

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 731 820**

51 Int. Cl.:

**A61K 8/9783** (2007.01)

**A61Q 19/00** (2006.01)

**A61Q 19/08** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.11.2015 PCT/EP2015/077795**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.06.2016 WO16083515**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.11.2015 E 15801157 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.04.2019 EP 3247466**

54 Título: **Extracto peptídico y osídico de fruta de Schizandra y mejora de la respuesta del sistema neurosensorial cutáneo**

30 Prioridad:

**26.11.2014 FR 1461518**

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

**19.11.2019**

73 Titular/es:

**LABORATOIRES EXPANSCIENCE (100.0%)  
1, Place des Saisons  
92048 Paris La Défense Cedex, FR**

72 Inventor/es:

**MSIKA, PHILIPPE;  
BAUDOUIN, CAROLINE y  
BREDIF, STÉPHANIE**

74 Agente/Representante:

**CURELL SUÑOL, S.L.P.**

ES 2 731 820 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

Extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra* y mejora de la respuesta del sistema neurosensorial cutáneo

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a la utilización de un extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra* como agente neurosensorial cutáneo, en particular para mejorar la respuesta del sistema neurosensorial cutáneo. Una utilización de este tipo es ventajosamente cosmética.

10

**Técnica anterior**

Existen en el mundo aproximadamente 25 especies que pertenecen al género *Schizandra*. Aproximadamente dieciséis de ellas son chinas. Estos arbustos son originarios del norte de China y de las regiones adyacentes de Rusia y Corea.

15

*Schizandra* es una planta dioica (tallos con flores macho y hembra distintas). La fruta está en forma de racimo colgante que recuerda un poco a la del grosellero. Está provista de un pedúnculo desnudo en su parte superior (aproximadamente 5-10 cm) que está recubierto en su parte inferior por unas bayas rojas brillantes, un poco más grandes, más compactas y más firmes que la grosella. La semilla, esférica, mide algunos milímetros.

20

Dos especies están oficialmente reconocidas como medicinales en China, *S. chinensis* y *S. sphenanthera*. Sus bayas se utilizan en medicina tradicional china para el tratamiento de la tos, del asma, de los sudores nocturnos, de las eyaculaciones nocturnas y de la diarrea crónica. También se utilizan como tónicos y para el tratamiento de la fatiga crónica.

25

De nombre botánico *Schizandra*, esta planta pertenece a la clase de las *Magnoliopsida* y al orden de *Magnoliales*. La familia botánica es la de las *Schizandraceae*. El término *Schizandra* utilizado tal cual puede designar dos plantas diferentes que son *Schizandra chinensis* y *Schizandra sphenanthera*. Estas dos especies han sido consideradas durante mucho tiempo como equivalentes, podían ser designadas según su origen, "Northern Schizandra" para *Schizandra chinensis* y "Southern Schizandra" para *Schizandra sphenanthera*.

30

*Schizandra chinensis* se denomina asimismo pinyin, wǔ wèi zi, literalmente "baya de 5 sabores". *Schizandra chinensis* es una liana arborescente caduca silvestre de crecimiento lento que puede alcanzar de 9 a 10 metros de altura.

35

*Schizandra sphenanthera* Rehd. y Wils. se denomina también schisandre à fleurs orangées (en Francia), southern Schizandra, lemon wood (en Inglaterra), hua zhong wu wei zi, nan wu wie zi (en China).

40

Aunque la fruta de *S. chinensis* ha sido objeto de una bibliografía abundante, es mucho menos el caso de *S. sphenanthera*. Varios motivos lo explican:

- una menor reputación en cuanto a su utilización según la tradición China,
- una casi ausencia de uso en occidente,
- un menor contenido en neolignanos totales en comparación con *S. chinensis*.

45

Una de las principales diferencias entre las dos especies se refiere a la naturaleza y a los contenidos de los neolignanos contenidos en sus frutos respectivos. Esta subfamilia de constituyentes químicos representa la gran originalidad del género *Schizandra*. El artículo (Huyke *et al.*, 2007) informa de un estudio comparativo de los efectos sobre la proliferación celular de extractos de *S. chinensis* y *S. sphenanthera*.

50

Generalmente se considera que *S. sphenanthera* es inferior a *S. chinensis* en el plano médico y que es útil solo como fuente alternativa de los lignanos activos.

55

En un plano comercial, la fruta de *S. sphenanthera* se considera menos costosa que la de *S. chinensis*.

Características de las frutas

La fruta seca de *Schizandra* comprende aproximadamente 20% de aceites esenciales, de los cuales 7% a 30% son insaponificables (Huyke *et al.*, 2007). Los lignanos están comprendidos en la fracción insaponificable de los aceites. Otros constituyentes activos son los fitoesteroides y las vitaminas C y E.

60

El aceite esencial de *Schizandra* es rico en derivados sesquiterpénicos tales como: d-cadineno (25,6), g-cadineno, b-himachaleno y santalol. El aceite esencial de la fruta de *S. chinensis* contiene más hidrocarburos monoterpénicos que el de *S. sphenanthera* [Huyke *et al.*, 2007].

65

La fruta de *S. sphenanthera* se caracteriza por su riqueza en desoxischizandrina. Por el contrario, sus contenidos de schizandrina y g-schizandrina son muy bajos en comparación con los de la semilla de *S. chinensis* (Zhu *et al.*, 2007).

5 Los extractos de fruta: formas utilizadas

La forma más utilizada en medicina tradicional es la fruta seca. Además de su uso tradicional en China en estado deshidratado, la fruta de *Schizandra* también se utiliza en forma de extractos obtenidos mediante unos disolventes de extracción que permiten arrastrar los neolignanos de la fruta. Los disolventes mencionados en la bibliografía son el etanol, el CO<sub>2</sub> supercrítico o el CO<sub>2</sub>-SC (asociado o no con un co-solvente) y el hexano.

Varios estudios han intentado comparar los poderes de extracción deL CO<sub>2</sub>-SC, del cloroformo, del metanol y del etanol con respecto a los neolignanos de la fruta.

15 Según una publicación reciente, la extracción de la fruta de *Schizandra* mediante el CO<sub>2</sub> o el CO<sub>2</sub> + 5% de etanol, o también mediante hexano, conduce a unas composiciones de extractos bastante similares en el plano de neolignanos. Por el contrario, la utilización de etanol ha conducido a una menor extracción de 2 neolignanos, la deshidroschizandria y la gomisina O, y aparentemente una mejor extracción de g-schizandrina (Huyke *et al.*, 2007).

20 Por otro lado, una técnica de extracción ha sido desarrollada por Zhu *et al.* que ha permitido comparar las cantidades de lignanos contenidos respectivamente en los extractos de *Schizandra chinensis* y *Schizandra sphenanthera* (Zhu *et al.*, 2007).

25 **Técnica anterior**

Se ha informado en la bibliografía de numerosas propiedades farmacológicas de los extractos de frutas de *Schizandra*, tales como:

- 30 - unos efectos de protección hepática, conocidos desde los años 1980;
- unos efectos anti-VIH;
- una actividad anti-inflamatoria y anti-tumoral;
- un aumento de la biodisponibilidad de ciertos productos, cuando se ingieren al mismo tiempo.

35 Así, numerosos documentos citan unas composiciones farmacológicas que comprenden, entre otros compuestos activos, unos extractos de *Schizandra*:

40 La solicitud WO 2007/020382 de la compañía Phynova describe una composición que comprende unos extractos de cuatro plantas incluyendo *Schizandra chinensis* o *Schizandra sphenanthera*, para el tratamiento de problemas hepáticos, metabólicos y/o inmunitarios, y más particularmente destinada a tratar la hepatitis C.

45 La solicitud WO 2007/005760 describe una composición que comprende unos compuestos de la familia de las schizandrinas, gomisinas, y otros compuestos derivados de extractos de las frutas de *Schizandra chinensis* y *Schizandra sphenanthera*, para tratar células de cáncer quimiorresistentes.

50 Un artículo Huyke *et al.* (2007) describe y compara los efectos de extractos de *S. sphenanthera* y *S. chinensis* sobre unas células en cultivo: la proliferación de las células epidérmicas de tipo HaCaT y A431 es inhibida de manera dependiente de la dosis por estos extractos, siendo los extractos no polares más eficaces que los extractos polares. Los autores del ensayo concluyen que el extracto con CO<sub>2</sub>-SC de *Schizandra sphenanthera* podría ser útil en la prevención y el tratamiento de las enfermedades inflamatorias e hiperproliferativas de la piel.

Ninguno de estos documentos describe un extracto particular de *Schizandra*, y en particular un extracto peptídico y osídico, para su actividad como agente neurosensorial.

55 Sistema neurosensorial y la piel

60 La piel es un órgano cuya inervación es muy densa y llega hasta las capas más superficiales, con la excepción de la capa córnea. La epidermis también se caracteriza asimismo por numerosas terminaciones nerviosas libres hasta las capas más externas. Estas terminaciones nerviosas proceden de las neuronas sensitivas procedentes de los ganglios raquídeos situados a lo largo de la médula espinal. Estas neuronas poseen por lo tanto unos axones extremadamente largos (a veces de más de un metro) que transmiten las informaciones sensitivas (táctil, calor, etc. pero también dolor) de la piel hasta el cerebro. La densidad de inervación varía en función de la zona del cuerpo. Así, en los seres humanos, las manos y la cara están muy inervadas en comparación con la espalda o el abdomen

65 En la piel se encuentran unas fibras nerviosas sensoriales y unas fibras nerviosas autónomas, perteneciendo

ambas al sistema nervioso periférico (SNP). Las terminaciones nerviosas de tipo "sensitivas" responden a una variedad de estímulos fisiológicos, tales como el calor, el frío, el tacto, una distensión mecánica y los UV. Algunas fibras pueden incluso ser activadas por una variedad de sustancias químicas o también por factores biológicos como agentes microbiológicos o proteasas que proceden de plantas.

Las terminaciones nerviosas autónomas son responsables de las funciones automáticas tales como la regulación de la función de las glándulas sudoríparas, la vasomotricidad, el flujo sanguíneo y, por ello, la termorregulación. Estas fibras por lo tanto tienen un papel en la homeostasis (mantenimiento del equilibrio interno) y también están implicadas en interacciones complejas entre aspectos fisiológicos y de comportamiento.

Las conexiones entre nervios y piel se realizan a nivel celular por medio de los neuromediadores (o neurotransmisores). Entre estos neuromediadores, se pueden citar la sustancia P, el CGRP (Péptido Unido al Gen Calcitonina) o también la pro-opiomelanocortina (POMC). Estas moléculas, sintetizadas por las terminaciones nerviosas pero también por las células cutáneas o inmunitarias, son las mediadoras del intercambio de información entre la piel y el sistema nervioso. Estas células expresan numerosos receptores para estos neuromediadores pero también unas enzimas que pueden degradarlos (citoquinas, factores de crecimiento, etc.). Los neuromediadores son así capaces, después de la unión a unos receptores específicos, de activar unas células cutáneas diana como los mastocitos, los queratinocitos, las células de Langerhans, los melanocitos, las células de Merkel, las células endoteliales y los fibroblastos. Por otra parte, las funciones metabólicas de las neuronas cutáneas pueden ser reguladas por unos mediadores producidos por las células cutáneas. Esta comunicación celular, que se efectúa en los dos sentidos, participa en numerosos procesos biológicos tales como la inflamación, la respuesta inmunitaria, la cicatrización, la pigmentación y el crecimiento piloso. Las intrincaciones anatómicas y funcionales extremadamente estrechas entre la piel y el sistema nervioso conducen a hablar de un sistema unificado: el sistema neurosensorial cutáneo.

El CGRP es un péptido de 37 aminoácidos, producido por fibras nerviosas sensitivas no mielinizadas (tipo C), las células de Merkel y las fibras nerviosas autónomas. El CGRP es capaz de inducir unos efectos inflamatorios, vasodilatadores y neurotróficos.

Diferentes proteínas "sensitivas" ("sensor") están presentes en las neuronas del sistema nervioso periférico, que son consideradas como los únicos transductores de la percepción cutánea. Las células epidérmicas reemplazan esta transducción de señal ya que expresan asimismo numerosas proteínas sensitivas. Estas proteínas son principalmente transmembranarias y permiten la transformación de estímulos como el tacto, la presión osmótica, la temperatura o estimulaciones químicas en mensajes bioquímicos intercelulares. Entre estas proteínas que frecuentemente son unos receptores, se puede citar la familia de los TRP (transient receptor potentials) incluyendo los receptores termosensibles tales como el TRPV1 (transient receptor potential vanilloide 1).

Por lo tanto existe un diálogo entre las células de la piel y las neuronas sensitivas. Estas interacciones participan en la sensación de bienestar, un equilibrio homeostático de la epidermis, un aumento de la melanogénesis.

Sin embargo, la situación anatómica de la piel sugiere que el sistema nervioso está expuesto en gran medida a los retos medioambientales. La homeostasis del sistema nervioso cutáneo puede ser modificado en ciertas condiciones: el envejecimiento, el estrés, los UV, las patologías inflamatorias, los trastornos cosméticos, etc. Por lo tanto es importante proteger este sistema nervioso periférico; esta "neuroprotección" es tan importante como bajo es el potencial de regeneración del tejido nervioso; que explica la recuperación parcial de las funciones sensitivas tras una lesión, por ejemplo. Durante el envejecimiento, esta "neuroprotección" también es necesaria para combatir la pérdida de neuronas asociada con la edad.

La conservación del enlace anatómico entre el sistema nervioso central y las neuronas sensitivas cutáneas periféricas permite la conservación de una buena sensibilidad, pero también un mantenimiento de los sistemas de termorregulación y de secreción sebácea.

### Resumen de la invención

Los extractos peptídicos y osídicos de la fruta de *Schizandra* son conocidos por su utilización en la prevención o el tratamiento de las reacciones o patologías de la piel. En particular, los extractos peptídicos y osídicos de *Schizandra* tienen una actividad en el tratamiento del acné (WO 2011012615 y WO 2011/012612).

De manera inesperada, los inventores han descubierto que los extractos peptídicos y osídicos de la fruta *Schizandra* tienen unas propiedades neurosensoriales cutáneas nunca descritas hasta ahora.

La presente invención tiene por lo tanto por objeto la utilización, en particular la utilización cosmética, de un extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra* como agente neurosensorial cutáneo, ventajosamente para mejorar la respuesta del sistema neurosensorial cutáneo.

La presente invención tiene asimismo por objeto una composición cosmética que comprende un extracto

peptídico y osídico de fruta de *Schizandra*, como agente neurosensorial, ventajosamente para mejorar la respuesta del sistema neurosensorial cutáneo.

### Descripción de las figuras

5

**Figura 1.** Actividad de un extracto peptídico y osídico de *Schizandra sphenanthera* sobre la expresión génica de TRPV1 en queratinocitos. (\*  $p < 0.05$  vs. células de control - ANOVA de un factor seguida por un ensayo de Dunnett)

10

**Figura 2.** Estudio del efecto de un extracto peptídico y osídico de *Schizandra sphenanthera* sobre la movilización de calcio intracitoplásmico de neuronas sensitivas estimuladas por la capsaicina en co-cultivo con unos queratinocitos: Evolución de la fluorescencia a lo largo del tiempo.

15

**Figura 3.** Estudio del efecto de un extracto peptídico y osídico de *Schizandra sphenanthera* sobre la movilización de calcio intracitoplásmico de neuronas sensitivas estimuladas por la capsaicina en co-cultivo con unos queratinocitos: Variación de fluorescencia en porcentaje con respecto al control. (#  $p < 0.05$  vs. control; \*  $p < 0.05$ , \*\*\*  $p < 0.001$  vs. capsaicina; Ensayo de Bartlett)

20

**Figura 4.** Estudio de la actividad de un extracto peptídico y osídico de *Schizandra sphenanthera* sobre la liberación de CGRP por unas neuronas sensitivas estimuladas por la capsaicina en co-cultivo con unos queratinocitos: (#  $p < 0.05$  vs, control; \*\*\*  $p < 0.001$  vs, capsaicina; ANOVA de un factor seguida por una prueba de Dunnett)

25

**Figura 5.** Estudio del efecto trófico de un extracto peptídico y osídico de *Schizandra sphenanthera* sobre el desarrollo de las prolongaciones de las neuronas sensoriales: longitud de las neuritas para las neuronas sensitivas solas tras 5 días de cultivo

30

**Figura 6.** Estudio del efecto trófico de un extracto peptídico y osídico de *Schizandra sphenanthera* sobre el desarrollo de las prolongaciones de las neuronas sensitivas en presencia de queratinocitos: longitud de las neuritas para las neuronas sensitivas en co-cultivo con unos queratinocitos tras 5 días de cultivo

### Descripción detallada de la invención

35

La presente invención tiene por lo tanto por objetivo proporcionar un principio activo que permita mejorar la respuesta del sistema neurosensorial cutáneo. Una mejora de este tipo permite en particular:

40

- mejorar la prolongación de las neuronas, permitiendo así mejorar la inervación cutánea en el estado basal;
- mejorar la respuesta del sistema neurosensorial cutáneo frente a las agresiones medioambientales (dolor, calor, frío, etc.); y
- luchar contra la pérdida de inervación cutánea relacionada con la edad para prevenir la pérdida de sensibilidad cutánea y luchar contra el adelgazamiento de la epidermis.

45

La presente invención tiene por objeto la utilización de un extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra* como agente neurosensorial cutáneo, en particular para mejorar la respuesta del sistema neurosensorial cutáneo.

50

En el sentido de la presente invención, se entiende por "agente neurosensorial" un compuesto capaz de actuar sobre los componentes del sistema neurosensorial cutáneo (terminaciones nerviosas, células epidérmicas, neuromediadores, receptores "sensitivos") para mejorar la respuesta del sistema neurosensorial cutáneo.

55

En el sentido de la presente invención, se entiende por "mejora de la respuesta del sistema neurosensorial cutáneo", la conservación del enlace anatómico entre el sistema nervioso central y las neuronas sensitivas cutáneas periféricas. Esto permite una mejor liberación de las informaciones nerviosas en forma de neurotransmisores a nivel de los queratinocitos y de los melanocitos y así una mejor interacción entre las células de la piel y las neuronas sensitivas. Estas interacciones participan en la sensación de bienestar, en el equilibrio homeostático de la epidermis, en el aumento de la melanogénesis, y en la conservación de una buena sensibilidad, en el mantenimiento de los sistemas de termorregulación y de secreción sebácea.

60

65

Según un primer aspecto de la invención, la presente invención tiene por objeto la utilización de un extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra* como agente neurosensorial, para mejorar la inervación cutánea en el estado basal, más precisamente para mejorar la densidad de inervación cutánea induciendo un efecto trófico en las neuronas que conduce a una elongación de las prolongaciones neuronales, más particularmente para mejorar la cicatrización y/o para mejorar la percepción del tacto y/o para favorecer la homeostasis y por lo tanto

el confort cutáneo.

5 Ventajosamente, dicho extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra* se pueden utilizar como producto de masaje. Dicho extracto puede ser incorporado entonces en un producto de masaje, en particular en un producto de masaje para bebés. De manera ventajosa, el producto de masaje comprende dicho extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra* y un excipiente de masaje cosméticamente aceptable. Más particularmente, el producto de masaje es un aceite de masaje, en particular un aceite de masaje para bebés.

10 En el sentido de la presente invención, se entiende por "cicatrización", la cicatrización epidérmica, o re-epitelialización, es decir, la cicatrización de las capas superficiales de la epidermis. El término "cicatrización" tiene por lo tanto un sentido cosmético y corresponde ventajosamente a la reparación de la superficie de la piel y/o a la reestructuración de la epidermis.

15 La ausencia de la inervación sensorial cutánea afecta de manera negativa a todas las etapas de cicatrización; en particular, un defecto de inervación puede disminuir la proliferación queratinocítica e inducir un adelgazamiento de la epidermis. Se ha mostrado que las neuronas sensitivas influyen directamente en la re-epitelialización (etapa clave de la cicatrización epidérmica). Las neuronas permiten por lo tanto una aceleración de la cicatrización, sin inflamación.

20 Por otra parte, la inervación cutánea desempeña un papel importante en la percepción del tacto. Por la expresión "percepción de tacto" se entiende en el sentido de la presente invención, la percepción del contacto ligero con la piel, glabra (sin pelos) o velluda. Los receptores responsables de la percepción de tacto son en particular los corpúsculos de Meissner localizados en la piel glabra y situados inmediatamente bajo la epidermis en las papilas dérmicas y los receptores de los folículos pilosos que están constituidos por terminaciones libres que se sitúan  
25 alrededor de la raíz del pelo y bajo las glándulas sebáceas.

Según un segundo aspecto de la invención, la presente invención tiene por objeto la utilización de un extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra* para luchar contra la pérdida de inervación cutánea en el estado basal  
30 relacionada con la edad, en particular para prevenir la pérdida de la sensibilidad cutánea y/o luchar contra el adelgazamiento de la epidermis.

En efecto, el potencial de regeneración del tejido nervioso es muy bajo. La densidad de inervación de la epidermis decrece por lo tanto de manera progresiva con la edad, provocando así una disminución del grosor epidérmico y una falta de sensación térmica debida a una densidad nerviosa reducida.

35 Por la expresión "sensibilidad cutánea" se entiende en el sentido de la presente invención, la sensibilidad nerviosa dependiente de receptores situados en la piel y estimulados por unos agentes externos al organismo. En el seno de la sensibilidad cutánea se distinguen: la sensibilidad mecánica (o percepción del tacto), la sensibilidad térmica y la sensibilidad dolorosa (o nocicepción).

40 Según otro aspecto, la presente invención también tiene por objeto la utilización de un extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra* para mejorar la percepción cutánea del medioambiente, en particular para evitar una reactividad cutánea demasiado grande y/o para luchar contra las agresiones cutáneas y/o el estrés cutáneo del medioambiente, más particularmente para luchar contra las quemaduras, el frío extremo, y/o el dolor.

45 La situación anatómica de la piel sugiere que el sistema nervioso está muy expuesto a los retos medioambientales; es importante por lo tanto proteger este sistema nervioso periférico.

50 En el sentido de la presente invención, la expresión "percepción cutánea del medioambiente" significa la percepción de cualquier estímulo procedente de un contacto directo con el medioambiente exterior. En particular, estos estímulos son físicos, es decir, térmico, mecánico, eléctrico o radiación UV, químico o indirectos, tal como los producidos por alérgenos, haptenos, agentes microbiológicos, choques o inflamación.

55 En el sentido de la presente invención, se entiende por "quemadura" cualquier quemadura que pueda ser causada por el contacto con una fuente de calor, por contacto con una sustancia denominada cáustica, fricción, efecto de combustión, efecto de una radiación (quemadura solar - radiación ultravioleta B - radiación infrarroja), efecto de una corriente eléctrica (electrificación), o frío (congelación).

60 En el sentido de la presente invención, se entiende por "frío extremo" una temperatura situada por debajo del umbral de 0°C, ventajosamente por debajo de -5°C, más particularmente por debajo de -10°C.

65 Ventajosamente, la presente invención se refiere a la utilización de un extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra* para evitar una reactividad cutánea demasiado grande frente al medioambiente mejorando la termosensibilidad cutánea y/o la percepción del dolor, y/o para luchar contra la comezón y/o las sensaciones de malestar.

Se entiende por "termosensibilidad cutánea", en el sentido de la presente invención, la percepción por la piel de las sensaciones de quemaduras o de frío intensos, que puede conducir a unas reacciones de irritación cutánea.

5 Se entiende por "percepción de dolor", en el sentido de la presente invención, el conjunto de los fenómenos que permiten la integración a nivel del sistema nervioso central de un estímulo doloroso a través de la activación de nociceptores (receptores del dolor) cutáneos, y que pueden conducir a unas reacciones de irritación cutánea.

10 Ventajosamente, la presente invención se refiere a la utilización de un extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra* para prevenir o tratar las pieles intolerantes, es decir, para modular en particular la respuesta de las pieles intolerantes frente a las agresiones del medioambiente.

15 En el sentido de la presente invención, se entiende por "piel intolerante" las pieles que tienen un umbral de tolerancia frente a las agresiones medioambientales más bajo que el umbral de tolerancia de las pieles normales. Las pieles intolerantes reaccionan de manera anormal en respuesta a unos estímulos exteriores normales y generalmente bien tolerados por una piel denominada normal y/o reaccionan mucho más rápidamente a las agresiones del medioambiente que una piel denominada normal. Una piel denominada piel normal es una piel sin imperfecciones visibles que reacciona de manera controlada a unas agresiones exteriores y cuya fisiología y estructura son consideradas como normales. Las agresiones del medioambiente pueden ser físicas, es decir, 20 térmica, mecánica, eléctrica o radiación UV, químicas o indirectas, tales como las producidas por alérgenos, haptenos, agentes microbiológicos, choques o inflamación.

Esta disminución del umbral de tolerancia puede ser la consecuencia de una hiperreactividad celular que implica las células epidérmicas, inmunes y nerviosas.

25 Las reacciones desarrolladas por las pieles intolerantes frente a estas agresiones del medioambiente pueden ser enrojecimientos, rojeces (eritemas), pápulas, pústulas, telangiectasias, sensaciones de quemadura, hormigueo, comezón, manchas rojas, sequedad cutánea, etc.

30 Según otro aspecto, la presente invención tiene como un objeto un extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra*, como agente neurosensorial, o una composición que comprende este tipo de extracto, para su utilización para mejorar la cicatrización, para luchar contra la comezón y/o para prevenir o tratar las pieles intolerantes.

35 En el marco de la presente invención, el conjunto de los modos de realización descritas anteriormente pueden ser utilizadas de manera indistinta de manera separada o combinada.

Ventajosamente, según la presente invención, el extracto peptídico y osídico de la fruta de *Schizandra* procede de *Schizandra sphenanthera*.

40 En un modo preferido de la invención, el extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra* está constituido por:

- 5% a 90% péptidos, y
- 5% a 90% de azúcares totales,

45 estando los porcentajes expresados con respecto al peso total de la materia seca de dicho extracto peptídico y osídico.

El extracto peptídico y osídico según la invención está constituido más ventajosamente por:

- 50
- 10% a 50% péptidos;
  - 10% a 60% de azúcares totales.

El extracto peptídico y osídico según la invención más ventajosamente está constituido más ventajosamente por:

- 55
- 20% a 50% péptidos;
  - 30% a 60% de azúcares totales.

60 En la presente solicitud, los términos "extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra*", "extracto peptídico y osídico de *Schizandra*" y "extracto de *Schizandra*" tienen el mismo significado y se utilizan indistintamente para designar el mismo extracto de fruta.

En particular, el extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra* no comprende lignanos, conocidos en la actualidad por ser los principales activos de la fruta.

65 Según un modo preferido de realización de la invención, el extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra* se obtiene ventajosamente mediante un procedimiento que comprende las etapas sucesivas siguientes: a partir de

fruta de *Schizandra*, una extracción mediante CO<sub>2</sub> supercrítico permite obtener un aceite crudo y una torta deslipada. La torta de bayas de *Schizandra*, obtenida después de la extracción de los lípidos, es dispersada en agua. Se realiza a continuación una hidrólisis del almidón y de las fibras (celulosa, hemicelulosa, etc.) con la ayuda de una mezcla de celulasas y alfa-amilasas, así como de las proteínas mediante unas proteasas. Un tratamiento térmico permite desnaturalizar las enzimas al final de la reacción. Después de la centrifugación, el medio de reacción se purifica realizando una ultrafiltración y diafiltración sobre una membrana que tiene un umbral de corte de 15 kDa con el fin de eliminar las proteínas residuales (retentado). El permeado es nanofiltrado a continuación con el fin de eliminar sales minerales, y después se decolora el extracto peptídico y osídico con carbón activado y después se filtra y se recupera. Por último, el producto es filtrado filtración estérilmente (0,2 µm) y puede ser liofilizado o acondicionado. Ventajosamente, el producto es liofilizado en presencia de maltodextrina.

Tabla 1: Ejemplo de una composición analítica de un extracto peptídico y osídico de *Schizandra*, en porcentajes con respecto a la materia seca:

Contenido en péptidos	13%
Contenido en nitrógeno alfa-amino	6.0%
Contenido en azúcares totales	44%
Distribución de las masas molares (en Daltons) de los péptidos	
> 3500 Da	0%
3500 - 1200 Da	4%
1200 - 300 Da	23%
300 - 130 Da	18%
< 130 Da	55%

El extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra* puede ser formulado en forma de una composición cosmética. Por lo tanto, la presente invención se refiere asimismo a la utilización de una composición cosmética que comprende un extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra*, como agente neurosensorial, ventajosamente para mejorar la respuesta del sistema neurosensorial cutáneo.

Ventajosamente, la composición cosmética que comprende un extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra*, como agente neurosensorial, puede ser utilizada para:

- mejorar la inervación cutánea en el estado basal,
- mejorar la cicatrización,
- mejorar la percepción de tacto, en particular como producto de masaje,
- luchar contra la pérdida de inervación cutánea en el estado basal relacionada con la edad, ventajosamente para prevenir la pérdida de sensibilidad cutánea y/o luchar contra el adelgazamiento de la epidermis,
- mejorar la percepción cutánea del medioambiente, más particularmente para luchar contra las quemaduras, el frío extremo, y/o el dolor,
- mejorar la termosensibilidad cutánea y/o la percepción del dolor,
- luchar contra la comezón y/o las sensaciones de malestar, y/o
- prevenir o tratar las pieles intolerantes.

La composición cosmética puede comprender de 0,01% a 15%, en particular de 0,01% a 5%, en peso de dicho extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra*, con respecto al peso total de la composición. Unas concentraciones de este tipo pueden constituir unas concentraciones eficaces del extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra*.

La composición cosmética puede contener por otro lado uno o varios excipiente(s) cosméticamente aceptable(s), tales como unos gelificantes, por ejemplo unos gelificantes hidrófilos o lipofílicos, unos conservantes, unos agentes antioxidantes, unos disolventes, unos perfumes, unas cargas, unos filtros químicos o minerales, unos pigmentos, unos agentes quelantes, unos absorbentes de olor, aguas termales y/o unas materias colorantes. Las cantidades de estos diferentes excipientes son las utilizadas tradicionalmente en cosmética. Por ejemplo, la cantidad de cada excipiente puede variar de 0,01% a 20% en peso, con respecto al peso total de la composición cosmética.

La composición según la invención puede comprender además por lo menos un agente anti-inflamatorio/anti-irritante, un agente antioxidante/antirradicalario, un agente cicatrizante/reparador de la barrera, un agente anti-envejecimiento, y/o un agente hidratante.

5 Los agentes anti-inflamatorios/anti-irritantes limitan la reacción inflamatoria dirigida a través de las citoquinas o mediadores del metabolismo del ácido araquidónico y tienen unas propiedades tranquilizantes y anti-irritantes. Los más tradicionales son ácido glicirretínico (los derivados de regaliz) con sus sales y ésteres, el alfa-bisabolol, el Ginkgo biloba, la caléndula, el ácido lipoico, el beta-caroteno, la vitamina B3 (niacinamida, nicotinamida), la vitamina E, la vitamina C, la vitamina B12, los flavonoides (té verde, quercetina, etc.), el licopeno o la luteína, los azúcares de aguacate, el oleodestilado de aguacate, el arabinogalactano, los péptidos de lupino, el extracto total de lupino, un extracto peptídico de Quinoa, Cycloceramide® (derivado de oxazolina), las sustancias anti-glicación tales como la carnosina, la N-acetil-cisteína, las isoflavonas como por ejemplo la genisteína/genistina, diadzeína/daidzina, las aguas de manantial o termales (agua de Avène, agua de la Roche Posay, agua de Saint Gervais, agua de Uriage, agua de Gamarde), los extractos de Goji (*Lycium barbarum*), los péptidos o complejos de aminoácidos vegetales, la disulona tópica, o los medicamentos anti-inflamatorios.

Por agente antioxidante se entiende una molécula que disminuye o impide la oxidación de otras sustancias químicas. Los agentes antioxidantes/antirradicalarios que pueden ser utilizados en asociación se seleccionan ventajosamente de entre el grupo constituido por los tioles y los fenoles, por los derivados de regaliz como el ácido glicirretínico y sus sales y ésteres, el alfa bisabolol, el extracto de Ginkgo biloba, de Caléndula, Cycloceramide® (derivado de oxazolina), los péptidos de aguacate, los oligo-elementos como el cobre, el cinc y el selenio, el ácido lipoico, la vitamina B12, la vitamina B3 (niacinamida, nicotinamida), las vitaminas C, las vitaminas E, la coenzima Q10, el krill, el glutatión, el butilhidroxitolueno (BHT), el butilhidroxianisol (BHA), el licopeno o la luteína, el beta-caroteno, la familia de los polifenoles como los taninos, los ácidos fenólicos, los antocianos, los flavonoides con por ejemplo, extractos de té verde, de frutos rojos, de cacao, de uva, de *Passiflora incarnata* o de *Citrus*, o también las isoflavonas como por ejemplo, la genisteína/genistina y la daidzeína/daidzina. En el grupo de los antioxidantes se encuentran también las sustancias anti-glicación tales como la carnosina o ciertos péptidos, la n-acetil-cisteína, así como las enzimas antioxidantes o antirradicalarias como la SOD (super óxido dismutasa), la catalasa, la glutatión peroxidasa, la tioredoxina reductasa y sus agonistas.

Los agentes cicatrizantes y/o reparadores de la función de la barrera que pueden ser utilizados en asociación son ventajosamente la vitamina A, el pantenol (vitamina B5), Avocadofurane®, los azúcares de aguacate, el lupeol, el extracto peptídico de Maca, el extracto peptídico de Quinoa, el arabinogalactano, el óxido de cinc, el magnesio, el silicio, el ácido madecásico o asiático, el sulfato de dextrano, la coenzima Q10, la glucosamina y sus derivados, la condroitina sulfato y globalmente los GAG (glicosaminoglicanos), el sulfato de dextrano, las ceramidas, el colesterol, el escualano, los fosfolípidos, los péptidos de soja fermentados o no, los péptidos vegetales, los polisacáridos marinos, vegetales o biotecnológicos como los extractos de algas o el extracto de helecho, los oligo-elementos, los extractos de plantas con taninos como los taninos que se derivan del ácido gálico denominados taninos gálicos o también hidrolizables, encontrados inicialmente en la nuez de agalla, y los taninos catéquicos que resultan de la polimerización de unidades flavánicas cuyo modelo es proporcionado por el Cachú (*Acacia catechu*). Los oligo-elementos que pueden ser utilizados se seleccionan ventajosamente de entre el grupo constituido por el cobre, el magnesio, el manganeso, el cromo, el selenio, el silicio, el cinc y sus mezclas.

Los agentes de anti-envejecimiento que pueden actuar en asociación para ocuparse del acné en los sujetos de edad avanzada son unos agentes antioxidantes y en particular la vitamina C, la vitamina A, el retinol, el retinal, el ácido hialurónico de cualquier peso molecular, Avocadofurane®, los péptidos de lupino, el extracto peptídico de Maca.

Los agentes hidratantes/emolientes utilizados más comúnmente son la glicerina o sus derivados, la urea, el ácido pirrolidona carboxílico y sus derivados, el ácido hialurónico de cualquier peso molecular, los glicosaminoglicanos y cualquier otro polisacárido de origen marino, vegetal o biotecnológico como por ejemplo, la goma xantana, Fucogel®, ciertos ácidos grasos como el ácido láurico, el ácido mirístico, los ácidos grasos mono- y poliinsaturados de tipo omega 3, 6, y 7, 9 (por ejemplo: el ácido linoleico, el ácido palmítico, etc.), el oleodestilado de girasol, los péptidos de aguacate y la manteca de Cupuaçu.

Una asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra sphenanthera* y unos insaponificables vegetales y animales como por ejemplo, los insaponificables de aguacate y de soja, y concentrados de aceite vegetal o animal en insaponificables como por ejemplo, concentrado de aceite de girasol o de aceite de palma, o aceites vegetales que contienen unos insaponificables como por ejemplo, los aceites de soja y de colza, y los derivados de insaponificables como los furanos de aguacate, los ésteres de esteroides y los derivados vitamínicos.

Una asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra sphenanthera* y unos azúcares de aguacate (véase la solicitud WO

2005/115421). Esta composición está particularmente adaptada para el tratamiento de la reparación de la barrera cutánea y de la inflamación.

5 Una asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra sphenanthera* y péptidos de aguacate (véase la solicitud WO 2005/105123). Esta composición está particularmente adaptada para tratar la irritación y la inflamación.

10 Otra asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra sphenanthera* y un aceite de aguacate (véanse las solicitudes internacionales WO 2004/012496, WO 2004/012752, WO 2004/016106, WO 2007/057439).

15 Otra asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra sphenanthera* y Avocadofurane® (furanos de aguacate, que pueden ser obtenidos mediante el procedimiento descrito en la solicitud internacional WO 01/21605). Esta composición está particularmente adaptada para el tratamiento de la inflamación, para favorecer la cicatrización, y para sus propiedades anti-envejecimiento.

20 Otra asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra sphenanthera* y los insaponificables de aguacate y de soja. Los insaponificables de aguacate y de soja, que pueden ser utilizados en asociación son ventajosamente una mezcla de insaponificables de aguacate furánicos y de insaponificables de soja, en una relación respectiva de aproximadamente 1/3-2/3. Los insaponificables de aguacate y de soja son incluso más ventajosamente el producto Piasclédine®, comercializado por Laboratoires Expanscience.

25 Otra asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra sphenanthera* y un oleodestilado de girasol, incluso más ventajosamente un oleodestilado de girasol que comprende mayoritariamente ácido linoleico, tal como el activo comercializado por Laboratoires Expanscience, Soline® (véase la solicitud internacional WO 01/21150). Dicha composición está particularmente adaptada para el tratamiento de la inflamación y para la reparación de la barrera cutánea.

30 Otra asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra sphenanthera* y un insaponificable de soja, tal como el obtenido según el procedimiento descrito en la solicitud internacional WO 01/51596).

35 Otra asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra sphenanthera* y lupeol (FR 2 822 821, FR 2 857 596). Esta composición está particularmente adaptada para favorecer la cicatrización.

40 Otra asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra sphenanthera* y unos péptidos de lupino tales como los obtenidos según el procedimiento descrito en la solicitud WO 2005/102259). Esta composición está particularmente adaptada para el tratamiento de la inflamación y se utiliza por sus propiedades anti-envejecimiento.

45 Otra asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra sphenanthera* y un extracto total de lupino (véase la solicitud internacional WO 2005/102259). Esta composición está particularmente adaptada para el tratamiento de las irritaciones.

50 Otra asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra sphenanthera* y un aceite de lupino, ventajosamente un aceite de lupino blanco dulce, tal como el descrito en la solicitud internacional WO 98/47479).

55 Otra asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra sphenanthera* y un extracto peptídico de Maca (véase la solicitud internacional WO 2004/112742). Esta composición es particularmente apreciada por sus propiedades cicatrizantes y anti-envejecimiento.

60 Una asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra sphenanthera* y unos péptidos de arroz (véase la solicitud internacional WO 2008/009709). Esta composición es particularmente apreciada por sus propiedades de estimulación de la melanogénesis y de la transferencia de la melanina.

65 Otra asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra sphenanthera* y Cycloceramide® (derivado de oxazolina) tal como se describe en las solicitudes internacionales WO 2004050052, WO 2004050079 y WO 2004112741). Esta

composición está particularmente adaptada para el tratamiento de las reacciones inflamatorias.

5 Otra asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra sphenanthera* y un extracto de Quinoa, en particular un extracto peptídico (véase la solicitud internacional WO 2008/080974). Esta composición está particularmente adaptada para el tratamiento de las condiciones inflamatorias y de la reparación de la barrera cutánea.

10 Otra asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra sphenanthera* y manteca de Cupuaçu. Esta composición es particularmente apreciada por sus propiedades hidratantes.

Otra asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra sphenanthera* y un oleodestilado de colza.

15 Otra asociación particularmente ventajosa según la invención es una composición que comprende el extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra sphenanthera* y un oleodestilado de maíz.

20 Todas estas composiciones comprenden por lo menos otro compuesto activo, además del extracto de fruta de *Schizandra sphenanthera*, y pueden comprender dos, tres, cuatro o más compuestos activos tales como los descritos anteriormente.

25 Además de estos activos, el extracto peptídico y osídico de fruta de *Schizandra sphenanthera* según la invención, solo o en asociación con los activos citados anteriormente, puede ser utilizado como asociación de los activos protectores solares, tales como filtros o pantallas solares UVB y/o UVA, tales como las pantallas o filtros minerales y/u orgánicos conocidos por el experto en la materia que adaptará su elección y sus concentraciones en función del grado de protección buscado.

30 A título de ejemplo de activos protectores solares, se pueden citar en particular el dióxido de titanio, el óxido de cinc, el metilen bis-benzotriazolil tetrametilbutilfenol (nombre comercial: TINOSORB M) y la bis-etilhexiloxifenol metoxifenil triazina (nombre comercial: TINOSORB S), el octocrileno, el butil metoxidibenzoilmetano, el ácido tereftalilideno dialcanfor sulfónico, el 4-metilbenzilideno alcanfor, la benzofenona, el etilhexil metoxicinnamato, el etilhexil dimetil PABA, y la dietilhexil butamido triazona.

35 La composición según la invención puede ser formulada en forma de diferentes preparaciones adaptadas a una administración tópica, tales como las cremas, los geles, las emulsiones, las leches, las pomadas, las lociones, los aceites, las soluciones acuosas o hidroalcohólicas o glicólicas, los polvos, los parches, los pulverizadores, o cualquier otro producto para aplicación externa. Este tipo de formulaciones se presentan en los siguientes ejemplos.

40 Los siguientes ejemplos pretenden ilustrar la presente invención.

### Ejemplos

45 **Ejemplo 1: Efecto de un extracto peptídico y osídico de *Schizandra sphenanthera* sobre la expresión génica de TRPV1**

50 Es posible, en cultivo, modelizar el mecanismo de potenciales de acción antidrómicos. Las neuronas sensitivas, procedentes de los ganglios raquídeos, se cultivan en presencia de queratinocitos. Después de 10 días, las neuronas son maduras, liberan espontáneamente unos neuropéptidos tales como el CGRP y la sustancia P a nivel de los queratinocitos. Esta liberación se denomina basal, y puede ser medida mediante unos kits de dosificación ELISA.

55 El receptor TRPV1 (Transient Receptor Potential Vanilloid 1) es una proteína membranaria, que pertenece a la familia de los canales catiónicos no selectivos de los TRP. Es un nociceptor que responde, entre otros, a una activación por la capsaicina.

60 Anivel de la piel, TRPV1 es expresado por los queratinocitos, los mastocitos y las fibras nerviosas. En respuesta a una estimulación térmica (>43°C), química o mecánica, la activación de TRPV1 conduce a la liberación de citoquinas y de neuropéptidos que conduce a una respuesta neurosensorial (activación de los nervios sensitivos) que se traduce por unas sensaciones de dolor, prurito, incomodidad, enrojecimiento.

La activación de TRPV1 también induce una activación del sistema vascular, de manera directa o indirecta, que puede desembocar en particular en un efecto vasodilatador potente.

Material y métodos

Unos queratinocitos epidérmicos humanos normales fueron incubados durante 48 horas en presencia del extracto peptídico y osídico de *Schizandra sphenanthera* al 0,05% (MS).

Al final del tratamiento, los sobrenadantes de cultivo fueron eliminados y los ARN totales fueron extraídos con la ayuda del kit de extracción RNeasy MiniKit [Qiagen]. Los ARN totales fueron dosificados a continuación en minichips con la ayuda del sistema Experion™ y del kit Experion RNA StdSens [Biorad] y después transcritos inversamente en ADNc con la ayuda del kit iScript cDNA Synthesis [Biorad].

Los ADNc neo-sintetizados relativos al gen diana, TRPV1, o al gen de referencia, GAPDH, fueron selectivamente amplificados por PCR en tiempo real en iQ5 [Biorad] mediante la tecnología SybrGreen [kit iQ SybrGreen, Biorad].

La significancia de los resultados se confirmó mediante un análisis de varianza de un factor seguido por una prueba de Dunnett (software GraphPad Prism versión 5.02, GraphPad Software, San Diego, California, US).

Resultados

El extracto peptídico y osídico de *Schizandra sphenanthera* al 0,05% inhibió significativamente la expresión génica de TRPV1 en queratinocitos (-33%, p<0,05; figura 1).

Conclusión

Por su acción inhibitoria en el receptor de TRPV1, el extracto peptídico y osídico de *Schizandra sphenanthera* tiene una acción como agente neurosensorial, en particular para mejorar la percepción cutánea del medioambiente, en particular para evitar una reactividad cutánea demasiado grande y/o para luchar contra las agresiones cutáneas y/o el estrés cutáneo del medioambiente, más particularmente para luchar contra las quemaduras, el frío extremo, y/o el dolor.

**Ejemplo 2: Efecto de un extracto peptídico y osídico de *Schizandra sphenanthera* sobre la actividad del receptor TRPV1**

La activación del receptor de TRPV1 sobre unas neuronas sensitivas puede ser evaluada analizando la actividad eléctrica de neuronas sensitivas mediante el seguimiento de las variaciones de la concentración de calcio en el citoplasma.

Efectivamente, tras la estimulación de las células por la capsaicina, el calcio extracelular entra de manera masiva en el citoplasma de las neuronas con el fin de desencadenar una actividad eléctrica y provocar una liberación masiva de neuropéptidos en el espacio extracelular.

La variación del nivel de fluorescencia es analizada mediante la incorporación de una sonda fluorescente dependiente de calcio (Fluo-4) en las células. Por lo tanto, cuando aumenta el calcio en las células, el nivel de fluorescencia aumenta en el cuerpo celular de las neuronas. Cuanto más alto es este nivel, mayor es la estimulación de las neuronas.

Material y métodos

Unas neuronas sensitivas cultivadas en presencia de queratinocitos epidérmicos humanos normales fueron incubadas en presencia de un extracto peptídico y osídico de *Schizandra sphenanthera* al 0,005%, 0,01%, 0,05% y 0,01% (MS) o de la molécula de referencia, capsazepina, a  $10^{-5}$  M (Sigma).

Después de 60 minutos de pre-incubación, la sonda fluorescente, Fluo-4 (Molecular Probe), fue añadida al medio de cultivo y las células fueron incubadas durante 30 minutos. Después de enjuagar, los co-cultivos fueron observados bajo epifluorescencia durante 70 segundos; 5 segundos después del inicio del registro, las neuronas (en co-cultivo) fueron estimuladas por capsaicina a  $10^{-6}$  M (Sigma).

La significancia de los resultados fue confirmada por la prueba de Bartlett.

Resultados

Como se muestra en las figuras 2 y 3, la adición de capsaicina provoca un aumento significativo del nivel de fluorescencia y por lo tanto de la cantidad de calcio intracitoplásmico que refleja la activación del receptor de TRPV1.

El extracto peptídico y osídico de *Schizandra sphenanthera* inhibió significativamente la movilización de calcio

intracitoplásmico visualizada por una disminución de la variación de fluorescencia. El extracto peptídico y osídico de *Schizandra sphenanthera* es por lo tanto capaz de inhibir la actividad del receptor TRPV1.

5 El extracto peptídico y osídico de *Schizandra sphenanthera* por lo tanto tiene una acción como agente neurosensorial, en particular para mejorar la percepción cutánea del medioambiente, en particular para evitar una reactividad cutánea demasiado grande y/o para luchar contra las agresiones cutáneas y/o el estrés cutáneo del medioambiente, más particularmente para luchar contra las quemaduras, el frío extremo, y/o el dolor.

10 **Ejemplo 3: Estudio de la actividad de un extracto peptídico y osídico de *Schizandra sphenanthera* sobre la liberación de CGRP mediante unas neuronas sensitivas estimuladas por la capsaicina en co-cultivo con unos queratinocitos**

15 La capsaicina, un irritante natural de la familia de los vaniloides, es el constituyente activo de una gran variedad de guindillas. Esta toxina actúa esencialmente sobre las fibras amielínicas C, en particular las que llevan los mensajes nociceptivos. El efecto de la capsaicina resulta de la activación de un receptor denominado receptor vaniloide (TRPV1) presente preferentemente a nivel de las terminaciones nerviosas de la epidermis. En presencia de capsaicina en el medio de cultivo, las neuronas sensitivas aumentan la cantidad de neuropéptidos liberados. La capsazepina es un antagonista específico del receptor de TRPV1.

20 Material y métodos

25 Unas neuronas sensitivas fueron cultivadas en presencia de queratinocitos epidérmicos humanos normales. Después de 3 días de co-cultivo, las neuronas emiten unas prolongaciones en forma de terminaciones libres en contacto con los queratinocitos.

Las células fueron incubadas entonces en presencia del extracto peptídico y osídico de *Schizandra sphenanthera* al 0,005%, 0,01%, 0,05% y 0,01% (MS) o de la molécula de referencia, capsazepina, a  $10^{-5}$  M (Sigma).

30 Después de 60 minutos de pre-incubación, las neuronas (en co-cultivo) fueron estimuladas por capsaicina a  $10^{-7}$  M (Sigma)

Después de 15 minutos de estimulación, los sobrenadantes de cultivo fueron recuperados con el fin de dosificar el CGRP liberado. La dosificación de CGRP se llevó a cabo con la ayuda del kit de dosificación CGRP (SpiBio).

35 La significancia de los resultados fue confirmada mediante un análisis de varianza de un factor seguido por la prueba de Dunnett.

Resultados

40 El extracto peptídico y osídico de *Schizandra sphenanthera* inhibió significativamente la liberación de CGRP inducida por la capsaicina en unas neuronas sensitivas en co-cultivo con unos queratinocitos (figura 4). Este efecto inhibitor es similar al inducido por la capsazepina, el inhibidor de referencia.

45 Conclusión

El extracto peptídico y osídico de *Schizandra sphenanthera* es capaz de inhibir el receptor de TRPV1 a nivel de la expresión génica así como a nivel de la activación, como se muestra por el efecto inhibitor de la liberación de CGRP en unos co-cultivos de neuronas/queratinocitos estimulados por capsaicina (agonista específico del receptor TRPV1).

50 El efecto inhibitor del extracto peptídico y osídico de *Schizandra sphenanthera* con respecto a la activación de TRPV1 es comparable con el de la capsazepina, antagonista específico del TRPV1.

55 Debido a su acción inhibitora sobre el receptor de TRPV1, el extracto peptídico y osídico de *Schizandra sphenanthera* contribuye a modular la respuesta neurosensorial cutánea, permitiendo así mejorar la percepción cutánea del medioambiente, en particular para evitar una reactividad cutánea demasiado grande y/o para luchar contra las agresiones cutáneas y/o el estrés cutáneo del medioambiente, más particularmente para luchar contra las quemaduras, el frío extremo, y/o el dolor.

60 **Ejemplo 4: Estudio del efecto trófico de un extracto peptídico y osídico de *Schizandra sphenanthera* sobre el desarrollo de las prolongaciones de las neuronas sensitivas en presencia de queratinocitos**

La longitud de las prolongaciones de neuronas sensitivas en co-cultivo con queratinocitos fue medida en diferentes etapas del desarrollo.

65

Material y métodos

5 Unas neuronas sensitivas cultivadas solas o en presencia de queratinocitos epidérmicos humanos normales, fueron incubadas en presencia del extracto peptídico y osídico de *Schizandra sphenanthera* al 0,005%, 0,01%, 0,05% y 0,01% (MS) o de la molécula de referencia NGF a 20 ng/ml (Sigma).

Después de 5 días de estimulación, las células fueron fijadas y marcadas por un anticuerpo anti-β-tubulina. El análisis de la red de neuritas se llevó a cabo con la ayuda del programa Developer (GE Healthcare).

10 La significancia de los resultados se confirmó mediante ANOVA de un factor seguido por un prueba de Dunnett.

Resultados

15 Como se muestra en las figuras 5 y 6, el extracto peptídico y osídico de *Schizandra sphenanthera* provocó un aumento significativo de la longitud de las prolongaciones neuronales. Este efecto trófico es potenciado en presencia de queratinocitos, efectivamente en las condiciones de co-cultivo, el aumento observado es superior y dependiente de la dosis; el extracto peptídico y osídico de *Schizandra sphenanthera* puede inducir por lo tanto un aumento de factores neurotróficos por los queratinocitos.

20 El extracto peptídico y osídico de *Schizandra sphenanthera* tiene por lo tanto una acción como agente neurosensorial para mejorar la inervación cutánea en el estado basal.

Conclusión

25 El extracto peptídico y osídico de *Schizandra sphenanthera* es capaz de inhibir el receptor TRPV1 a nivel de la expresión genética así como también a nivel de la activación, como se muestra por el efecto sobre la movilización de calcio citoplásmico así como el efecto inhibitor de la liberación de CGRP en unos co-cultivos de neuronas/queratinocitos estimulados por capsaicina (agonista específico del receptor TRPV1).

30 El efecto inhibitor del extracto peptídico y osídico de *Schizandra sphenanthera* con respecto a la activación de TRPV1 es comparable con el de la capsazepina, antagonista específico del TRPV1.

35 Debido a su acción inhibitora sobre el receptor TRPV1, el extracto peptídico y osídico de *Schizandra sphenanthera* contribuye a modular la respuesta neurosensorial cutánea.

Por otro lado, mediante el efecto trófico positivo ejercido sobre unas neuronas sensitivas, el extracto peptídico y osídico de *Schizandra sphenanthera* ejerce un efecto beneficioso para la calidad de la inervación cutánea.

**Ejemplo 5: Ejemplos de formulaciones cosméticas**

40 Emulsión Aceite-en-Agua nº 1

Materia prima/Nombre comercial	%
POLIDECENO HIDROGENADO	De 5% a 20%
LAURILGLUCÓSIDO-GLISTEARATO	De 1% a 5%
DICAPRILIL CARBONATO	De 1% a 5%
GLICEROL	De 5% a 20%
CARBOPOL	De 0% a 1%
GOMA XANTANA	De 0% a 1%
<b>EXTRACTO DE SCHIZANDRA</b>	<b>De 0,01% a 5%</b>
HIDRÓXIDO DE SODIO	De 0% a 1%
CONSERVANTES	De 0% a 1%
ÁCIDO CÍTRICO	De 0% a 1%
AGUA PURIFICADA	CSP 100%

45 Emulsión Aceite-en-Agua nº 2

INCI UE	% INCI
AGUA	Q.S.
GLICERINA	1 a 10%
PROPANODIOL DICAPRILATO	1 a 10%
DICAPRILIL CARBONATO	1 a 10%
GLICERIL ESTEARATO CITRATO	1 a 5%
ALCOHOL CETÍLICO	1 a 5%
GOMA XANTANA	0 a 2%

ES 2 731 820 T3

INCI UE	% INCI
<b>EXTRACTO DE SCHIZANDRA</b>	<b>De 0,01% a 5%</b>
TOCOFEROL	0 a 0.5%
CONSERVANTES	0 a 2%
AMORTIGUADOR DE PH	0 a 1%
	100.000000

Emulsión Agua-en-Aceite

Materia prima/Nombre comercial	%
ISOPARAFINA LÍQUIDA	De 5% a 20%
ESTEARATO DE ISOCETILO	De 5% a 20%
HIDROXIESTEARATO AL-MG	De 5% a 20%
ABIL WE 09	De 1% a 5%
GLICEROL	De 1% a 5%
ACEITE DE VASELINA	De 1% a 5%
ÓXIDO DE CINCO MICRONIZADO	De 1% a 5%
BUTILENGLICOL	De 1% a 5%
<b>EXTRACTO DE SCHIZANDRA</b>	<b>De 0.01% a 5%</b>
ISONONIL ISONONANOATO	De 1% a 5%
CERA DE ABEJA	De 1% a 5%
TARTRATO DE SODIO	De 1% a 5%
CLORURO DE SODIO	De 0% a 5%
GLICINA	De 1% a 5%
CONSERVANTES	De 0% a 1%
COLESTEROL	De 0% a 1%
FITOESFINGOSINA	De 0% a 1%
ÁCIDO TARTÁRICO	De 0% a 1%
AGUA PURIFICADA	CSP 100%

**REIVINDICACIONES**

1. Extracto peptídico y osídico de la fruta *Schizandra* para su utilización como agente neurosensorial cutáneo.
- 5 2. Extracto para su utilización según la reivindicación 1, para mejorar la inervación cutánea en el estado basal.
3. Extracto para su utilización según la reivindicación 1 o 2, para mejorar la cicatrización.
- 10 4. Extracto para su utilización según la reivindicación 1 o 2, para mejorar la percepción del tacto, ventajosamente como producto de masaje.
- 15 5. Extracto para su utilización según la reivindicación 1 o 2, para luchar contra la pérdida de inervación cutánea en el estado basal relacionada con la edad, ventajosamente para prevenir la pérdida de sensibilidad cutánea y/o para luchar contra el adelgazamiento de la epidermis.
- 20 6. Extracto para su utilización según la reivindicación 1, para mejorar la percepción cutánea del medioambiente, en particular para evitar una reactividad cutánea demasiado grande y/o para luchar contra las agresiones cutáneas y/o el estrés cutáneo del medioambiente, más particularmente para luchar contra las quemaduras, el frío extremo, y/o el dolor.
- 25 7. Extracto para su utilización según la reivindicación 6, para mejorar la termosensibilidad cutánea y/o la percepción del dolor.
8. Extracto para su utilización según la reivindicación 6, para luchar contra la comezón y/o sensaciones de malestar.
9. Extracto para su utilización según la reivindicación 6, para prevenir o tratar las pieles intolerantes.
- 30 10. Extracto para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho extracto peptídico y osídico de la fruta *Schizandra* está constituido por:
  - 10% a 50% péptidos, y
  - 10% a 60% de azúcares totales,
- 35 estando los porcentajes expresados con respecto al peso total de dicho extracto peptídico y osídico.
11. Extracto para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, para aplicación tópica.

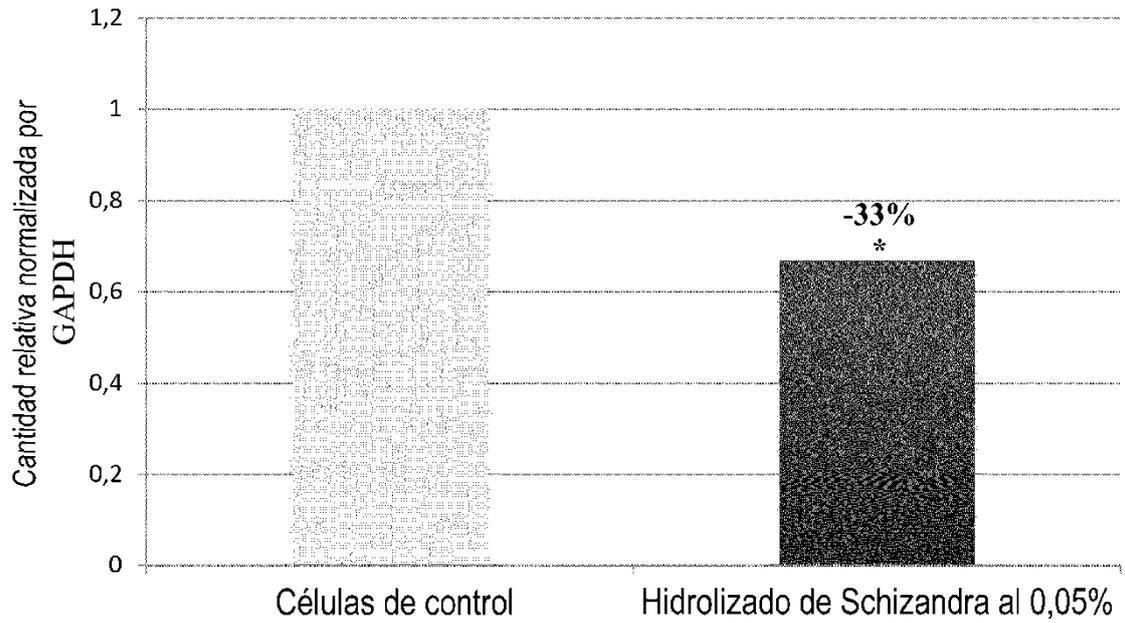


Fig. 1

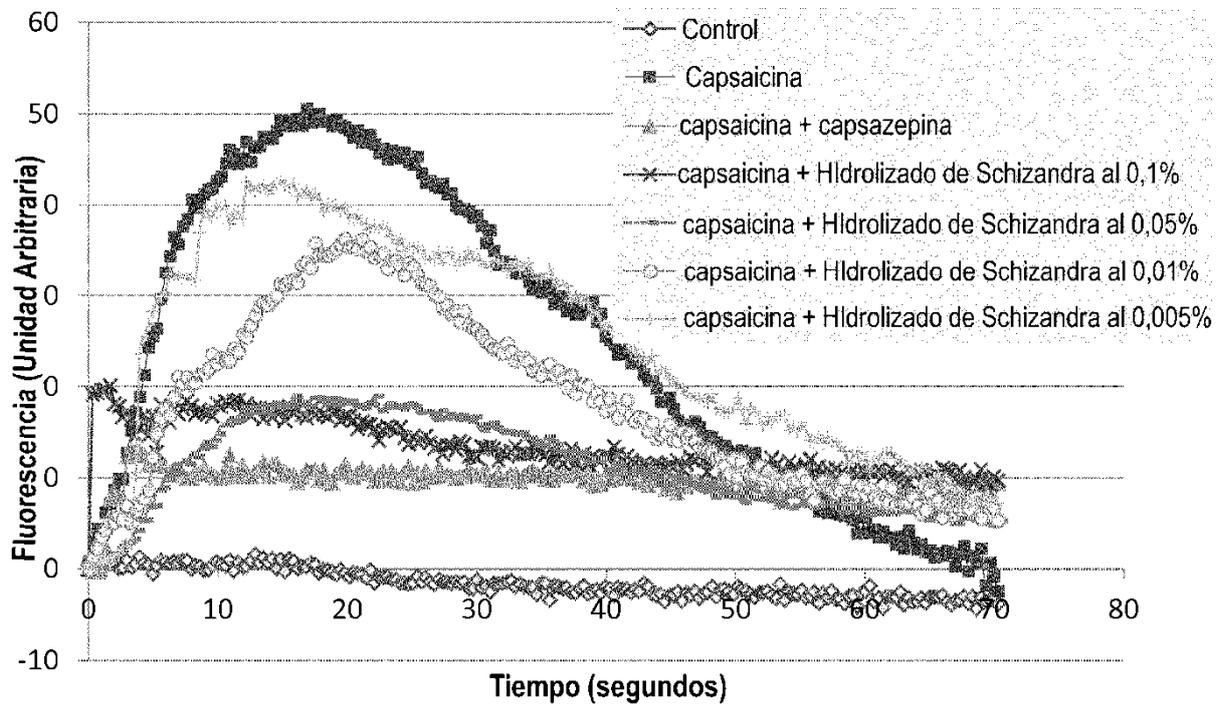


Fig. 2

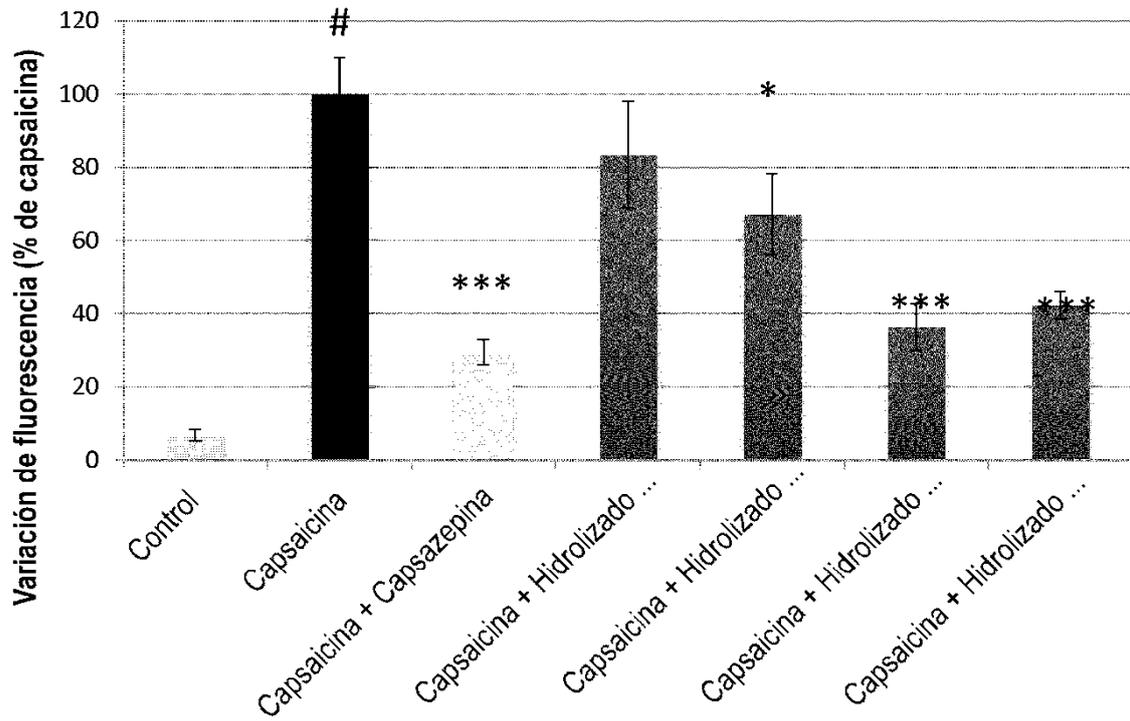


Fig. 3

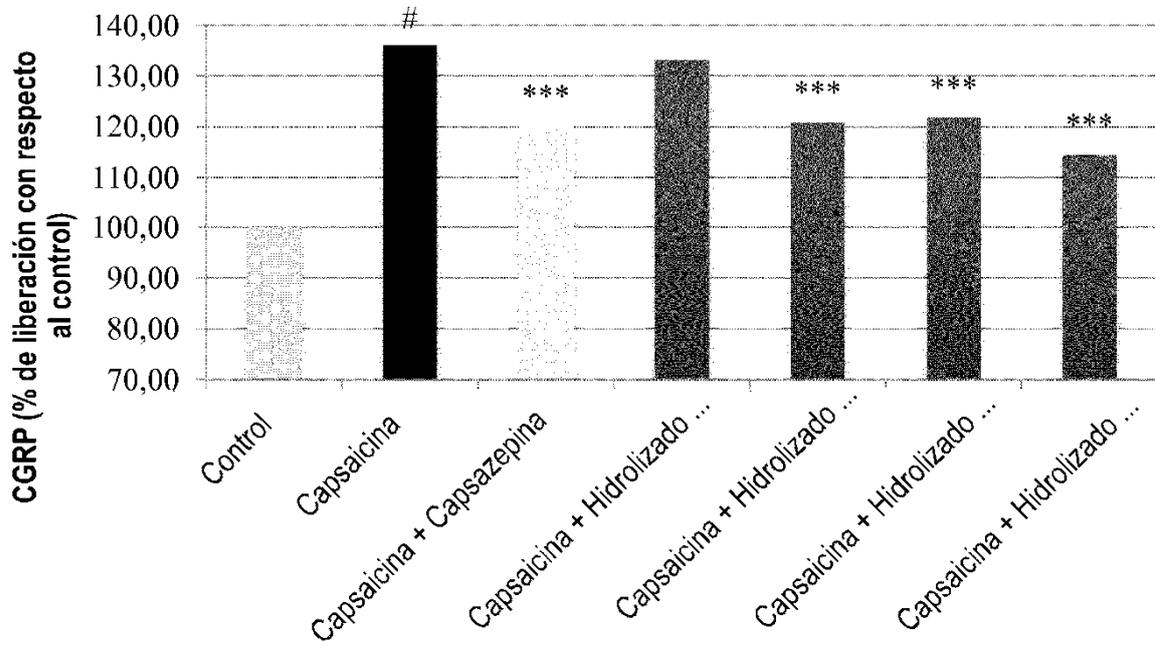


Fig. 4

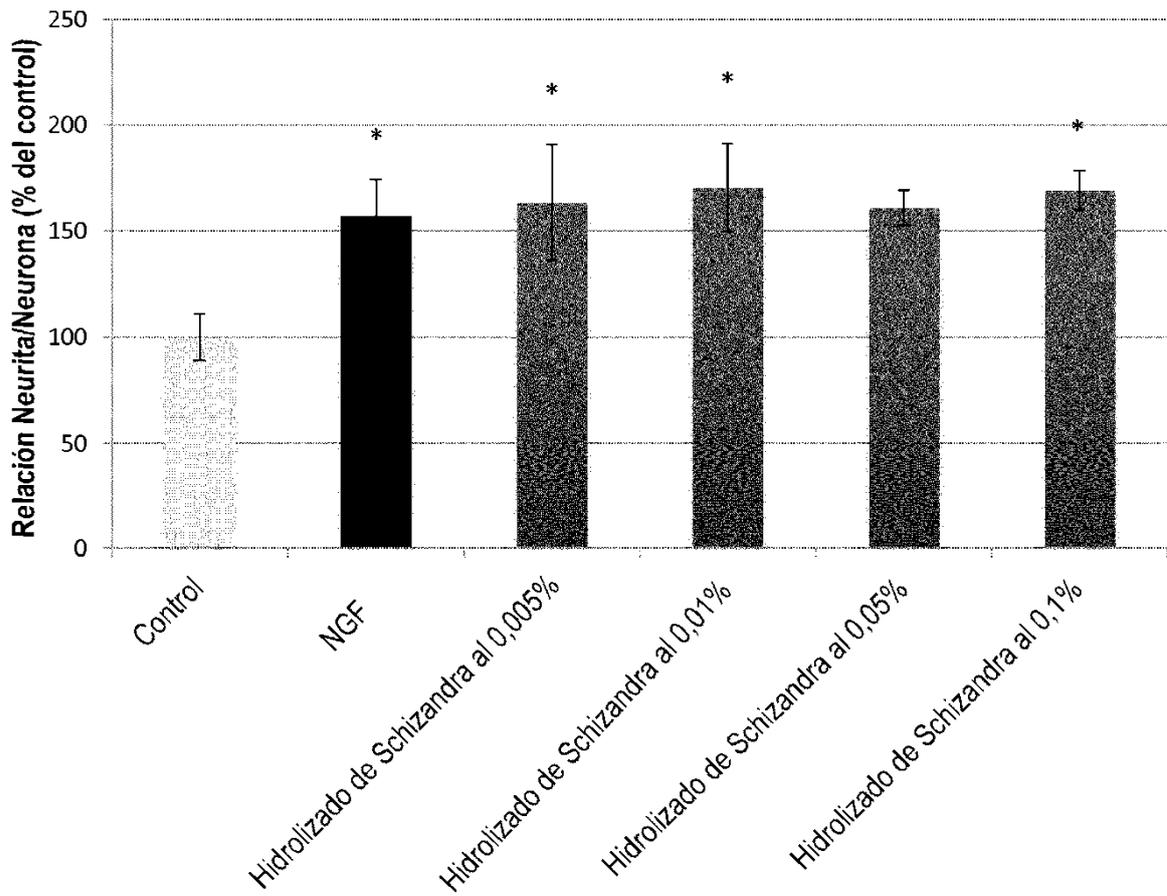


Fig. 5

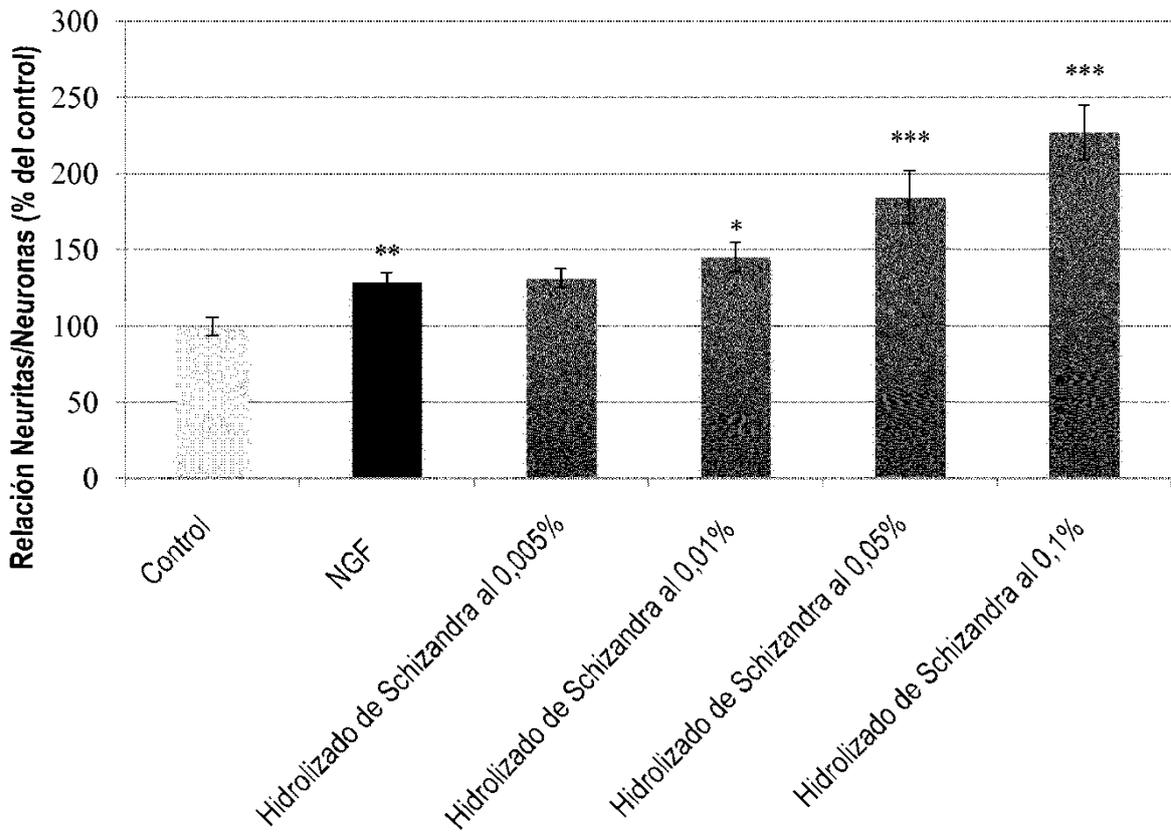


Fig. 6