

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 699 239**

51 Int. Cl.:

A61Q 19/08 (2006.01)

A61K 8/97 (2007.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.07.2013 PCT/IB2013/055623**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **16.01.2014 WO14009874**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.07.2013 E 13765473 (7)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.08.2018 EP 2872221**

54 Título: **Utilización cosmética de un extracto de Harungana madagascariensis**

30 Prioridad:

10.07.2012 FR 1201953

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

08.02.2019

73 Titular/es:

**LABORATOIRES CLARINS (100.0%)
12 avenue de la Porte des Ternes
75823 Paris CEDEX 17, FR**

72 Inventor/es:

COURTIN, OLIVIER

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 699 239 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Utilización cosmética de un extracto de *Harungana madagascariensis*

5 La presente invención se refiere a la utilización cosmética de un extracto de hojas de *Harungana madagascariensis*, o de una composición que comprende dicho extracto, en particular para retardar o para luchar contra el envejecimiento de la piel y/o la aparición de los signos del envejecimiento de la piel, tal como se describe en las reivindicaciones. De hecho, la utilización de este extracto o de esta composición permite favorecer la síntesis de colágeno; así como proteger las proteínas cutáneas de la glucación.

10 La piel es un órgano particular del cuerpo humano. De fino espesor, es muy extensa, puesto que recubre toda la superficie del cuerpo y totaliza en un adulto una superficie de aproximadamente 1,6 m². Tiene como función proteger los tejidos profundos del medio exterior, tanto a nivel de la penetración física de cuerpos extraños, como de la inmunidad, la regulación de la temperatura y la pérdida de fluidos. Finalmente, las restricciones mecánicas a las que está sometida permanentemente la imponen, más que a cualquier otro órgano, una estructura sólida y coherente asociada con una gran flexibilidad. A pesar de algunas diferencias de aspecto según el sitio anatómico, presenta siempre la misma estructura morfológica de base. Está constituida en su superficie por la epidermis, en profundidad por la dermis y la unión dermo-epidérmica que la separa y las relaciona.

15 El papel de la dermis es mantener la flexibilidad y la resistencia de la piel. Es un tejido conjuntivo denso, fibroso y elástico que reposa sobre una capa grasa denominada hipodermis, y en el seno de la cual están presentes las células mesenquimales, los fibroblastos. Estos son los responsables de la síntesis de los constituyentes de la matriz extracelular que los rodea, verdadero tejido de sostén de la piel. La matriz extracelular está estructurada por una trama fibrosa hecha de agrupaciones de colágeno y de fibras elásticas (elastina y fibrilina), en ondas paralelas a la superficie de la piel.

20 Además de su papel físico de sostén de la epidermis, la dermis asegura otras funciones esenciales. Su importante vascularización le permite realizar intercambios nutritivos con la epidermis. Esta le permite también enriquecerse en células inmunitarias de tipo macrófagos y células dendríticas, protagonistas fundamentales de la defensa inmunitaria de la piel. Además, es un tejido innervado que posee receptores sensitivos responsables del sentido del tacto. Finalmente, interviene en fenómenos de cicatrización y de regulación de la proliferación y la diferenciación de queratinocitos durante la síntesis las citocinas y de factores de crecimiento solubles con destino a la epidermis.

30 El colágeno confiere a la piel su resistencia a las tensiones y la tracción. La elastina permite a la piel estirarse y volver a su sitio después de la deformación. Confiere su elasticidad al revestimiento cutáneo. La matriz extracelular contiene también proteoglicanos y glucosaminoglucanos, que forman una sustancia fundamental muy hidratada, en la que están inmersas las proteínas fibrosas. Finalmente, las glucoproteínas estructurales aseguran la interfaz entre la matriz y las células enlazando las integrinas de membrana.

35 La matriz extracelular de la piel es la materia intersticial que envuelve las estructuras cutáneas y que sostiene la epidermis. Dentro de la red de proteínas fibrosas, el colágeno es el componente principal insoluble que contribuye a las propiedades mecánicas de la piel. Las "fibras de colágeno" de la dermis están constituidas respectivamente por colágeno I y colágeno III, además de un eje compuesto de colágeno V. Estos colágenos pertenecen al grupo de los colágenos fibrilares. En un adulto, el colágeno I es, como promedio, seis veces más abundante que el colágeno III.

40 Las fibrillas de colágeno I tienen una enorme resistencia a la tracción y pueden estirarse sin romperse. Estas fibrillas se disponen lado a lado en filas paralelas, denominadas fibras de colágeno. El colágeno III está compuesto de tres cadenas alfa 1 (III) y es predominante en la piel fetal y las estructuras extensibles. La proporción de colágeno I aumenta cuanto más cerca está de la hipodermis. La matriz extracelular contiene igualmente fibronectina, laminina, elastina así como la sustancia fundamental de los proteoglicanos.

45 A pesar de la gran estabilidad de sus constituyentes, la matriz extracelular es una estructura dinámica producida en su mayor parte de forma local por las células del tejido conjuntivo. En este contexto, los fibroblastos desempeñan un papel esencial en el mantenimiento y la regeneración de este tejido. Su capacidad de sintetizar y degradar el colágeno y otras macromoléculas de la matriz extracelular, o incluso de organizar u orientar las fibras es crítico en la homeostasis del tejido cutáneo.

50 Durante el envejecimiento, ciertas anomalías de la comunicación entre las células y la matriz circundante pueden conducir a una multitud de modificaciones cualitativas y cuantitativas de la estructura de la matriz extracelular. Por ejemplo, la razón de colágeno I frente a colágeno III disminuye durante el transcurso del envejecimiento. Se asiste también a un aumento exponencial de los enlaces químicos entre las fibras de colágeno, debido a la reacción de glucación no enzimática de Maillard.

55 Este enlace químico del colágeno envejecido se traduce en una rigidización creciente de las fibras, lo que las hace más resistentes al ataque por las colagenasas y por radicales libres. Su degradación y su renovación también se ven ralentizadas.

La glucación depende de las posibilidades de reencuentro entre las moléculas de glucosa en circulación y las agrupaciones aminadas libres existentes bien en el extremo N-terminal de las cadenas polipeptídicas, bien en las cadenas laterales de la lisina. El mecanismo bioquímico de esta reacción se conoce bien y comprende dos fases: una fase precoz (iniciación) que es la reacción de azúcares reductores (glucosa, fructosa) con las funciones amina terminales o laterales de las proteínas constitutivas tisulares para producir compuestos denominados "Bases de Schiff". Estos compuestos se estabilizan entonces por redistribución de Amadori en cetoamina. Va seguida de una fase tardía (propagación y terminación) donde las funciones cetoamina se oxidan en desoxiosona en presencia de oxígeno y reaccionan con otros ácidos aminados básicos tales como arginina o lisina, pertenecientes a otras proteínas (albúmina, lipoproteínas, inmunoglobulina). El resultado es la formación de complejos con enlaces finales de tipo ciclos de pentosidina o furoil 6.3. furonil 1.4 imidazol.

La reacción de glucación proteica constituye uno de los procesos principales del envejecimiento cutáneo inducido. Se traduce, de hecho, en la formación de entrecruzamientos irreversibles entre las proteínas que se van a acumular con la edad o en estados patológicos (diabetes, estrés oxidativo).

Las proteínas glucadas con estos enlaces pierden su funcionalidad biológica; los tejidos se rigidizan y se esclerosan.

El solicitante ha evidenciado de manera sorprendente que un extracto de *Harungana madagascariensis*, o una composición que comprende tal extracto, protege del envejecimiento cutáneo favoreciendo la síntesis de colágeno y protegiendo las proteínas cutáneas de la glucación. Se puede utilizar, pues, un extracto de *Harungana madagascariensis* como agente activo antienvjecimiento cutáneo, como agente activo que favorece la síntesis de colágeno y/o como un agente antiglucación.

La *Harungana madagascariensis* es un árbol de la familia de las hipericáceas ampliamente presente en Madagascar.

Esta planta se utiliza tradicionalmente como colorante amarillo y con fines terapéuticos, concretamente como antibacteriano y antiinflamatorio (véase, por ejemplo, Okoli, S. et al. (2002) "Antibacterial activity of *Harungana madagascariensis* leaf extracts", *Phytotherapy Research*, vol. 16, n.º 2, pág. 174-179; Moulari, B. et al. (2006) "Isolation and *in vitro* antibacterial activity of astilbin, the bioactive flavone from the leaves of *Harungana madagascariensis* Lam. ex Poir. (Hypericaceae)", vol. 106, n.º 2, pág. 2727-278).

La utilización según la presente invención implementa preferentemente un extracto de *Harungana madagascariensis* o una composición cosmética que comprende tal extracto.

El extracto utilizado es un extracto de hojas de *Harungana madagascariensis*. De forma ventajosa, este extracto es un extracto acuoso y, preferiblemente, está estabilizado por glicerina. Preferiblemente, se trata de un extracto acuoso obtenido según un proceso que comprende al menos las siguientes etapas:

- secado de las hojas;
- extracción del agua de las hojas;
- maduración y después filtración;
- evaporación del disolvente de extracción;
- ajuste de la concentración (adición de glicerina).

El extracto de *Harungana madagascariensis* utilizado según la invención, es un líquido viscoso marrón rojizo y de olor característico. Presenta las siguientes características analíticas:

pH (al 1% en agua): 4 - 6
 Densidad a 20 °C: 1,2 - 1,4
 Índice de refracción: 1,4 - 1,6
 Razón planta/extracto = 10/4

Preferiblemente, la composición cosmética utilizada según la invención comprende de 0,01 a 10% de extracto de *Harungana madagascariensis* en peso de materia seca con respecto al peso total de la composición. Ventajosamente, la composición comprende de 0,01 a 5% de extracto de *Harungana madagascariensis* en peso de materia seca con respecto al peso total de la composición.

Las composiciones utilizadas según la invención pueden comprender incluso uno o varios agentes o aditivos de formulación de uso conocido y clásico en composiciones cosméticas y dermatológicas tales como, a modo de ejemplo y de forma no limitativa, suavizantes, colorantes, principios activos filmógenos, tensioactivos, perfumes, conservantes, emulsionantes, aceites, glicoles, vitaminas como la vitamina E, filtros UV, etc... Gracias a sus conocimientos en materia de cosmética, el experto sabrá qué agentes de formulación añadir a las composiciones de la invención, y en qué cantidades, en función de las propiedades buscadas.

Las composiciones utilizadas según la invención se pueden presentar en cualquier forma conocida por el experto en la materia en el campo de la cosmetología y de la dermatología, sin ninguna restricción galénica excepto que su

aplicación es sobre la cara y el cuerpo. De forma ventajosa, las composiciones según la invención se presentan en forma de un gel, una crema, una loción, un aceite, una leche, un spray, etc...

5 El solicitante ha demostrado que el extracto de *Harungana madagascariensis* utilizado según la invención así como la composición cosmética que lo comprende pueden utilizarse para favorecer la síntesis de colágeno; o incluso para proteger a las proteínas cutáneas de la glucación.

En consecuencia, el extracto de *Harungana madagascariensis* o la composición cosmética que lo comprende según la invención pueden utilizarse para prevenir, retardar, luchar contra, tratar o reducir el envejecimiento de la piel y/o la aparición de los signos del envejecimiento de la piel, tal como se describe en las reivindicaciones.

10 Se entiende por signos de envejecimiento de la piel: las arrugas, las líneas de expresión, la flacidez cutánea, la pérdida de elasticidad de las fibras cutáneas, una piel sin firmeza, una piel delgada y una piel opaca y/o sin brillo.

Gracias a su acción sobre la inducción de la síntesis del colágeno en la piel, según una variante preferida de la invención, el extracto de *Harungana madagascariensis* puede utilizarse para reparar las manifestaciones cutáneas del envejecimiento; en particular difuminar las arrugas y las líneas de expresión o incluso redensificar una piel sin firmeza o delgada.

15 El extracto de *Harungana madagascariensis* utilizado según la invención y la composición cosmética que lo comprende pueden utilizarse igualmente para redensificar y/o reafirmar y/o tonificar la piel.

El extracto de *Harungana madagascariensis* según la invención y la composición cosmética que lo comprende se utilizan por aplicación sobre la piel; se puede tratar indiferentemente de la piel de la cara o del cuerpo.

20 Cuando se trata la piel de la cara, es preferentemente la piel del rostro, del cuello, del escote y/o del contorno de ojos.

Según una variante particular, el extracto de *Harungana madagascariensis* según la invención y la composición cosmética que lo comprende se aplican sobre la piel del cuerpo para reafirmarla y/o tonificarla, por ejemplo en el marco de un adelgazamiento.

25 Los ejemplos a continuación se refieren, por un lado, a la evaluación del efecto de un extracto de *Harungana madagascariensis* sobre la síntesis de colágeno I, y su efecto anti-glucación de las proteínas y, por otro lado, a las composiciones utilizables según la presente invención.

Los ejemplos hacen referencia a las siguientes figuras, en las que:

30 - la figura 1 representa la inmunofluorescencia del colágeno I (TRITC) para el control (panel A), el control positivo en retinol a 10^{-5} M (panel B) y para diferentes concentraciones de extracto de *Harungana madagascariensis* al 0,001% (panel C), al 0,005% (panel D) y al 0,01% (panel E) (Observaciones al microscopio óptico de fluorescencia con un aumento de x200).

- La figura 2 representa la expresión del colágeno I expresada en unidades de fluorescencia por núcleo.

I. Evaluación de la actividad de un extracto de *Harungana madagascariensis* sobre la secreción del colágeno de tipo I

35 A. Material y método

Los fibroblastos se siembran en placas de 6 pocillos con portaobjetos de vidrio a razón de 70.000 células por frasco en un medio "Medio Esencial Mínimo" (MEM). 48 horas después, las células se tratan o no (control) con el extracto de *Harungana madagascariensis* al 0,001%, 0,005% y 0,01% (se utiliza como control positivo en retinol a la concentración de 10^{-5} M) y se incuban en una estufa durante 72 horas a 37 °C y 5% de CO₂.

40 Cada lámina celular se enjuaga y después se fija con metanol (-20 °C) antes de proceder al revelado del colágeno de tipo I.

45 Las células se incuban con el primer anticuerpo dirigido contra la proteína de interés y después con los anticuerpos secundarios dirigidos contra los primeros anticuerpos acoplados al fluorocromo TRITC (tetrametil rodamina isotiocianato, derivado de la rodamina). El tiempo de incubación entre cada anticuerpo es de una hora. Los núcleos celulares se revelan por marcaje con diaminido fenil indol (Dapi).

50 Las laminillas se montan sobre portaobjetos de vidrio y después se observan al microscopio de fluorescencia (Nikon Eclipse 50i). Se toman fotografías de varias áreas de la población celular. Las imágenes de fluorescencia TRITC indican las regiones de localización de la proteína de interés. Las imágenes de fluorescencia DAPI indican los núcleos celulares y también el número de células por cada área. Los clichés fotográficos, tales como los representados en la figura 1, se analizan mediante la aplicación informática de análisis de imágenes NIS Elements (Nikon).

B. Resultados

5 Este estudio demuestra que el extracto de *Harungana madagascariensis* favorece de manera significativa la síntesis de colágeno de tipo I por fibroblastos de manera dependiente de la dosis. El extracto de *Harungana madagascariensis* favorece la síntesis del compuesto mayoritario de la materia extracelular, el colágeno de tipo I. Estas propiedades confieren pues a este extracto un papel anti-edad.

II. Evaluación de la protección de un extracto de *Harungana madagascariensis* con respecto a la reacción de glucación proteica

10 Se ha utilizado un modelo *in vitro* para evaluar los efectos del extracto de *Harungana madagascariensis*. Se basa en la medición de la formación de los derivados de la reacción de glucación entre las agrupaciones aminadas libres de albúmina y glucosa. Algunos de estos derivados, los productos terminales avanzados de la glucación, son fluorescentes. La reacción se mide después de 8 días de incubación. Se ensaya en paralelo una molécula de referencia, la aminoguanidina.

A. Material y método

15 El sistema de ensayo es la mezcla de reacción que contiene albúmina bovina (0,5 g/ml) y glucosa (500 mM) en un tampón fosfato (0,2 M, pH = 7,4).

Los productos se mezclan en el sistema de ensayo en tubos estériles; estos últimos se recubren con papel de aluminio (la reacción debe realizarse al abrigo de la luz). Para las condiciones experimentales, donde ciertos reactivos o productos no estaban presentes, hay que completar el volumen del tubo QSP con agua MilliQ.

20 Después de haber cerrado los tubos con parafilm (la reacción se debe desarrollar sin oxígeno), las diferentes mezclas de reacción se ponen en una estufa seca a 37 °C durante 8 días.

Después de los 8 días de incubación, se recogen 100 µl de cada tubo y se transfieren a una placa negra de 96 pocillos. La fluorescencia se lee entonces en un FLUOstar (BMG) (excitación a 355 nm, emisión a 460 nm).

B. Resultados

25 Los resultados se presentan en la siguiente tabla; se expresan en unidades arbitrarias de fluorescencia. La fluorescencia relativa a las muestras "producto + albúmina bovina" (= interferencia) se restará de los datos "producto + albúmina bovina + glucosa".

Esta tabla representa la formación de entrecruzamientos de glucación expresadas en unidades arbitrarias de fluorescencia (S.E = sistema de ensayo, mezcla de reacción que contiene la albúmina bovina (0,5 g/ml) y glucosa (500 mM) en un tampón fosfato (0,2 M, pH = 7,4)).

	Unidad arbitraria de fluorescencia	Protección (%)
S.E.	37673	/
S.E. + aminoguanidina 10 mM	0	100
S.E. + <i>Harungana madagascariensis</i> al 0,001%	24737	34
S.E. + <i>Harungana madagascariensis</i> al 0,005%	28132	25
S.E. + <i>Harungana madagascariensis</i> al 0,01%	14894	60

30 Después de 8 días de incubación de albúmina bovina con una sobrecarga de glucosa, se observa la formación de entrecruzamientos de glucación. Se ha evaluado aprovechando las propiedades de fluorescencia del aducto albúmina bovina-glucosa.

35 El extracto de *Harungana madagascariensis* presente en el sistema de ensayo evita el entrecruzamiento entre la albúmina bovina y la glucosa de manera no insignificante.

III. Ejemplos de formulación

Los porcentajes son porcentajes en peso con respecto al peso total de la composición.

GEL LIMPIADOR FACIAL

	%
HECTORITA	1,50
GLICOLES	2,00
GOMA DE XANTANO	0,25
LAURETH SULFATO SÓDICO	3,00
ESTEAROIL SÓDICO Y COCOIL GLUTAMATO SÓDICO	7,00
MANTECA DE CARITÉ	0,50
COCOANFOACETATO SÓDICO	10,00
DIESTEARATO DE GLICOL	4,00
LANETTE SX	9,00
<i>HARUNGANA MADAGASCARIENSIS</i>	0,50
CONSERVANTES	c.s.
EDTA DISÓDICO	0,10
PERFUME	c.s.
AGUA DESMINERALIZADA	c.s.p 100

LOCIÓN TÓNICA

	%
GOMA DE XANTANO	0,15
CARBÓMERO.....	0,15
BIOSACÁRIDO GOMA-1.....	10,00
LUBRAJEL	10,00
<i>HARUNGANA MADAGASCARIENSIS</i>	1,00
ACEITE DE RICINO HIDROGENADO PEG-40.....	0,40
CONSERVANTES	c.s.
PERFUME	c.s.
AGUA DESMINERALIZADA	c.s.p 100

CREMA DE NOCHE ANTI-EDAD

	%
ALCOHOL CETEARÍLICO Y CETEARIL GLUCÓSIDO.....	4,50
ESTEARATO DE GLICERIL Y ESTEARATO DE PEG-100.....	2,00
STEARETH-21.....	0,50
COCO-GLICÉRIDOS HIDROGENADOS.....	2,00
TRIGLICÉRIDOS CAPRÍLICO/CÁPRICO	8,00

ES 2 699 239 T3

MANTECA DE CARITÉ	2,00
DIMETICONA	0,50
CARBÓMERO	0,30
GLICOLES	5,00
SEPIGEL 305	0,30
<i>HARUNGANA MADAGASCARIENSIS</i>	3,00
HIDRÓXIDO SÓDICO	0,08
CONSERVANTES	c.s.
PERFUME	c.s.
AGUA DESMINERALIZADA	c.s.p 100

SERUM ANTI-EDAD

	%
COVACRYL MV 60	0,70
FUCOGEL	8,00
<i>HARUNGANA MADAGASCARIENSIS</i>	5,00
GLICOLES	10,00
CONSERVANTES	c.s.
PERFUME	c.s.
AGUA DESMINERALIZADA	c.s.p 100

REIVINDICACIONES

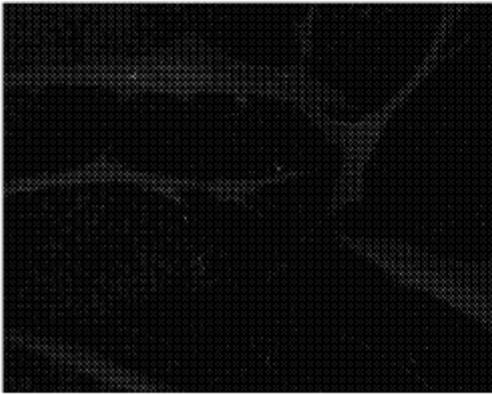
- 5 1. Utilización cosmética de una composición cosmética que comprende un extracto de hojas de *Harungana madagascariensis*, o de un extracto de hojas de *Harungana madagascariensis*, como agente que favorece la síntesis de colágeno y/o que protege a las proteínas cutáneas de la glucación con el fin de retardar, luchar contra, tratar o reducir la aparición de signos del envejecimiento de la piel seleccionados entre arrugas, líneas de expresión, flacidez cutánea, pérdida de elasticidad de las fibras cutáneas, una piel sin firmeza y adelgazada y/o difuminar las arrugas y las líneas de expresión y/o redensificar una piel sin firmeza y/o adelgazada y/o redensificar y/o reafirmar y/o tonificar la piel de la cara y/o del cuerpo.
- 10 2. Utilización cosmética según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el extracto de *Harungana madagascariensis* es un extracto acuoso.
3. Utilización cosmética según la reivindicación 2, en la que el extracto de *Harungana madagascariensis* está estabilizado por glicerina.
- 15 4. Utilización cosmética según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que dicho extracto está formulado en una composición cosmética que comprende de 0,01 a 10% de dicho extracto en peso de materia seca con respecto al peso total de la composición, preferiblemente de 0,01 a 5% de dicho extracto en peso de materia seca con respecto al peso total de la composición.
- 20 5. Utilización cosmética según la reivindicación 4, en la que dicha composición cosmética comprende, entre otros, uno o varios agentes o aditivos de formulación tales como suavizantes, colorantes, agentes filmógenos, tensioactivos, perfumes, conservantes, emulsionantes, aceites, glicoles, filtros UV y vitaminas.



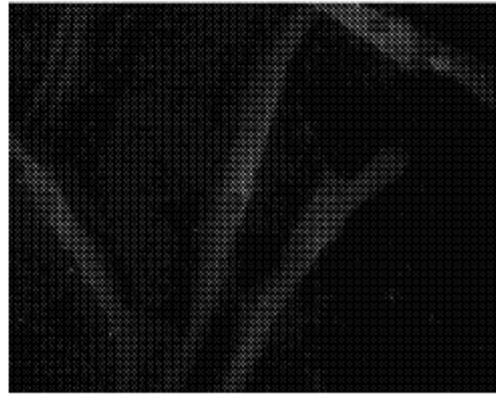
A



B



C



D



E

FIGURA 1

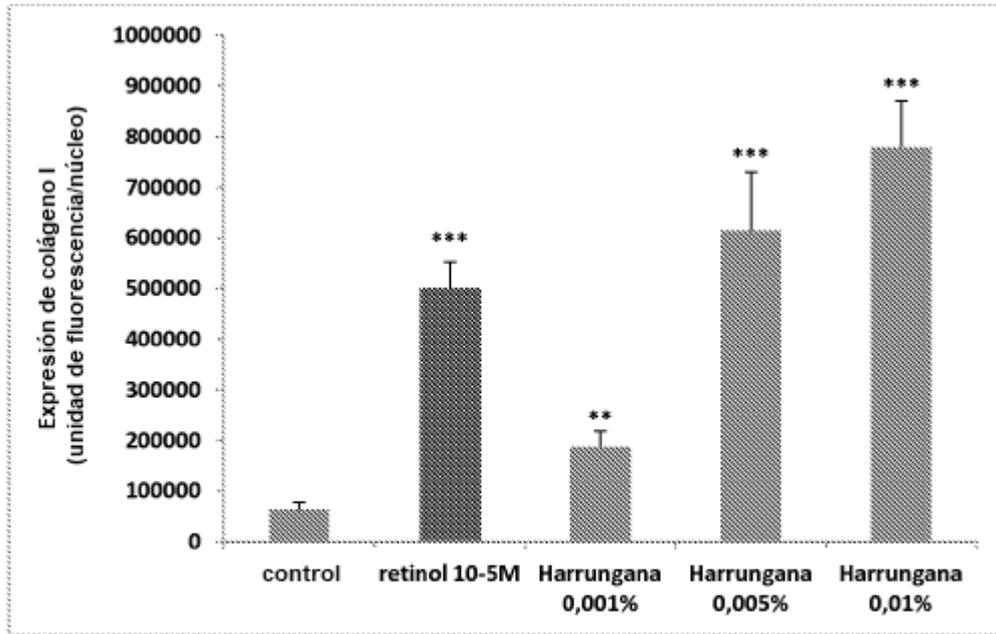


FIGURA 2