

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 667 751**

51 Int. Cl.:

A61Q 19/00 (2006.01)

A61K 8/92 (2006.01)

A61K 8/97 (2007.01)

A61Q 19/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.10.2014 PCT/EP2014/071006**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.04.2015 WO15049265**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.10.2014 E 14780461 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.03.2018 EP 3052198**

54 Título: **Composición oleosa que contiene un extracto de hemerocallis y sus utilizaciones**

30 Prioridad:

02.10.2013 FR 1359546

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
14.05.2018

73 Titular/es:

**SOCIÉTÉ DE RECHERCHE COSMÉTIQUE
S.À.R.L. (100.0%)
4 Place de Paris
2314 Luxembourg, LU**

72 Inventor/es:

**LECONTE, NADINE y
ROSSIGNOL-CASTERA, ANNE**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 667 751 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 oleosa que contiene un extracto de hemerocallis y sus utilidades

5 La presente invención se refiere al campo técnico general de los productos cosméticos para uso tópico, utilizables en particular sobre la piel.

Más precisamente, la presente invención se refiere a una nueva composición oleosa a base de un extracto lipófilo de hemerocallis, a las composiciones cosméticas que comprende tal composición oleosa, a un procedimiento cosmético no terapéutico para proteger la piel de las agresiones del entorno, prevenir y combatir los signos del envejecimiento cutáneo de la piel utilizando tales composiciones cosméticas, así como a la utilización no terapéutica de una composición cosmética para aplicación tópica que comprende un extracto lipófilo de hemerocallis para prevenir los signos del envejecimiento cutáneo.

15 La piel es un verdadero órgano que comprende varias capas integradas, que van desde la capa superficial, la epidermis, hasta las capas más profundas, 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.

20 La epidermis está principalmente compuesta de queratinocitos (el 90% de las células epidérmicas) que sintetizan la queratina, de melanocitos (del 2 al 3% de las células epidérmicas) responsables de la pigmentación de la piel, y las células de Langerhans, que tienen un papel inmunológico. La epidermis, cuyo grosor es variable según las diferentes partes del cuerpo, constituye la capa externa de la piel y, en consecuencia, tiene un papel fundamental para asegurar la protección y el mantenimiento de una buena turgencia. Es por ello que se han elaborado numerosas composiciones a fin de protegerla, en particular de las agresiones del entorno.

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

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

35 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 que son considerados como una de las causas del envejecimiento tisular, en particular en lo que se refiere a la aparición de arrugas de la piel. La introducción de antioxidantes en numerosas composiciones cosméticas para aplicación tópica tales como cremas, leches, sueros, etc. tiene como objetivo combatir los efectos nefastos de estos radicales libres.

40 Un radical libre es un átomo o una molécula que ha ganado o perdido un electrón. Un ejemplo de interés biológico es la molécula de dioxígeno que gana un electrón durante la respiración celular para conducir al radical superóxido. Es este número impar de electrones que hace la molécula inestable. Esta no dejará entonces de captar o ceder un electrón a otra molécula de su entorno, propagando así el fenómeno. Cuando se produce en el organismo, esta reacción en cadena se denomina comúnmente estrés oxidante. Provoca numerosos daños en los tejidos, los órganos, y puede modificar algunos genes. Está implicada en numerosas enfermedades como la catarata, la artritis, las enfermedades cardiovasculares o los cánceres.

45 El organismo aeróbico posee afortunadamente un sistema de defensa eficaz contra el estrés oxidante. En efecto, numerosos antioxidantes naturales (enzimas y vitaminas) con propiedades anti-radicales o bien se producen por el organismo, o bien se adquieren por la alimentación. Así, la vitamina C inhibe los radicales libres en el interior de la célula, mientras que la vitamina E y los carotenoides desempeñan el mismo papel a nivel de la membrana celular.

50 El envejecimiento celular se puede definir como la pérdida progresiva de la capacidad del organismo para mantener el equilibrio entre radicales libres y antioxidantes. A nivel de la piel, los radicales libres inducen las marcas del tiempo que pasa: la marchitez de la piel, la flacidez cutánea, las arrugas, las manchas pigmentarias, etc. y también los cánceres de la piel.

55 Por lo tanto, es posible paliar este desequilibrio mediante la aplicación sobre la piel de composiciones cosméticas que tienen unas propiedades anti-radicales a fin de luchar contra la aparición de los signos del envejecimiento.

65 Los productos de origen natural o que contienen unos compuestos naturales son, por otro lado, cada vez más apreciados por los consumidores y consumidoras de productos cosméticos. Es por ello que se encuentran en el

mercado unos productos cosméticos que contienen cada vez más productos que contienen sustancias naturales o de origen natural y que presentan unas propiedades anti-radicales.

5 Tales composiciones contienen clásicamente al menos una sustancia anti-oxidante, en particular unas moléculas complejas de origen vegetal tales como, por ejemplo, los polifenoles, los flavonoides, los antocianósidos, los carotenoides, etc.

10 Estas células no son, sin embargo, siempre lo suficientemente estables en el tiempo y pierden así progresivamente su eficacia.

Por lo tanto, es difícil en la actualidad obtener unas composiciones cosméticas que contienen un extracto vegetal de origen natural y cuyas propiedades siguen estables en el tiempo, a pesar de que la necesidad parece importante.

15 Hemerocallis es el nombre común dado a la flor del género *Hemerocallis* que pertenece a la familia de las liliáceas. Se denomina también lis de un día. En efecto, debe su nombre al griego ἡμέρα (Hemera) "día" y καλός (kalos) "belleza". Se denomina lis de un día porque su flor es efímera y se parece a la lis, pero el follaje es totalmente diferente. La flor de la Hemerocallis vive sólo un día, pero aparecen nuevas flores durante varias semanas. Las flores se marchitan al final del día y dejan lugar a otras al día siguiente por la mañana.

20 Las Hemerocallis son conocidas y cultivadas desde hace siglos. Originarias de Asia, las primeras especies ya se cultivaban, describían y pintaban en la época de Confucio (551 – 479 antes de cristo).

25 *Hemerocallis fulva* se conoce, en particular en medicina tradicional china, por sus efectos calmantes, cicatrizantes y bactericidas. Se utiliza también en el tratamiento de la depresión, de la inflamación, del insomnio y de los furúnculos.

En particular, la solicitud de patente US2011/0076349 describe una composición a administrar por vía oral que contiene, como principio activo, un extracto acuoso de las partes aéreas de *Hemerocallis fulva* y que tienen unos efectos antidepressivos o relajantes basados en la mejora del sueño.

30 Los estudios efectuados por la solicitante han mostrado que un extracto oleoso de Hemerocallis, más precisamente de *Hemerocallis fulva*, presenta propiedades anti-radicales útiles para la protección de la piel y en la prevención de los signos del envejecimiento cutáneo.

35 La presente invención tiene, por lo tanto, como primer objeto una composición oleosa a base de un extracto de hemerocallis, caracterizándose dicha composición por que comprende un extracto lipófilo de *Hemerocallis fulva*, y un vehículo oleoso que comprende al menos un aceite vegetal (aceite vector).

40 Las composiciones cosméticas para aplicación tópica que comprenden tal composición oleosa a título de agente antioxidante constituyen otro objeto de la invención. Presentan excelentes propiedades anti-radicales utilizables en cosmética para los cuidados de la piel, más particularmente para proteger la piel de agresiones del entorno y para prevenir los signos del envejecimiento cutáneo. Las propiedades anti-radicales de las composiciones cosméticas que incorporan la composición oleosa conforme a la invención son además particularmente estables en el tiempo.

45 Los ensayos efectuados por la solicitante han mostrado que la composición oleosa conforme a la invención permite reducir el nivel de oxidación intracelular inducido por los UV sobre unas epidermis reconstruidas y que esta actividad se manifiesta de manera dependiente de la dosis en el intervalo de concentraciones ensayadas. Además, estos ensayos han mostrado también que cuando una composición cosmética que comprende una composición oleosa conforme a la invención se aplica antes de una irradiación UV, ésta protege las células cutáneas de los efectos perjudiciales inducidos por los UV de manera más eficaz que la vitamina E pura. En efecto, la composición oleosa conforme a la invención está compuesta de una combinación de antioxidantes que actúan de manera sinérgica contra los fenómenos oxidativos a los que están expuestas las células cutáneas. Aporta a la piel al mismo tiempo unos antioxidantes apolares tales como vitaminas E y carotenoides (luteína, zeaxantina), pero también unos antioxidantes más polares tales como los polifenoles (catequinas, quercetina, rutina, ácidos clorogénicos) o la vitamina C. Esta combinación de agentes antioxidantes, transportados por el aceite vector, permite una mejor protección contra la oxidación responsable del envejecimiento cutáneo.

55 Además, a las dosis utilizadas, los ensayos efectuados han mostrado que la composición oleosa utilizada en la presente invención no presenta ninguna citotoxicidad.

60 La invención tiene por lo tanto también como otro objeto, un procedimiento cosmético no terapéutico para proteger la piel de las agresiones del entorno, prevenir y combatir los signos del envejecimiento cutáneo, que consiste en aplicar sobre las zonas de la piel en cuestión al menos una composición cosmética tal como se ha definido anteriormente, es decir una composición cosmética tópica que contiene una cantidad eficaz de la composición oleosa conforme a la invención.

65

Finalmente, la invención tiene por objeto la utilización no terapéutica de una composición cosmética para aplicación tópica que comprende un extracto lipófilo de *hemerocallis* para proteger la piel de las agresiones del entorno, prevenir y combatir los signos del envejecimiento cutáneo.

5 Los estudios efectuados por la solicitante han mostrado que se pueden utilizar todas las partes aéreas de la planta, tanto los tallos, las hojas como las flores. La especie *Hemerocallis fulva* está fácilmente disponible y la conservación de las plantas no plantea generalmente dificultad técnica.

10 La composición oleosa conforme a la invención se puede preparar según el procedimiento de extracción descrito en la solicitud internacional WO 2010/112760 que consiste, en una primera etapa, en mezclar e impregnar la planta, previamente seca y triturada, en al menos un aceite vegetal natural a una temperatura superior a su punto de fusión, después en calentar la mezcla a alta temperatura durante un tiempo muy corto, y en formar una microdispersión a una temperatura superior a la temperatura de fusión del aceite vegetal. Todas estas etapas se realizan preferiblemente protegidas del aire, más particularmente protegidas del oxígeno, para evitar cualquier reacción de oxidación del extracto. Se puede trabajar, por ejemplo, bajo atmósfera de nitrógeno, en un reactor cerrado con extracción continua del oxígeno por un flujo de nitrógeno, o también al vacío.

20 Los aceites vegetales naturales utilizables en este procedimiento se seleccionan preferiblemente entre el aceite de aguacate, el aceite de rosa mosqueta, el aceite de avellana, el aceite de colza, el aceite de macadamia, el aceite de argán, el aceite de girasol, el aceite de camelina, el aceite de borraja, el aceite de almendra dulce, el aceite de cártamo, el aceite de calófilo y sus mezclas.

25 Según una forma de realización preferida de la invención, el aceite vegetal se selecciona entre el aceite de aguacate, el aceite de rosa mosqueta y sus mezclas.

Según una forma de realización muy particularmente preferida de la invención, el vehículo es una mezcla de aceite de aguacate y de aceite de rosa mosqueta.

30 Los aceites vegetales utilizados según la invención, y en particular los aceites de aguacate y de rosa mosqueta, son unos productos disponibles en el comercio.

35 El aguacate es el fruto del aguacate (*Persea americana*), un árbol originario de América del Norte (México), rico en ácido oleico, en carotenoides y en elementos nutritivos, el aceite de aguacate se extrae de la pulpa del fruto (carne) ya que paradójicamente, el hueso contiene muy pocos cuerpos grasos.

El aceite de rosa mosqueta se extrae de las semillas del *Cynorhodon* (un "falso" fruto) de la rosa mosqueta que es un escaramujo salvaje. Es uno de los aceites vegetales más ricos en ácidos grasos poli-insaturados esenciales (ácidos linoleico y linolénico) y contiene unos insaponificables. Tiene propiedades regenerantes.

40 La utilización de estos aceites vegetales como disolvente del extracto de *Hemerocallis* presenta la ventaja de ser compatible con las normas de los productos certificados Ecocert que se aplican a los productos cosméticos al mismo tiempo ecológico y biológico.

45 La primera etapa del procedimiento anterior, que consiste en impregnar la planta, preferentemente triturada, se desarrolla a temperatura ambiente, o en caliente, a una temperatura superior a la de fusión de los aceites utilizados. Se trabaja preferentemente a temperatura ambiente, del orden de 25°C, siendo los aceites vegetales, y en particular los aceites de aguacate y de rosa mosqueta, líquidos a esta temperatura.

50 Según una forma de realización preferida, la trituración de la planta se efectúa a una temperatura de aproximadamente -80°C, hasta obtener un polvo que presenta una granulometría media inferior a 100 µm aproximadamente.

55 La segunda etapa comprende un calentamiento a una temperatura elevada, por ejemplo del orden de 140 a 170°C, durante un corto tiempo, generalmente inferior a 5 minutos. El tiempo de subida en temperatura debe también ser muy corto. La técnica del calentamiento por microondas está bien adaptada a estas condiciones. La técnica de las microondas facilita también la tercera etapa de microdispersión de las partículas en el o los aceites vegetales utilizados, con ruptura de las membranas celulares. Esta tercera etapa puede también comprender un tratamiento por cavitación ultrasónica, preferentemente en un reactor cerrado equipado de un generador de ultrasonidos de baja frecuencia. Esta tercera etapa puede eventualmente realizarse simultáneamente con las otras dos, pudiendo el conjunto de las etapas, o cada una de ellas, realizarse varias veces si fuese necesario.

60 Al final de la extracción, el extracto lipófilo se filtra preferentemente sobre un filtro que tiene una porosidad inferior a aproximadamente 5 µm, a fin de obtener un extracto lipófilo límpido.

65 Este procedimiento es particularmente eficaz en una materia prima tal como la *Hemerocallis* que contiene entre el 85 y el 90% de agua antes de la trituración y del secado. Después del secado, antes de la etapa de impregnación en el

o los aceites vegetales, el contenido en agua se lleva por debajo del 12%.

Cuando la extracción se realiza utilizando una mezcla de aceite de aguacate y de rosa mosqueta, se obtiene un extracto lipófilo de color verde oscuro que tiene una densidad relativa a 20°C que varía de 0,900 a 0,990 g/cm³ aproximadamente (NF ISO 6883), soluble en los aceites y fases grasas, y que tienen las características siguientes:

- contenido en agua y en volátiles (NF EN ISO 662): max. 0,20% ± 0,04%;

- ácido oleico (NF EN ISO 660): max. 3,0% ± 0,6%;

- índice de peróxido (NF EN ISO 3960): max 10,0 ± 4,0 mEqO₂/kg;

- contenido en fenoles (determinación por HPLC):

* catequinas: 150 mg/kg,

* quercetina: 250 mg/kg,

* rutina: 150 mg/kg,

* ácido clorogénico: 416 mg/kg

- contenido total en carotenoides (luteína y zeaxantina): 5,1 mg/kg de composición oleosa (medido por HPLC);

- contenido en β-caroteno: 8,6 mg/kg de composición oleosa (medido por HPLC);

- composición en ácidos grasos de la composición oleosa:

* ácido palmítico 6-26%

* ácido palmitoleico 1,5-10%

* ácido esteárico máx. 2%

* ácido oleico 30-65%

* ácido linoleico 13-27%

* ácido α-linolenico 5-14%

* ácido araquídico máx. 1%

* ácido erúxico máx. 1%

Además, la técnica utilizada permite obtener una composición oleosa mucho más concentrada en principios activos que un simple macerado oleoso. Así, según la invención, se asocian las ventajas de un aceite vegetal y de moléculas hidrófilas (flavonoides, compuestos fenólicos). Finalmente, el vehículo oleoso evita tener que añadir un conservante a la composición, permitiendo éste en efecto estabilizar en el tiempo las propiedades anti-radicales del extracto lipófilo de Hemerocallis y por lo tanto la eficacia de las composiciones cosméticas que lo contiene.

Según una forma de realización preferida de la invención, el vehículo oleoso comprende una mezcla de aceite de aguacate y de aceite de rosa mosqueta. En este caso, la relación másica aceite de aguacate/aceite de rosa mosqueta dentro de la composición oleosa varía preferentemente de 4/1 a 1/1 aproximadamente, y aún más preferiblemente de 2/1 a 1/1.

Dentro de la composición oleosa utilizable conforme a la invención, el contenido en extracto lipófilo de Hemerocallis (moléculas lipófilas extraídas de la planta Hemerocallis, es decir principalmente carotenoides y β-caroteno) puede variar de 5 a 20 ppm, y más preferiblemente de 15 a 20 ppm.

La composición cosmética para aplicación tópica según la invención se caracteriza por que comprende, a título de agente antioxidante, al menos una composición oleosa conforme a la invención y tal como se ha definido anteriormente.

El contenido en composición oleosa en la composición cosmética puede variar generalmente del 0,01 al 50% en masa, preferentemente del 0,1 al 10% aproximadamente en masa, y aún más preferiblemente del 0,5 al 4,0%

aproximadamente en masa, con respecto a la masa total de la composición.

La elección de la cantidad de composición oleosa en la composición se puede realizar en función de la utilización considerada. Para un tratamiento prolongado, se utilizan preferentemente dosis más bajas, en forma de leche o de crema dosificada a aproximadamente del 0,1 al 2%, mientras que un tratamiento puntual puede necesitar unas dosis más elevadas, por ejemplo un gel o un suero dosificado entre el 3 y el 10%.

Así, estas composiciones tópicas se pueden utilizar ventajosamente en cosmetología para la prevención de los signos del envejecimiento cutáneo.

Las composiciones según la invención pueden contener, además de la composición oleosa conforme a la invención, uno o varios activos secundarios que refuerzan o complementan ventajosamente su actividad, y compatibles, es decir no susceptibles de reaccionar los unos con los otros u ocultar o limitar sus efectos.

Más particularmente, los activos secundarios se pueden seleccionar entre un agente anti-envejecimiento complementario, o entre el acetil-tetrapéptido-5 (CAS nº 820959-17-9), un extracto de plancton, un extracto de maca que tiene un efecto sobre la prevención de desajustes relacionados con una deficiencia de la microcirculación cutánea y al estrés oxidativo que puede resultar de ello, un extracto de pétalos de amapola que actúa sobre la nutrición celular, una composición de extractos de ancusa, de amapola y de pasiflora que, en asociación, tiene un efecto en la prevención de los signos del envejecimiento cutáneo, un extracto de semillas de mimosa, un extracto de pétalos de caléndula, las células de cacao, la vitamina C, la vitamina E y el hexilresorcinol.

El agente anti-envejecimiento complementario puede ser, por ejemplo, un lípido tal como el geranil geranil isopropanol (Juvinity®) que reduce la formación de los peróxidos intracelulares y retrasa así el envejecimiento celular.

Las composiciones cosméticas de la presente invención poseen una excelente tolerancia cutánea, en particular debido a la película lipídica que resulta del soporte oleoso (aceites vegetales, en particular aceite de aguacate y aceite de rosa mosqueta), no presentan ninguna fototoxicidad y su aplicación sobre la piel, para periodos de tiempo prolongados, no implica ningún efecto sistémico.

Las composiciones conformes a la presente invención pueden presentarse en formas galénicas clásicamente utilizadas para una aplicación tópica, es decir en forma de gel, emulsión (en particular crema o leche), emulsión bifásica aceite en agua o agua en aceite, aceite corporal, de mascarilla, pomada, ungüento, loción, solución concentrada, nanocápsulas, liposomas o barra protectora para los labios, conteniendo dichas formas galénicas además unos excipientes y soportes habituales y aceptables en el plano cosmetológico. Se utilizan preferentemente en forma de cremas, sueros, loción o gel.

Estas formas de administración por vía tópica se preparan mediante las técnicas habituales, y por ejemplo, en el caso de una crema, por dispersión de una fase grasa en una fase acuosa para obtener una emulsión aceite en agua o inversamente para preparar una emulsión agua en aceite. En el caso de cremas, se pueden utilizar unas emulsiones con estructura laminar obtenidas con unas lecitinas hidrogenadas o unos sucro-ésteres, que contienen pocos productos etoxilados o que no contiene ninguno.

Las composiciones cosméticas según la invención pueden también tomar la forma de loción o solución en la que los extractos están en forma encapsulada en unas microesferas. Las microesferas según la invención pueden, por ejemplo, estar constituidas de cuerpos grasos, de agar y de agua. La composición oleosa conforme a la invención puede incorporarse en unos vectores de tipo liposomas, glicoesferas, en quilomicrones, macro-, micro-, nano-partículas así como macro-, micro- y nano-cápsulas y también adsorberse sobre unos polímeros orgánicos polvorosos, los talcos, bentonitas y otros soportes minerales.

Estas emulsiones tienen una buena estabilidad y pueden conservarse durante el tiempo necesario para la utilización a temperaturas comprendidas entre 0 y 50°C sin que haya sedimentación de los constituyentes o separación de las fases.

Las composiciones tópicas según la invención pueden comprender unos excipientes apropiados para una aplicación tópica externa, en particular unos excipientes aceptables en el plano cosmetológico. Estos excipientes apropiados para la formulación son bien conocidos por el experto en la materia y comprenden en particular unos agentes de penetración tales como el fitantriol, el octildodecanol y la escina; los espesantes tales como las gomas naturales y los polímeros de síntesis; los tensioactivos; los emolientes tales como el octanoato de cetearilo, el miristato de isopropilo, el isononanoato de cetearilo, la dimeticona, la ciclometicona, el 3-diisoestearato de poliglicerilo, el poliisobuteno hidrogenado, el alcohol cetílico, el palmitato cetílico, el fosfato cetílico; los emulsionantes tales como los derivados de poliglicerol; los conservantes tales como el fenoxietanol y el ácido dehidroacético; los colorantes; los perfumes; etc.

Como otros ingredientes utilizables en las composiciones de la invención, se pueden citar los agentes hidratantes

tales como la glicerina, el butilenglicol, la sal de sodio del ácido pirrolidona carboxílico (sodium PCA), así como unas asociaciones de derivados glucósicos con efecto hidratante y reestructurante como el producto Aquaxyl® (xilitilglucósido y anhidroxitol y xilitol), y también las vitaminas antioxidantes tales como la vitamina E, por ejemplo el acetato de tocoferol o el tocotrienol, la vitamina C, los polifenoles naturales.

5 Se pueden añadir también a la composición unos glucósidos seleccionados principalmente entre la glucosa, el glicógeno y la trealosa, 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-propil-arginina) o el palmitoil VGVAPG (valil-glicil-valil-alanil-propil-glicina) asociado a una cerámida-2, así como, de manera general, cualquier asociación con una ceramida.

10 Se pueden añadir también a la composición unos agentes de protección contra los rayos ultravioletas, y por ejemplo unos filtros solares UV-A y UV-B hidrófilos o lipófilos, o unos pigmentos que forman una pantalla anti-ultravioleta.

15 Los filtros solares se pueden seleccionar, por ejemplo, entre la benzofenona o un derivado de benzofenona tal como la 2-hidroxi-4-metoxi-benzofenona (Eusolex® 4360), o un éster de ácido cinámico y más particularmente el metoxicinamato de octilo (Eusolex® 2292), el metoxicinamato de etil-2-hexilo (Parsol MCX®), o también un ciano-β,β-difenilacrilato tal como el octocrileno (Eusolex® OCR), el 4-metilbencilideno alcanfor (Eusolex 6300®), y unos derivados del dibenzoilmetano tales como el 4-isopropildibenzolmetano (Eusolex 8020), el t-butilmetoxidibenzolmetano (Parsol 1789®) y el 4-metoxi-dibenzolmetano.

20 Los pigmentos se pueden seleccionar por ejemplo entre el dióxido de titanio, el óxido de zinc y el óxido de circonio.

25 La utilización cosmética de la composición cosmética conforme a la invención comprende todos los cuidados del cuerpo y de la piel, incluyendo los productos solares, los protectores y bronceadores, los productos antienvjecimiento, anti-seborreicos, tónicos, los productos que aseguran la mejora del aspecto de la piel, incluido el tratamiento acneico y del enrojecimiento cutáneo.

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

Ejemplos

35 **EJEMPLO 1: Preparación de una composición oleosa que comprende un extracto lipófilo de Hemerocallis**

Se ha preparado una composición oleosa a base de extracto lipófilo de *Hemerocallis fulva* de la siguiente manera.

40 Se ha utilizado el conjunto de las partes aéreas de la planta entera, previamente secada, después triturada en frío. La técnica del secado/trituración en frío es preferible ya que permite preservar los antioxidantes presentes en la planta. Según esta técnica, las plantas se someten a una primera trituración, después a una deshidratación a temperatura ambiente protegidas de la luz, a fin de volver a llevar el contenido en agua a alrededor del 10%, y se trituran en frío, a una temperatura de -80°C, mediante un triturador de cuchillas.

45 El contenido en agua era inferior al 12% después de la trituración y del secado en frío, pudiendo este porcentaje variar en particular del 8,5 al 12% aproximadamente.

50 Se mezclaron 20 kg de Hemerocallis así secada y triturada, en forma de polvo fino y homogéneo, con 60 kg de aceite de aguacate y 20 kg de aceite de rosa mosqueta (relación másica aceite de aguacate/aceite de rosa mosqueta = 3/1). La relación másica planta/aceite era de 0,20.

Se calentó después rápidamente la mezcla por microondas a una potencia de 10000 a 30000 vatios/kg de mezcla, durante un tiempo inferior a 10 minutos, bajo flujo de nitrógeno, estando la temperatura máxima alcanzada comprendida entre 80 y 200°C.

55 La mezcla se trató después por ultrasonidos (100 kHz aproximadamente), bajo nitrógeno y bajo agitación, durante 10 a 20 minutos aproximadamente. La mezcla de aceites vectores que contiene el extracto lipófilo de *Hemerocallis fulva* se separó por centrifugación.

60 **EJEMPLO 2: Puesta en evidencia de la ausencia de citotoxicidad de la composición oleosa conforme a la invención**

En este ejemplo, se ha ensayado la citotoxicidad eventual de la composición oleosa conforme a la invención, tal como se obtiene mediante el procedimiento del ejemplo 1.

65 El ensayo utilizado sobre la viabilidad de epidermis humanas reconstruidas es la de la reducción con azul de

Formazan (ensayo MTT). El ensayo se ha realizado *in vitro* sobre epidermis humanas reconstruidas (“*Reconstructed Human Epidermis*”, RHE) modelo RHEps, de 0,5 cm² de superficie, vendido por la compañía SkinEthnic®.

5 La mezcla de aceites vectores (aceite de aguacate/aceite de rosa mosqueta) en la relación másica 3/1 tal como se utiliza para la extracción realizada en el ejemplo 1 se ha ensayado pura (100%), en aplicación tópica sobre las epidermis.

10 La composición oleosa tal como se prepara en el ejemplo 1 se ensayó después de la dilución al 0,5% (v/v), 1% (v/v), 1,5% (v/v), y 3% (v/v), en aceite de parafina. Cada una de las composiciones oleosas así diluidas se ha aplicado a razón de 5 mg/cm², sobre el estrato córneo de las epidermis.

Las mediciones de viabilidad tisulares mediante el ensayo MTT se efectuaron después de 24 horas de incubación a 37°C en atmósfera húmeda aire-CO₂ (35%/5%), sirviendo de control una epidermis no tratada.

15 Los resultados se detallan en la tabla I siguiente.

Tabla I

Sustancia	Densidad óptica a 540 nm	Viabilidad (%)
Ninguna (control)	1,058 ± 0,007	100
Aceites vectores puros	1,058 ± 0,010	100
Composición oleosa al 0,5%	1,048 ± 0,013	99
Composición oleosa al 1%	1,057 ± 0,007	100
Composición oleosa al 1,5%	1,050 ± 0,006	99
Composición oleosa al 3,0%	1,031 ± 0,007	97

20 Estos resultados muestran que no se registra ninguna disminución significativa de la viabilidad celular después del tratamiento tópico con la composición oleosa conforme a la presente invención en la gama de concentraciones ensayadas; esto en comparación con la mezcla de los dos aceites vectores ensayados en las mismas condiciones, que no presenta tampoco ningún efecto tóxico frente a tejidos cutáneos.

25 **EJEMPLO 3: Puesta en evidencia de las propiedades antioxidantes de la composición oleosa conforme a la invención**

En este ejemplo, se han estudiado las propiedades antioxidantes de la composición oleosa conforme a la invención, tal como se obtiene mediante el procedimiento el ejemplo 1.

30 3.1. Principio del ensayo

35 El principio del ensayo se basa en la medición del grado de oxidación intracelular con la ayuda de una sonda específica: el diacetato de 2',7'-diclorodihidrofluoresceína (DCFH-DA) que es un indicador sensible a las especies reactivas del oxígeno. El DCFH-DA penetra en el medio intracelular en el que, después de la escisión de los dos grupos acetatos por las esterasas intracelulares, el DCFH se acumula a nivel del citosol.

40 La oxidación intracelular del DCFH por diferentes especies reactivas del oxígeno conduce a la formación de un producto fluorescente, el DCF. Cuanto más antioxidante sea la muestra ensayada, más prevendrá la oxidación del DCFH en DCF y menos elevada será la señal de fluorescencia. Por el contrario, si la muestra ensayada no es antioxidante, la fluorescencia se desarrollará tanto como en el control negativo, en el que no está presente ningún antioxidante. La medición de las intensidades de fluorescencia permite entonces evaluar el grado de oxidación intracelular de las células cutáneas sometidas a un estrés oxidativo (irradiación UV).

45 3.2. Protocolo

El estudio se ha realizado sobre epidermis humanas reconstruidas *in vitro*, de modelo RHEps, fabricados por la compañía SkinEthnic. Se han repartido en 7 lotes (n=3):

50 Lote 1: CONTROL (-) UV: epidermis no tratadas;

Lote 2: CONTROL (+) UV: epidermis no tratadas e irradiadas;

55 Lote 3: CONTROL (-) UV: epidermis tratadas con la mezcla de aceites vectores (aceite de aguacate/aceite de rosa mosqueta: 3/1 en masa) y no irradiadas;

Lote 4: CONTROL (+) UV: epidermis tratadas con la mezcla de aceites vectores (aceite de aguacate/aceite de rosa mosqueta: 3/1 en masa) e irradiadas;

Lote 5: TRATADO (+) UV: epidermis tratadas con la composición oleosa preparada anteriormente en el ejemplo 1 (diluida al 0,5%, 1% y 1,5% en el aceite de parafina) e irradiadas;

5 Lote 6: TRATADO (+) UV: epidermis tratadas con la composición oleosa preparada anteriormente en el ejemplo 1 (diluida al 0,5%, 1% y 1,5% en el aceite de parafina) e irradiadas. Este lote es equivalente al Lote 5 y se ha realizado para duplicar las mediciones a fin de obtener en total dos mediciones para cada concentración ensayada.

10 Lote 7: CONTROL POSITIVO con VITAMINA E: epidermis tratadas con vitamina E a 3 mM (aproximadamente 1,3 mg/ml) en el aceite de parafina e irradiadas.

Tras la recepción, las epidermis se transfieren en placas de 12 pocillos que contienen un medio de cultivo para epidermis vendido por la compañía SkinEthic (0,5 ml/pocillos) y se colocan en la incubadora a 37°C, en una atmósfera al 5% de CO₂ saturada con humedad, durante 24 horas antes de proceder al tratamiento de los tejidos.

15 Como se ha indicado anteriormente, las propiedades antioxidantes de la composición oleosa conforme a la invención se han estudiado después de la dilución de la composición al 0,5%, 1% y 1,5% en el aceite de parafina.

20 Se aplicaron 2,5 µl de cada muestra tópicamente sobre las epidermis (superficie de las epidermis: 0,5 cm²). Después del tratamiento, las epidermis se recolocaron en horno a 37°C y se incubaron durante 6 horas en atmósfera aire/CO₂ (95%/5%: v/v). Después de la incubación, las epidermis se aclararon con una solución de HBBS ("*Hanks' balanced salt solution*": solución salina tamponada de Hank) y después se expusieron a UVB (tubos Philips TL20W/12) en placas de 24 pocillos que contenían un tampón fosfato salino ("*phosphate buffered saline*": PBS).

25 Después de la irradiación (200 mJ/cm²) las epidermis se transfirieron en otras placas que contenían un medio de cultivo (mantenimiento en supervivencia). La aplicación de los productos se renovó a razón de 2,5 µl como anteriormente, después los tejidos se recolocan en la incubadora, a 37°C, durante de 18 a 24 horas.

30 Al final del ensayo, es decir 24 horas después de la irradiación con UVB, las epidermis se trataron de la manera siguiente:

1/ las membranas porosas que soportan las epidermis se separaron de su soporte con la ayuda de un escalpelo y se colocaron después en unos microtubos a los que se añadió un tampón de extracción (tampón hipotónico pH 7,5 + saponina):

35 2/ 10 minutos de incubación a 37°C;

3/ centrifugación (fuerza de gravedad relativa (FGR): 340 g) y extracción de los lisados;

40 4/ segunda extracción en las mismas condiciones que anteriormente;

5/ recogida de los extractos después de la centrifugación (FGR: 340 g) y mezcla de los primeros lisados con los segundos;

45 6/ transferencia de las muestras en microplacas para lectura de las intensidades de fluorescencia con la ayuda de un espectrofluorómetro vendido bajo la referencia Infinite F200 por la compañía Tecan.

3.3. Resultados

50 El grado de oxidación intracelular inducido por la exposición a los UV se evaluó para cada uno de los lotes. La intensidad de fluorescencia (IF; media de 3 mediciones) medida sobre el control sirve de patrón y corresponde a un DOI del 100%. El DOI (%) de lotes ensayados (control (Lote 4), tratado (Lotes 5/6) y vitamina E (Lote 7)) se calcularon después de la siguiente manera:

$$55 \text{ DOI (\%)} = \text{IF}_{\text{control}} \times 100 / \text{IF}_{\text{muestra ensayada}}$$

en la que IF_{control} corresponde a la intensidad de la fluorescencia del control e IF_{muestra ensayada} corresponde a la intensidad de la fluorescencia de la muestra ensayada.

60 Los resultados obtenidos se detallan en la tabla II siguiente:

TABLA II

LOTE S	Concentración de composición oleosa ensayada (%)	IF (n=3)	[DOI] (%)
2: CONTROL	-	2556,0 ± 28,6	100
4: CONTROL	Aceites vectores solos	4348,7 ± 70,8	170 ^a

5/6: TRATADO	0,5	1957,5 ± 19,0	77 ^a
	1	1835,0 ± 11,4	72 ^a
	1,5	1660,6 ± 8,5	65 ^a
7: Vitamina E	0,13	335,5 ± 24,5	13

^a: p<0,01

En referencia a la composición oleosa conforme a la invención:

5 Los resultados obtenidos muestran que el tratamiento tópico de los tejidos por la composición oleosa conforme a la presente invención permite reducir el nivel de oxidación intracelular inducido por los UV. Además, conviene señalar que esta actividad se manifiesta de manera dosis-dependiente, en el intervalo de concentraciones ensayadas.

10 Las diferencias registradas a nivel de los lotes 5/6 que corresponden a la composición oleosa diluida al 0,5%, 1% y 1,5% en el aceite de parafina son estadísticamente significativas con respecto al control (epidermis no tratadas):

* Composición oleosa al 0,5%: 23% de reducción de [D.O.I.] (p≤0.01, ensayo t de Student);

* Composición oleosa al 1%: 28% de reducción de [D.O.I.] (p≤0.01, ensayo t de Student);

15

* Composición al 1,5%: 35% de reducción de [D.O.I.] (p≤0.01, ensayo t de Student).

Por otro lado, tomando como control las epidermis tratadas con la mezcla de aceites vectores e irradiadas (LOTE 5), las diferencias registradas son entonces las siguientes:

20

* Composición oleosa al 0,5%: 55% de reducción de [D.O.I.];

* Composición oleosa al 1%: 58% de reducción de [D.O.I.];

25

* Composición oleosa al 1,5%: 62% de reducción de [D.O.I.].

Comparativa con la vitamina E

30

La vitamina E se ha estudiado con la concentración de 3mM, es decir 1,3 mg/ml (dilución en el aceite de parafina), o aproximadamente 1444 ppm de vitamina E pura. Esta dosis lleva a una actividad protectora frente al estrés oxidativo del 87%.

La composición oleosa conforme a la invención y tal como se obtiene según el ejemplo 1 anterior, contiene, antes de cualquier dilución, 411 ppm de vitamina E.

35

Composición oleosa al 1,5%

Un 1,5% de composición oleosa diluida en el aceite de parafina contiene 6 ppm de vitamina E y lleva a una protección del 35%.

40

La vitamina E a 3 mM contiene 1444 ppm de vitamina E y lleva a una protección del 87%.

En consecuencia, 240 veces menos de vitamina E llevan a 2,5 veces menos de protección. A concentración igual de vitamina E depositada sobre la piel, la composición oleosa conforme a la invención protege, en consecuencia, 97 veces mejor las células cutáneas del estrés oxidativo que la vitamina E pura.

45

Composición oleosa al 1%

Un 1% de composición oleosa diluida en el aceite de parafina contiene 4 ppm de vitamina E y lleva a una protección del 28%.

50

La vitamina E a 3 mM contiene 1444 ppm de vitamina E y lleva a una protección del 87%.

En consecuencia, 360 veces menos de vitamina E lleva a 3 veces menos de protección. A concentración igual de vitamina E depositada sobre la piel, la composición oleosa conforme a la invención protege 116 veces mejor las células cutáneas del estrés oxidativo que la vitamina E pura.

55

Composición oleosa al 0,5%

60

Un 0,5% de composición oleosa diluida en el aceite de parafina contiene 2 ppm de vitamina E y lleva a una protección del 23%.

La vitamina E a 3 mM contiene 1444 ppm de vitamina E y lleva a una protección del 87%.

En consecuencia, 722 veces menos de vitamina E llevan a 4 veces menos de protección. A concentración igual de vitamina E depositada sobre la piel, la composición oleosa conforme a la invención protege 191 veces mejor las células cutáneas del estrés oxidativo que la vitamina E pura.

El conjunto de estos resultados demuestra, por un lado, que los polifenoles de hemerocallis (que provienen esencialmente de las flores) extraídos en la mezcla de aceites vectores, permiten estabilizar y evitar la degradación oxidativa de sus ácidos grasos sensibles. Así, se preserva la calidad de los aceites vegetales a fin de que puedan aportar todos sus beneficios a las células cutáneas.

Demuestran también el beneficio de aportar a la piel varios tipos de antioxidantes a dosis fisiológicas en lugar de un solo tipo a alta concentración. En efecto, cuando se aplica antes de la irradiación UV, la composición oleosa conforme a la invención formulada al 0,5%, 1% o 1,5% protege las células cutáneas de los efectos inducidos por los UV de manera más eficaz que la vitamina E pura. La composición oleosa conforme a la presente invención comprende una combinación de agentes antioxidantes que actúan de manera sinérgica contra los fenómenos oxidativos a los que están expuestas las células cutáneas. Aporta a la piel al mismo tiempo unos agentes antioxidantes apolares, como la vitamina E y los carotenoides (luteína, zeaxantina), pero también unos agentes antioxidantes más polares tales como los polifenoles (catequinas, quercetina, rutina, ácido clorogénico) o la vitamina C. Esto permite una mejor protección contra la oxidación responsable del envejecimiento cutáneo.

EJEMPLO 4: Crema para el contorno de los ojos anti-envejecimiento

Mediante las técnicas habituales, se ha preparado una crema ligera para el contorno de los ojos que tiene la composición másica indicada a continuación.

EDTA tetrasódico	0,1 g
Cafeína	0,2 g
Glicerina	3,0 g
Mezcla compuesta de un copolímero hidroxietilacrilato/acrilato-dimetiltaurato de sodio (SEPINOV EMT10; compañía SEPPIC), de isoestearato de Sorbitán y de Polisorbato 60	1,0 g
Aceite de rosa mosqueta	3,0 g
Oleato de decilo	3,0 g
Tocoferol	0,7 g
Composición oleosa del ejemplo 1	1,0 g
Sistema de conservación	0,8 g
Perfume	0,5 g
Agua	csp 100,0 g

Este contorno para los ojos se puede utilizar una a dos veces por día durante una duración de 1 a 6 meses.

EJEMPLO 5: Crema anti-envejecimiento para piel seca

Mediante las técnicas habituales, se ha preparado una crema anti-envejecimiento que tiene la composición másica siguiente:

EDTA tetrasódico	0,1 g
Cafeína	0,2 g
Glicerina	3,0 g
Polímero reticulado de acrilato/alquil C ₁₀₋₃₀ -acrilato vendido bajo la denominación comercial Carbopol® Ultrez 21 por Gattefossé	1,0 g
Mezcla de alcohol araquidílico, de alcohol behénico y de glucósido de araquidilo vendido bajo la denominación Montanov® 202 por SEPPIC	4,0 g
Aceite de cacahuete	6,0 g
Manteca de karité	2,0 g
Oleato de decilo	3,0 g
Tocoferol	0,7 g
Composición oleosa del ejemplo 1	2,0 g
Sistema de conservación	0,8 g
NaOH	0,08 g
Perfume	0,5 g
Agua	csp 100,0 g

Esta crema anti-envejecimiento se puede utilizar una a dos veces por día por aplicación sobre las zonas de la piel a tratar.

EJEMPLO 6: Suero anti-envejecimiento

Mediante las técnicas habituales, se ha preparado un suero anti-envejecimiento que tiene la composición másica siguiente:

5	EDTA Tetrasódico	0,1 g
	Extracto de plancton vendido bajo la denominación EPS Seafill por la compañía CODIF	3,0 g
	Glicerina	3,0 g
	Carbómero vendido bajo la denominación Carbopol® Ultrez 10 por la compañía Gattefossé	0,2 g
	Glutamato de estearilo sódico	0,5 g
	Aceite de rosa mosqueta	2,0 g
	Oleato de decilo	1,0 g
	Copolímero reticulado a base de polidimetilsiloxano vendido bajo la denominación comercial DC9041 por la compañía Dow Corning	1,0 g
	Tocoferol	0,7 g
	Composición oleosa del ejemplo 1	5,0 g
	Hialuronato de sodio	0,3 g
	Sosa	0,15 g
	Sistema de conservación	0,8 g
	Perfume	0,5 g
	Agua	Csp 100,0 g

Este suero anti-envejecimiento se puede utilizar una a dos veces por día por aplicación sobre las zonas de la piel a tratar.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición oleosa a base de un extracto de hemerocallis, siendo dicha composición caracterizada por que comprende un extracto lipófilo de *Hemerocallis fulva*, y un vehículo oleoso que comprende al menos un aceite
2. Composición según la reivindicación 1, caracterizada por que dicho extracto se obtiene a partir de unas partes aéreas de *Hemerocallis fulva*.
- 10 3. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que dicho extracto se obtiene por extracción protegida del aire.
- 15 4. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que el vehículo oleoso comprende al menos un aceite vegetal natural seleccionado entre el aceite de aguacate, el aceite de rosa mosqueta, el aceite de avellana, el aceite de colza, el aceite de macadamia, el aceite de argán, el aceite de girasol, el aceite de camelina, el aceite de borraja, el aceite de almendra dulce, el aceite de cártamo, el aceite de calofilo y sus mezclas.
- 20 5. Composición según la reivindicación 4, caracterizada por que el aceite vegetal natural se selecciona entre el aceite de aguacate, el aceite de rosa mosqueta y sus mezclas.
6. Composición según la reivindicación 5, caracterizada por que el vehículo oleoso comprende una mezcla de aceite de aguacate y de aceite de rosa mosqueta.
- 25 7. Composición según la reivindicación 6, caracterizada por que la relación másica aceite de aguacate/aceite de rosa mosqueta dentro de la composición oleosa varía de 4/1 a 1/1.
8. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que el contenido en extracto lipófilo de hemerocallis varía de 5 a 20 ppm.
- 30 9. Composición cosmética para aplicación tópica, caracterizada por que comprende, a título de agente anti-oxidante, al menos una composición oleosa tal como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.
- 35 10. Composición cosmética según la reivindicación 9, caracterizada por que el contenido en composición oleosa varía del 0,1 al 10% en masa con respecto a la masa total de la composición.
- 40 11. Composición cosmética según la reivindicación 10, caracterizada por que el contenido en composición oleosa varía del 0,5 al 4,0 % en masa, con respecto a la masa total de la composición.
- 45 12. Composición cosmética según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, caracterizada por que contiene además uno o varios activos secundarios seleccionados entre un agente anti-envejecimiento complementario, el acetil-tetrapéptido-5, un extracto de plancton, un extracto de maca, un extracto de pétalos de amapola, una combinación de extractos de ancusa, de amapola y de pasiflora, un extracto de semillas de mimosa, un extracto de pétalos de caléndula, las células de cacao, la vitamina C, la vitamina E y el hexilresorcinol.
- 50 13. Composición cosmética según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12, caracterizada por que se presenta en forma de gel, emulsión, emulsión bifásica aceite en agua o agua en aceite, aceite corporal, mascarilla, pomada, ungüento, loción, solución concentrada, nanocápsulas, liposomas o barra protectora para los labios.
- 55 14. Composición cosmética según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 13, caracterizada por que comprende además unos agentes de protección contra los rayos ultravioletas o unos pigmentos que forman una pantalla anti-ultravioleta.
- 60 15. Composición cosmética según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 14, destinada a utilizarse para proteger la piel de las agresiones del entorno.
16. Procedimiento cosmético no terapéutico para prevenir y combatir los signos del envejecimiento cutáneo, que consiste en aplicar sobre las zonas de la piel en cuestión al menos una composición cosmética tal como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 14.
17. Utilización no terapéutica de una composición cosmética para aplicación tópica que comprende un extracto lipófilo de hemerocallis y tal como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 14, para prevenir y combatir los signos del envejecimiento cutáneo.