

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 755 077**

51 Int. Cl.:

**A61Q 19/04** (2006.01)

**A61K 8/97** (2007.01)

**A61K 8/60** (2006.01)

**A61K 8/9789** (2007.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.09.2016 PCT/EP2016/071157**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.03.2017 WO17042257**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.09.2016 E 16763768 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.08.2019 EP 3347105**

54 Título: **Extracto de gardenia en la coloración de la piel**

30 Prioridad:

**09.09.2015 FR 1558358**

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

**21.04.2020**

73 Titular/es:

**PIERRE FABRE MÉDICAMENT (100.0%)  
45, Place Abel Gance  
92100 Boulogne-Billancourt , FR**

72 Inventor/es:

**DUPLAN, HÉLÈNE;  
FIORINI-PUYBARET, CHRISTEL;  
JACQUES-JAMIN, CARINE;  
JOULIA, PHILIPPE y  
SUBRA, LAURENT**

74 Agente/Representante:

**CURELL SUÑOL, S.L.P.**

ES 2 755 077 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 de gardenia en la coloración de la piel.

5 La presente invención se refiere a la utilización de un extracto de gardenia destinada a colorear la piel.

El color de la piel humana, también denominado tez, tiene una gradación continua del blanco al marrón oscuro casi negro, a veces con unos tonos rosados o cobrizos. El color de la piel es una característica individual llamativa, considerada a menudo como un marcador étnico o socioeconómico. La cantidad y naturaleza de los pigmentos contenidos en la piel, así como su distribución, son los principales criterios que determinan su color. La genética desempeña un papel clave en la determinación de la tez, pero también la exposición al sol, ya que la mayoría de los seres humanos se broncean bajo el efecto de la radiación ultravioleta. La absorción de ciertos medicamentos así como unas patologías pueden provocar hiperpigmentaciones o hipopigmentaciones. Tres pigmentos son responsables del color de la piel gracias a su distribución en superficie. El caroteno es un pigmento cuyo color varía del amarillo al naranja. Se acumula en la capa córnea y en las células adiposas de la hipodermis y favorece la síntesis de melanina. Está presente en ciertas plantas, como la zanahoria. El segundo pigmento es la hemoglobina, cuando la piel está bien oxigenada, la hemoglobina le da su color rosado a la piel clara. Una insuficiencia de oxigenación le da un color azulado. La melanina es el pigmento más importante para la coloración de la piel. La tasa de melanina determina su color y asegura una protección más o menos grande contra los rayos ultravioletas. La epidermis, el cabello y el vello están coloreados por la melanina que se encuentra en la capa más profunda de la epidermis, la capa basal, y es producida por células de gran tamaño, los melanocitos. La melanina se sintetiza en los melanosomas a partir de un aminoácido, la tirosina. La tirosinasa es una enzima clave en la síntesis de la melanina. Es la tasa de melanosomas y su tamaño lo que hace variar la tasa de melanina de una piel a otra. La melanina absorbe los rayos ultravioletas y los infrarrojos y capta los radicales libres que son eminentemente tóxicos y explican una gran parte de los efectos nocivos del sol.

El autobronceador es un producto cosmético utilizado para obtener un halo temporal similar al obtenido por bronceado, pero sin exposición al sol. Debe ser aplicado sobre el cuerpo para colorear la epidermis. El autobronceador contiene dihidroxiacetona, agente químico que permite la coloración de la piel. Por lo tanto, existe una gran demanda para desarrollar nuevos productos que colorean eficazmente la piel, fáciles de utilizar, mediante una sencilla ingesta oral por ejemplo.

De manera inesperada, los inventores han descubierto que un extracto de gardenia por vía oral y local podía ser útil para colorear la piel.

Originaria de China y Japón, *Gardenia jasminoides* J. Ellis es un arbusto de la familia Rubiaceae de hoja perenne, de aproximadamente 1 a 2 m de altura generalmente. Esta planta se cultiva en los países tropicales cálidos y húmedos. Las hojas, de color verde oscuro, son opuestas, elípticas a ovals-oblongas, de 5 a 10 cm de longitud y de 2 a 7,5 cm de anchura, cuneiformes en la base y agudas o acuminadas en el ápice con un pecíolo corto y con estípulas fusionadas por pares. Las flores de color blanco a marfil son acampanadas, de 3 a 4 cm, solitarias, terminales, sésiles y muy olorosas. El fruto es una baya coriácea de 5 lados, de 1 a 1,5 cm de longitud, ovoide o elipsoide, coronada por el cáliz persistente, de amarillo a rojo en la madurez y que contiene muchas semillas. El fruto maduro, cosechado en otoño y secado, está inscrito en la farmacopea china.

La medicina china prescribe el fruto de la gardenia en varias preparaciones: frutos secos (Zhi-zi), frutos fritos (Chaozhi-zi) o frutos carbonizados (Jiaozhi-zi). Como uso interno, se prescribe como antipirético, contra la disentería bacilar, las infecciones pulmonares y urinarias, las hepatitis o como un hemostático en las hemorragias nasales provocadas por la fiebre y como uso externo para tratar las heridas, la inflamación ocular, las contusiones, las llagas y forúnculos. En la medicina japonesa Kampo, el fruto se utiliza para tratar el dolor, las afecciones pulmonares y la ictericia. Estos usos tradicionales pueden ser explicados por las propiedades farmacológicas del fruto que es hemostático, antiinflamatorio, estimulante, colagogo, emético y diurético.

Las otras partes de *Gardenia jasminoides* tienen muchas virtudes. Las hojas, antipiréticas, se trituran en Malasia para confeccionar cataplasmas para tratar las migrañas, las inflamaciones pulmonares. La corteza, antipirética y tónica, se utiliza en caso de fiebre, disentería y dolores abdominales. En India, la raíz se utiliza en la dispepsia y en los desórdenes nerviosos. Las flores, emolientes, son útiles para tratar la oftalmía, la gonorrea y la vaginitis. Las semillas se usan externamente en forma de pasta para tratar la ictericia, el reumatismo y la diverticulosis.

Como complemento de estos usos medicinales, los frutos se utilizan asimismo para colorear los productos alimenticios o textiles de color amarillo a naranja debido a su alto contenido en crocinas, que son pigmentos idénticos a los del azafrán.

Los principales compuestos del fruto son:

65 ➤ iridoides, representados principalmente por la geniposida y gardenosida. Los otros iridoides presentes así como los compuestos siguientes en cantidad más pequeña: 6-O-*trans*-sinapoylgenipina gentiobiosida, 6"-O-

*trans*-p-cumaroilgenipina gentiobiosida, 6"-O-*trans*-cinnamoilgenipina gentiobiosida, 6"-O-*trans*-p-ácido cumaroilgenipósido, 6'-O-*trans*-p-cumaroilgenipósido, 10-O-succinoilgenipósido, 6'-O-acetilgeniposido, Gardenal-I, Gardenal-II, Gardenal-III, 6-β-hidroxigenipósido, 6-α-hidroxigenipósido, 6-α-metioxigeniposida, feretosida, genipin-1-β-gentiobiosida, shanzhisida, y los ácidos lamalbídico y picrocrocinico.

- 5
- carotenoides tales como el ácido crocécico, la crocetina y las crocinas, derivados glicosilados de la crocetina. Se distingue la crocina 1 (crocetina gentiobiosida), la crocina 2 (crocetina gentiobiosida glucosida) y crocina 3 (crocetina glucosida)
- 10
- flavonoides: gardenina, quercetina, quercetina-3-rutinósido, quercetina-3-O-glucopiranósido, isoquercitrina, corimbosina, umuhengerina, nicotiflorina.
- 15
- derivados cafeilquínicos (ácido 3-cafeoilquínico, ácido 4-cafeoilquínico), ácido 3,4-dicafeoilquínico, ácido 3,5-dicafeoilquínico, ácido 4,5-dicafeoilquínico, 5-O-cafeoilquinato de etilo, 5-O-cafeoil 3-O-sinapoilquinato de metilo, 5-O-cafeoil 3-O-sinapoilquinato de etilo, 5-O-cafeoil 4-O-sinapoilquinato de metilo, 5-O-cafeoil 4-O-sinapoilquinato de etilo, 3,5-di-O-cafeoil-4-O-(3-hidroxi-3-metil) glutaroilquinato de metilo, ácido 3-O-cafeoil-4-O- sinapoilquínico, 3-O-cafeoil-4-O-sinapoilquinato de metilo, 3-O-cafeoil-5-O-sinapoilquinato de metilo, ácido 3,4-di-O cafeoil-5-O-(3-hidroxi-metil) glutaroilquínico, ácido 3,5-di-O-cafeoil-4-O-(3-hidroxi-metil) glutaroilquínico.
- 20
- ácidos fenoles tales como los ácidos clorogénico, cafeico y 3,4-dihidroxibenzoico.
- 25
- lignanos: gardenianano A, siringaresinol, pinoresinol, siringaresinol-4-O-β-D-glucopiranósido, lariciresinol, alangilignosido D, lioniresinol, lioniresinol-9-O-β-D-glucopiranósido, balanofonina, ácido glicosmísico, ficusal y ceplignano.
- 30
- azúcares (manitol).

La presente invención se refiere a la utilización de una composición cosmética destinada a colorear la piel, comprendiendo dicha composición cosmética a título de principio activo un extracto acuoso de *Gardenia*.

Preferentemente, el extracto acuoso de *Gardenia* procede de la especie *Gardenia jasminoides*.

Según un modo de realización de la invención, el extracto acuoso de *Gardenia* utilizado para colorear la piel contiene una fracción de masa de crocinas comprendida entre 0,1 y 10%, preferentemente entre 1 y 5%.

La composición según la invención puede ser formulada para la administración al ser humano. Las composiciones según la invención pueden ser administradas por vía oral, sublingual, subcutánea, intramuscular, intravenosa, transdérmica, tópica o también intranasal. Ventajosamente, la composición según la presente invención está destinada a una administración por vía tópica. Más ventajosamente, la composición según la presente invención está destinada a una administración por vía oral.

En este último caso, el extracto acuoso de *Gardenia* se puede ser administrado en formas unitarias de administración, en mezcla con unos soporte farmacéuticos convencionales, a los seres humanos. Las formas unitarias de administración apropiadas comprenden las formas orales tales como los comprimidos, las cápsulas, los polvos, los gránulos, y las soluciones o suspensiones orales, las formas de administración sublingual y bucal, las formas de administración subcutánea o transdérmica, tópica, intramuscular, intravenosa o intranasal.

Cuando se prepara una composición sólida en forma de comprimidos, se mezcla el ingrediente activo principal con un vehículo farmacéutico tal como la gelatina, el almidón, la lactosa, el estearato de magnesio, el talco, la goma arábiga, la sílice o análogos. Se pueden recubrir los comprimidos con sacarosa o con otros materiales apropiados o se les puede tratar de modo que tengan una actividad prolongada o retardada y que liberen continuamente una cantidad predeterminada de principio activo.

Se obtiene una preparación en cápsulas mezclando el ingrediente activo con un diluyente y vertiendo la mezcla obtenida en unas cápsulas blandas o duras.

Una preparación en forma de jarabe o de elixir puede contener el ingrediente activo junto con un edulcorante, un antiséptico, así como un agente saborizante y un colorante apropiado.

En una forma de realización particular de la invención, la composición comprende, por dosis unitaria, de 10 mg a 1 g de extracto de *Gardenia*, preferentemente de 20 mg a 500 mg, ventajosamente de 50 mg a 250 mg y más preferentemente de 100 mg a 200 mg.

En una forma de realización particular de la invención, la composición comprende, por dosis unitaria, de 0,2 mg a 20 mg de crocinas, preferentemente de 1 mg a 5 mg y más preferentemente de 2 mg a 4 mg.

De acuerdo con una forma de realización de la invención, el extracto de Gardenia contiene una fracción en masa de crocinas comprendida entre 0,1 y 10%, preferentemente entre 0,5 y 8%, de manera preferida entre 1 y 5%, incluso más preferentemente entre 1 y 3%.

5

De acuerdo con una forma de realización de la invención, el extracto de Gardenia contiene una fracción en masa de crocetina comprendida entre 0,01 y 5%, preferentemente entre 0,03 y 3%, incluso más preferentemente entre 0,1 y 1%.

Según un modo de realización particularmente interesante de la invención, la composición cosmética comprende además pimentón y/u otra fuente de carotenoides procedentes de plantas, de microorganismos o de microalgas, preferentemente un extracto de pimentón (*Capsicum annuum*), de *Haematococcus pluvialis* rico en astaxantina, de caléndula africana (*Tagetes erecta*) rica en luteína y zeaxantina, de tomate, fuente de licopeno, *Dunaliella salina*, *Xanthophyllomyces dendrorhous* y *Blakeslea trispora*, fuentes de carotenos.

15

La presente invención se refiere asimismo a un método de tratamiento cosmético destinado a colorear la piel, que consiste en la administración de una composición cosmética que comprende un extracto acuoso de Gardenia según la invención.

Finalmente, la presente invención se refiere a un procedimiento de extracción de los frutos de Gardenia.

Los frutos de Gardenia son extraídos por un disolvente constituido por agua o por una mezcla de agua y de un disolvente orgánico, un alcohol tal como el etanol o un éster tal como la acetona. La extracción se puede realizar en frutos enteros o en frutos toscamente molidos previamente. La adición de enzimas, tales como pectinasas, permite mejorar la extracción y/o su filtración fluidificando los jugos de extracción. La extracción se puede realizar mediante un método convencional conocido por el experto en la materia, en reactor, por ultrasonidos o también por microondas a una temperatura de 20°C a 100°C, según la presencia o no de enzimas. La extracción se puede llevar a cabo a presión atmosférica o a presión con agua subcrítica.

25

Después de la separación sólido-líquido, el filtrado se concentra en agua, se esteriliza y luego se seca tal como está o en un soporte de secado, como la maltodextrina o la sílice. El secado se realiza a unas temperaturas inferiores a 80°C con el fin de evitar la degradación de las crocina, moléculas inestables a unas temperaturas más altas. Se puede llevar a cabo mediante unas técnicas conocidas por el experto en la materia, por ejemplo, por microondas o atomización.

30

Los siguientes ejemplos ilustran la invención sin limitar su alcance.

35

#### **Ejemplo 1: Procedimiento de extracción**

Los frutos enteros de Gardenia se extraen a 90°C con agua durante 2 horas. Después de la separación sólido/líquido, se agregan pectinasas. El filtrado se concentra en agua c.s.p. 40% de extracto seco, se esteriliza y se seca con microondas.

40

El extracto acuoso seco obtenido es un polvo de color rojo. El rendimiento es de aproximadamente el 25%. Los contenidos de crocinas están comprendidos entre 0,1 y 10%, el contenido medio de crocinas es del orden del 2%.

45

#### **Ejemplo 2: efectos farmacológicos en un modelo de explante de piel humana**

Debido a la falta de modelo farmacológico celular y animal, los inventores desarrollaron un modelo *ex vivo* con el fin de superar las dificultades relacionadas con la absorción de los activos. En efecto, no hay absorción de la crocina sin hidrólisis intestinal previamente y una baja asimilación de la crocetina y de estos derivados después del paso.

50

#### **Protocolo**

El objetivo de este estudio era evaluar el efecto colorante de diferentes extractos aplicados a unos explantes de piel humana en supervivencia en 72 horas. El mantenimiento en supervivencia se lleva a cabo en unas placas de cultivo de 6 pocillos que contienen medio de cultivo. Estas placas de cultivo se colocan en una incubadora a 37°C con 5% de CO<sub>2</sub>. Los estudios se realizaron en cuatro donantes.

55

La coloración de cada medio que contiene unos activos o control se evalúa gracias al Dermoscope C-Cube Edition Clinique de la compañía PIXIENCE SAS. Se trata de la coloración máxima que se puede obtener, es decir, el nivel del 100% de la escala de cartografía de coloración relativa a cada activo. La coloración de cada explante se mide con la ayuda del Dermoscope C-Cube Edition Clinique. Previamente, el explante se coloca en una solución de medio sin activo para aclarar el explante de las moléculas de activo presentes en la superficie del explante y que no habrían penetrado en la piel.

60

65

Muestras probadas:

- 5
- Control: medio de cultivo
  - oleoresina de pimentón (10% de carotenoides)
  - extracto acuoso de Gardenia (4% de crocinas)
  - extracto acuoso de Gardenia hidrolizado por vía química (2,7% de crocetina)
  - Crocinas (100%)
  - Crocetina (87%), obtenida por hidrólisis química de las crocinas.
- 10

El medio de cultivo seleccionado es un medio DMEM (Dulbecco's Eagle Modified Medium), suplementado con glutamina, antifúngicos y antibióticos, descrito en el estudio de Jacques *et al.* 2010 (Toxicol. In Vitro 24(5), 1426-34).

15 Las fotografías de los explantes cutáneos así como las diferencias colorimétricas, ilustradas en la única figura única adjunta, han permitido demostrar el gran poder colorante de Crocetina, de Gardenia y de Gardenia hidrolizada.

En estas condiciones, el poder colorante del pimentón y de las crocinas es inferior al de crocetina, Gardenia y Gardenia hidrolizada.

20 Estos estudios permiten aportar la prueba de concepto de la coloración de los explantes relacionada con el extracto de Gardenia, pero también con el extracto de Gardenia hidrolizado y de crocetina. Estos resultados se obtuvieron en cuatro donantes, en diferentes momentos y con diferentes experimentadores, que permiten validar la reproducibilidad de estos resultados.

25 **Ejemplo 3: biodisponibilidad de las crocinas**

Pocos estudios se han llevado a cabo con el fin de estudiar las propiedades farmacocinéticas de las crocinas. El estudio del Ejemplo 2 ha permitido demostrar de hecho el poder colorante de las crocinas, pero este resultado se obtiene en unos explantes de piel humana. Sin embargo, el estudio llevado a cabo por Xi *et al.* en 2007 (Xi *et al.*, Phytomedicine 14; 633-636, 2007) permite demostrar sin embargo que las crocinas tienen una biodisponibilidad de por lo menos un 20% en la rata, lo cual deja presagiar unos resultados incluso mejores en el ser humano.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Utilización de una composición cosmética destinada a colorear la piel, comprendiendo dicha composición cosmética a título de principio activo un extracto acuoso de *Gardenia*.
2. Utilización según la reivindicación 1, caracterizada por que dicho extracto procede de la especie *Gardenia jasminoides*.
- 10 3. Utilización según una de las reivindicaciones 1 o 2, caracterizada por que dicho extracto contiene una fracción másica de crocinas comprendida entre 0,1 y 10%, preferentemente entre 1 y 5%.
4. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada por que dicha composición se administra por vía oral.
- 15 5. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizada por que dicha composición comprende además pimentón y/o  $\beta$ -caroteno.
- 20 6. Utilización según una de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizada por que el extracto acuoso de *Gardenia* se obtiene mediante:
- una extracción a partir de los frutos enteros en presencia de pectinasas,
  - una separación sólido-líquido,
  - una esterilización del filtrado, y
  - un secado a unas temperaturas inferiores a 80°C.
- 25 7. Procedimiento de tratamiento cosmético destinado a colorear la piel que consiste en la administración de una composición cosmética según las reivindicaciones 1 a 6.

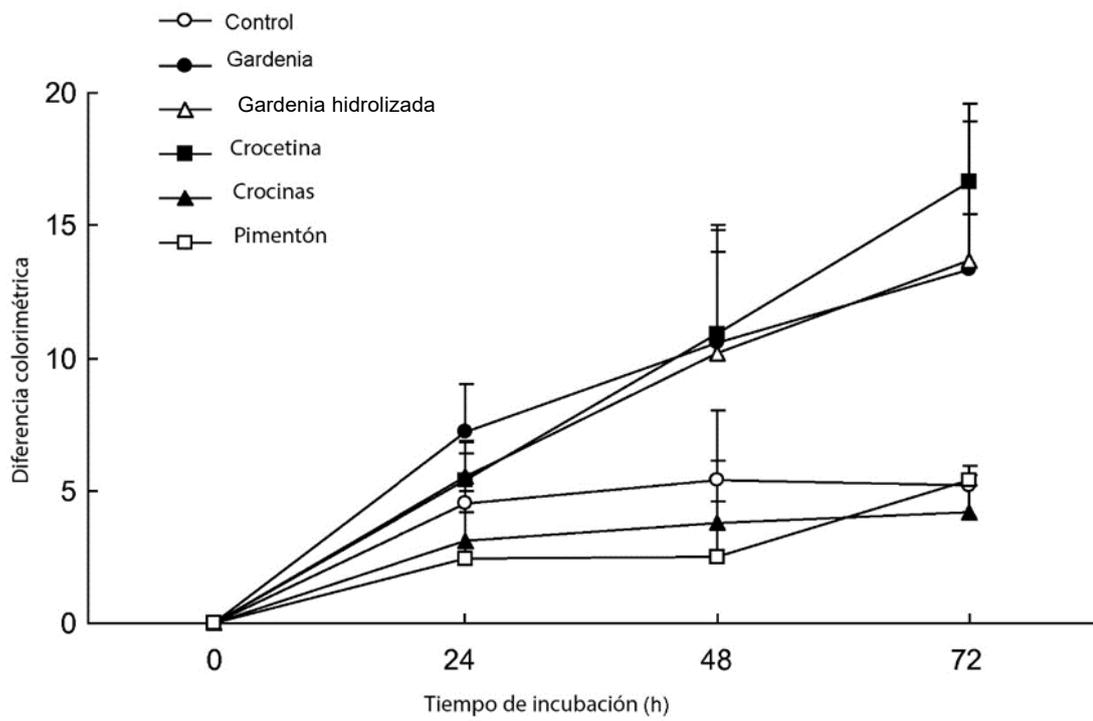


Figura 1