ácido deshidroacético	0,1
Benzoato de sodio	0,2
Goma xantana	0,1
<u>Fase C</u>	
Extractos de pasionaria/anchusa (2:1)	5,0
Agua de lechuga	20,0
Extracto de <i>Bacopa monnieri</i>	1,0
Argirelina (hexapéptido-3 de acetilo)	0,5

30 Los componentes de la fase grasa se mezclan cuidadosamente a 70°C, y se añade la fase acuosa B, después la fase C mezclada a 40°C y se mantiene bajo agitación hasta obtener una fase homogénea.

El extracto pasionaria/anchusa utilizado en la composición anterior es un extracto hidroglicerinado de *Passiflora incarnata* y de *Anchusa arvensis*.

35 Esta crema fluida se puede aplicar sobre la cara y provoca un efecto de relajación de los músculos faciales observados a partir de la primera aplicación.

Ejemplo 3

40 Se prepara una crema rica a base de extractos de pasionaria/anchusa (2:1) que tiene la composición ponderal siguiente mediante las técnicas habituales

<u>Fase A</u>	
Lecitina hidrogenada + alcohol C10-C20 (Biophilic H [®])	4,0
Aceite de borraja	2,0

ES 2 608 714 T3

Aceite de Inca-inchi	2,0
Aceite de Tamanol (<i>Calophyllum inophyllum</i>)	0,5
Macerado oleoso de zanahorias	0,5
Macerado oleoso de hidrocotilo asiático (<i>Centella asiatica</i>)	0,5
Manteca de Karité	3,0
Alcohol behenílico	2,0
Estearato de glicerilo	1,5
<u>Fase B</u>	
Agua desmineralizada	c.s.p. 100,0
Ácido deshidroacético	0,1
Ácido levulínico	0,1
Levulinato de sodio	0,2
Benzoato de sodio	0,1
Ácido fítico	0,1
Goma xantana	0,1
<u>Fase C</u>	
Extractos de pasionaria/anchusa (2:1)	7,0
Extracto de nenúfar	1,0
Péptidos de semillas de guisante	2,0
Agua de Hamamelis	10,0
<u>Fase D</u>	
Esencia de madera de rosa	0,1

La fase acuosa B se homogeneiza a 73°C y se agrega a la fase oleosa A previamente mezclada a 75°C, después se añade bajo agitación la fase C que contiene los extractos de pasionaria y de anchusa a 40°C, y se complementa mediante esencia de madera de rosa.

5

Ejemplo 4

Se prepara una esencia a base de extractos de pasionaria/anchusa (2:1) que tiene la composición ponderal siguiente mediante las técnicas habituales. Esta esencia está destinada a un tratamiento intensivo ("tratamiento de choque").

10

<u>Fase A</u>	
Agua de rosas	30
Agua de Hamamelis	10,0
Agua de hiedra terrestre	10,0
Agua de lechuga	5,0
Extractos de pasionaria/anchusa (2:1)	10,0
Extracto de flor de loto azul	1,0
Extracto de raíz de malvavisco	0,2
Extracto de <i>Goupia glabra</i>	0,2
Argireline (hexapéptido-3 de acetilo)	3,0
<u>Fase B</u>	
Goma esclerocio	0,3
<u>Fase C</u>	
Ácido deshidroacético	0,1
Alcohol bencílico	0,9
Ácido fítico	0,1
<u>Fase D</u>	
Serina	0,02
Lisina	0,02
Glicocola	0,02
<u>Fase E</u>	
Glicerina	5,0
Agua desmineralizada	c.s.p. 100,0

Los componentes de la fase A se mezclan cuidadosamente a temperatura ambiente, se disuelve en ellos la fase B, después se añade la fase C, y en la mezcla obtenida se disuelve la fase D, después se añade la fase E y se complementa con agua. Se obtiene así una esencia para un tratamiento de ataque destinada a ser aplicada sobre la piel para provocar una relajación rápida de los músculos faciales.

15

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición cosmética y/o dermatológica que comprende, en asociación, un extracto hidroglicerinado de *Passiflora incarnata* y un extracto hidroglicerinado de *Anchusa arvensis*, siendo dichos extractos obtenidos por percolación a partir de las partes aéreas de las plantas, y en combinación, llegado el caso, con unos soportes y excipientes farmacéutica y cosméticamente aceptables.
- 10 2. Composición según la reivindicación 1, caracterizada por que la relación en peso del extracto hidroglicerinado de *Passiflora incarnata* con el extracto hidroglicerinado de *Anchusa arvensis* varía de 1:30 a 6:1.
3. Composición según la reivindicación 2, caracterizada por que la relación en peso del extracto hidroglicerinado de *Passiflora incarnata* con el extracto hidroglicerinado de *Anchusa arvensis* varía de 1:1 a 4:1.
- 15 4. Composición según la reivindicación 1, caracterizada por que la concentración del extracto hidroglicerinado de *Passiflora incarnata* en la composición total varía del 0,1% al 3% en peso.
5. Composición según la reivindicación 1, caracterizada por que la concentración del extracto hidroglicerinado de *Anchusa arvensis* en la composición total varía del 0,2% al 3% en peso.
- 20 6. Composición según la reivindicación 1, caracterizada por que comprende una asociación de extractos hidroglicerinos de *Passiflora incarnata* y de *Anchusa arvensis* cuya concentración varía del 0,1 al 20% en peso de extracto seco con respecto al peso total de la composición.
- 25 7. Utilización de un extracto hidroglicerinado de *Passiflora incarnata* asociado a un extracto hidroglicerinado de *Anchusa arvensis*, siendo dichos extractos obtenidos por percolación, a partir de las partes aéreas de las plantas para la preparación de una composición cosmética y/o dermatológica destinada a luchar contra los síntomas del envejecimiento cutáneo.
- 30 8. Utilización según la reivindicación 7, caracterizada por que la composición está destinada a luchar contra las líneas de expresión provocadas por las contracciones musculares faciales incontroladas.
- 35 9. Procedimiento cosmético de tratamiento de la piel para luchar contra los síntomas del envejecimiento cutáneo, caracterizado por que consiste en aplicar sobre las zonas de la piel que necesitan tal tratamiento una composición cosmética tópica que comprende una cantidad eficaz de la asociación de un extracto hidroglicerinado de *Passiflora incarnata* y de un extracto hidroglicerinado de *Anchusa arvensis*, siendo dichos extractos obtenidos por percolación a partir de las partes aéreas de las plantas, y en combinación, llegado el caso, con unos soportes y excipientes farmacéutica y cosméticamente aceptables.