

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 775 019**

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: **08.12.2015 PCT/IB2015/059443**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.06.2016 WO16092469**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.12.2015 E 15820274 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.01.2020 EP 3229923**

54 Título: **Uso cosmético de un extracto de Eschscholtzia californica**

30 Prioridad:

09.12.2014 FR 1402796

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

23.07.2020

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**COURTIN, OLIVIER y
WEBER, SANDRINE**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 775 019 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

Uso cosmético de un extracto de *Eschscholtzia californica*

5 La presente invención se refiere al uso cosmético de un extracto de *Eschscholtzia californica* o de una composición cosmética que comprende dicho extracto, en particular para retrasar o combatir el envejecimiento de la piel y/o la aparición de signos de envejecimiento de la piel. La presente invención se refiere también al uso de este extracto o de esta composición como agente antioxidante; así como para inducir la síntesis de colágeno.

10 La piel es un órgano particular del cuerpo humano. Tiene un espesor fino y está muy extendida puesto que cubre toda la superficie del cuerpo y totaliza en adultos una superficie de aproximadamente 1,6 m². Su función es proteger los tejidos profundos del medio exterior, tanto en términos de penetración física de cuerpos extraños, como de inmunidad, de regulación de la temperatura y de pérdida de fluidos. Finalmente, las tensiones mecánicas a las que está sometida permanentemente le imponen, más que a cualquier otro órgano, una estructura sólida y coherente asociada a una gran flexibilidad. A pesar de algunas diferencias de aspecto dependiendo del sitio anatómico, presenta siempre la misma estructura morfológica básica. Está constituida en su superficie por la epidermis, en profundidad por la dermis y por la unión dermoepidérmica que las separa y las conecta.

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

20 Más allá de su función física de sostener la epidermis, la dermis asegura otras funciones esenciales. Su vascularización importante le permite realizar intercambios nutritivos con la epidermis. También le permite ser rica en células inmunitarias del tipo macrófagos y células dendríticas, actores esenciales en la defensa inmunitaria de la piel. Además, es un tejido innervado que tiene receptores sensibles responsables del sentido del tacto. Finalmente, interviene en los fenómenos de cicatrización y regulación de la proliferación y la diferenciación de queratinocitos mediante la síntesis de citoquinas y factores de crecimiento solubles destinados a la epidermis.

30 El colágeno confiere a la piel su resistencia a las tensiones y a la tracción. La elastina permite que la piel se estire y vuelva a su lugar después de la deformación. Le confiere su elasticidad al revestimiento cutáneo. La matriz extracelular contiene también proteoglicanos y glicosaminoglicanos, que forman una sustancia fundamental muy hidratada, en la que están incrustadas las proteínas fibrosas. Finalmente, las glicoproteínas estructurales aseguran la interfaz entre la matriz y las células uniendo las integrinas membranales.

35 La matriz extracelular de la piel es la materia intersticial que rodea las estructuras cutáneas y sostiene la epidermis. Dentro de la red de proteínas fibrosas, el colágeno es el principal componente 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, alrededor de un eje compuesto de colágeno V. Estos colágenos pertenecen al grupo de los colágenos fibrilares. En adultos, el colágeno I es, por término medio, seis veces más abundante que el colágeno III.

40 Las fibrillas de colágeno I tienen una enorme resistencia a la tracción, por lo que pueden ser estiradas sin romperse. Estas fibrillas están dispuestas una al lado de otra en filas paralelas, llamadas fibras de colágeno. El colágeno III consta de tres cadenas alfa 1 (III) y es predominante en la piel fetal y en las estructuras extensibles. La proporción de colágeno I aumenta cuando se acerca a la hipodermis. La matriz extracelular contiene igualmente fibronectina, laminina, elastina, así como la sustancia fundamental proteoglicanos.

45 A pesar de la gran estabilidad de sus constituyentes, la matriz extracelular es una estructura dinámica producida en su mayor parte localmente 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 para sintetizar y degradar el colágeno y otras macromoléculas de la matriz extracelular, o incluso para organizar u orientar las fibras es crítica en la homeostasis del tejido cutáneo.

Durante el envejecimiento, ciertas anomalías en la comunicación entre las células y la matriz circundante pueden conducir a una gran cantidad de modificaciones cualitativas y cuantitativas de la estructura de la matriz extracelular. Por ejemplo, la relación entre colágeno I y colágeno III disminuye durante el envejecimiento.

50 Un radical libre es una especie química, átomo o molécula, que contiene un electrón no apareado. Extremadamente inestable, esta especie puede reaccionar con las moléculas más estables para aparear su electrón. Puede arrancar un electrón (comportándose como un oxidante), o ceder uno (actuando entonces como un reductor). Esta primera reacción conduce generalmente a la formación en cadena de nuevos radicales; esto explica por qué la producción de un primer radical libre puede causar lesiones importantes en una célula.

55 El O₂ es una molécula bi-radical formada por dos átomos que tienen en su orbital externo dos electrones no apareados. Por lo tanto, es susceptible de capturar fácilmente uno y luego dos electrones para ser parcialmente

reducido a O_2^{*-} y luego a H_2O_2 . Por lo tanto, está en el origen de la formación de especies reactivas oxigenadas (denominadas en inglés *Reactive Oxygen Species*: abreviadamente ROS).

5 La denominación ROS incluye los radicales libres de oxígeno: el anión superóxido (O_2^{*-}), el radical hidroxilo (OH^*) pero también ciertos derivados de oxígeno no radicales cuya toxicidad es importante, tal como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2).

Los daños inducidos por las ROS son una peroxidación de los lípidos, una oxidación de las proteínas y mutaciones del ADN. Estas alteraciones pueden conducir a pérdidas de la función y de la integridad, o incluso a la muerte celular, en particular por medio de la apoptosis (muerte celular programada). Las ROS inician igualmente la apoptosis activando la apertura de los poros de transición de permeabilidad (mitocondrias).

10 Al ser el estrés oxidante principalmente de origen mitocondrial, estos orgánulos son las primeras dianas de las ROS.

Por lo tanto, las funciones de la mitocondria están particularmente expuestas al daño oxidante, causando principalmente una disminución de la síntesis de ATP, pero implicando también a la célula en un programa de muerte celular por apoptosis con la inducción del poro de transición de permeabilidad.

15 Durante el envejecimiento del organismo en general y de la piel en particular, se ha puesto de manifiesto una sobreproducción de especies reactivas oxigenadas, así como una disminución de los mecanismos protectores antioxidantes. Estos fenómenos provocan entonces un desequilibrio, la producción de radicales libres que exceden las capacidades de las defensas antioxidantes. El aumento de la cantidad de radicales libres presentes a nivel cutáneo causa daños en varios niveles. Son afectados las proteínas, las membranas celulares y el ADN. Los estudios han demostrado un aumento en la lipoperoxidación con la edad, que afecta a la integridad de las
20 membranas celulares, ya que éstas son ricas en lípidos. Estas alteraciones modifican las funciones de las células cutáneas; por ejemplo, los fibroblastos de las pieles envejecidas son más vulnerables a la acumulación de proteínas oxidadas resultantes del estrés oxidante y pierden gradualmente sus funciones de síntesis de los constituyentes de la matriz extracelular dérmica.

25 La firma solicitante ha puesto de manifiesto sorprendentemente que un extracto de *Eschscholtzia californica* o que una composición que comprende dicho extracto protege del envejecimiento cutáneo favoreciendo la síntesis de colágeno, es decir, induciendo su expresión, dando como resultado un mayor contenido de esta proteína, y protegiendo las células cutáneas del estrés oxidante. Por lo tanto, es posible utilizar un extracto de *Eschscholtzia californica* como agente activo antienvjecimiento cutáneo, como agente activo que induce la expresión de colágeno y/o como agente antioxidante.

30 *Eschscholtzia californica*, también llamada amapola de California o escholtzia, es una planta herbácea anual de la familia de las papaveráceas, de 30 a 40 cm de altura. Las flores amarillas anaranjadas de 3 a 5 cm de diámetro tienen una corola con 4 pétalos. El fruto es una cápsula larga rica en multitud de semillas.

Esta planta se usa tradicionalmente para reducir el insomnio y regular el sueño, tratar la ansiedad o incluso para calmar la agitación de los niños.

35 Se sabe que contiene isoflavonas (Dweck A.C. «*Isoflavones, Phytohormones and Phytosterols*», Journal of Applied Cosmetology, International Ediemme, Roma, IT, vol. 24, nº 1, 1 de enero de 2006, páginas 17-32). Aunque Dweck describe que ciertas isoflavonas, por su actividad estrogénica, pueden tener un efecto antienvjecimiento sobre la piel, Dweck enfatiza que las isoflavonas que llevan un grupo metoxi, como las presentes en *Eschscholtzia californica*, no son capaces de unirse eficazmente a los receptores de estrógenos y, en consecuencia, de inducir un
40 efecto estrogénico. Las actividades de esta planta observadas por la firma solicitante son, por lo tanto, completamente inesperadas.

El uso cosmético según la presente invención emplea preferiblemente un extracto de *Eschscholtzia californica* o una composición cosmética que comprende dicho extracto.

45 El extracto es preferiblemente un extracto de las partes aéreas de *Eschscholtzia californica* y, en particular, un extracto de las partes aéreas floridas. Ventajosamente, este extracto es un extracto de hidroalcohólico glicerinado. Preferiblemente, se trata de un extracto hidroalcohólico glicerinado obtenido según un procedimiento que comprende al menos las etapas siguientes:

- secado de las partes aéreas floridas;
- extracción-maceración en frío con alcohol (15 a 20%), glicerina (14 a 16%) y agua (c.s.p 100), a temperatura
50 ambiente durante 10 días con agitación manual diaria a una temperatura de aproximadamente 19°C;
- prensado;
- decantación y luego filtración.

El extracto de *Eschscholtzia californica* usado según la invención es un líquido pardo a rojo con un olor aromático. Tiene las siguientes características analíticas:

densidad relativa: 1 - 1,035

5 índice de refracción: 1,355 -1,375

residuo seco: mínimo 12,00

Se puede obtener un extracto de *Eschscholtzia californica* según la invención del proveedor de materias primas Fytosan bajo el nombre de «*extrait hydroalcoolique glyceriné Bio*».

10 Preferiblemente, la composición cosmética según la invención comprende de 0,01 a 10% de extracto de *Eschscholtzia californica* en peso de materia seca en relación con el peso total de la composición. Ventajosamente, la composición comprende de 0,01 a 5% de extracto de *Eschscholtzia californica* en peso de materia seca en relación con el peso total de la composición.

15 Las composiciones según la invención pueden comprender también uno o varios agentes de formulación o aditivos de uso conocido y convencionales en composiciones cosméticas y dermatológicas, tales como, por ejemplo y sin limitación, suavizantes, colorantes, ingredientes activos formadores de película, tensioactivos, perfumes, conservantes, emulsionantes, aceites, glicoles, vitaminas como la vitamina E, filtros UV, etc. Gracias a sus conocimientos en cosméticos, la persona experta sabrá qué agentes de formulación añadir a las composiciones de la invención y en qué cantidades en función de las propiedades deseadas.

20 Las composiciones según la invención pueden presentarse en cualquier forma conocida por los expertos en la técnica en el campo de la cosmetología y dermatología sin más restricción galénica que la aplicación a la cara y al cuerpo. Ventajosamente, las composiciones según la invención están en forma de un gel, una crema, una loción, un aceite, una leche, una pulverización, etc.

25 La firma solicitante ha demostrado que el extracto de *Eschscholtzia californica* usado según la invención, así como la composición cosmética que lo comprende pueden usarse por aplicación en la piel para favorecer la síntesis de colágeno, por ejemplo, por inducción de su expresión; o incluso como agente antioxidante para proteger las células cutáneas del estrés oxidante.

30 En consecuencia, el extracto de *Eschscholtzia californica* o la composición cosmética que lo comprende según la invención se pueden usar para prevenir, retrasar, combatir, tratar o reducir el envejecimiento de la piel y/o la aparición de signos de envejecimiento de la piel.

Por signos de envejecimiento de la piel se entiende: arrugas, patas de gallo, flacidez cutánea, pérdida de elasticidad de las fibras cutáneas, piel marchita, piel adelgazada y piel pálida y/o sin brillo.

35 Gracias a su acción sobre la inducción de la síntesis de colágeno en la piel y sus propiedades antioxidantes, según una variante preferida de la invención, el extracto de *Eschscholtzia californica* se puede usar para reparar las manifestaciones cutáneas del envejecimiento; en particular, para atenuar las arrugas y patas de gallo, o incluso para redensificar una piel marchita o adelgazada.

El extracto de *Eschscholtzia californica* usado según la invención y la composición cosmética que lo comprende pueden usarse igualmente para redensificar y/o reafirmar y/o tonificar la piel.

40 El extracto de *Eschscholtzia californica* según la invención y la composición cosmética que lo comprende se usan por aplicación sobre la piel; se puede tratar indistintamente de la piel de la cara o del cuerpo.

Cuando se trata de la piel de la cara, es preferiblemente la piel del rostro, el cuello, el escote y/o el contorno de los ojos.

45 Según una variante particular, el extracto de *Eschscholtzia californica* según la invención y la composición cosmética que lo comprende se aplican a la piel del cuerpo para reafirmarla y/o tonificarla, por ejemplo en el contexto de un adelgazamiento.

Los ejemplos siguientes se refieren, por una parte, a la evaluación del efecto de un extracto de *Eschscholtzia californica* sobre la síntesis de colágeno I y sobre su efecto antioxidante, y por otra parte a las composiciones que son objeto de la presente invención.

Los ejemplos se refieren a las siguientes figuras en las que:

- la figura 1 representa la inmunofluorescencia del colágeno I (TRITC) para el testigo (foto A), el testigo positivo la vitamina C (foto B) y para una concentración de extracto de *Eschscholtzia californica* al 0,05% (foto C), (Observaciones por microscopía óptica de fluorescencia con 200 aumentos).
- las figuras 2A y 2B representan la expresión de colágeno I expresada en unidades de fluorescencia por núcleo por fibroblastos en presencia o no de vitamina C y de un extracto de *Eschscholtzia californica* al 0,05%.
- la figura 3 representa la tasa de producción de ROS por minuto y por célula inducida por H₂O₂ a 100 µM por fibroblastos humanos en presencia o no de Trolox y de extracto de *Eschscholtzia californica* a diferentes concentraciones.

10 I. Evaluación de la actividad de un extracto de *Eschscholtzia californica* en la secreción del colágeno de tipo I

A. Material y método

Se siembran fibroblastos en placas de 6 pocillos con laminillas de vidrio a razón de 70.000 células por caja en medio MEM (medio esencial mínimo). 48 horas después, las células se tratan o no (testigo) con el extracto de *Eschscholtzia californica* al 0,05%, 0,1% y 0,25% o por un control positivo (vitamina C) y se incuban en estufa durante 72 horas a 37°C, 5% de CO₂.

Luego se lava cada tapiz celular, se fija con metanol (-20°C) antes de proceder al revelado del colágeno de tipo I.

Las células se incuban con el primer anticuerpo dirigido contra la proteína de interés, luego con el anticuerpo secundario dirigido contra el primer anticuerpo acoplado al fluorocromo TRITC (isotiocianato de tetrametil-rodamina, derivado de la rodamina). El tiempo de incubación entre cada anticuerpo es 1 hora. Los núcleos celulares se revelan por un marcaje con Dapi (Diaminido-fenil-indol).

Las laminillas se montan en un portaobjetos de vidrio y luego se observan en un microscopio de fluorescencia (Nikon Eclipse 50i). Se fotografían varios campos de la población celular. Las imágenes de fluorescencia TRITC (en rojo) indican las regiones de localización de la proteína de interés. Los clichés fotográficos se analizan por el programa informático de análisis de imágenes NIS Elements (Nikon).

B. Resultados

Este estudio demuestra que el extracto de *Eschscholtzia californica* al 0,05% induce significativamente la síntesis de colágeno de tipo I por los fibroblastos, lo que conduce a un aumento del contenido de colágeno en los pocillos tratados con el extracto de *Eschscholtzia californica*. El extracto de *Eschscholtzia californica* estimula la síntesis matricial de la dermis por los fibroblastos. Estas propiedades confieren a este extracto un papel antienvjecimiento.

II. Evaluación de la actividad de un extracto de *Eschscholtzia californica* como antioxidante

La metodología consiste en la cuantificación de la actividad antioxidante del extracto de *Eschscholtzia californica* hacia las ROS utilizando un marcador fluorescente.

A. Material y método

Las células se incuban previamente con la sonda fluorescente a 37°C durante 30 minutos. Después de lavado, las células se incuban conjuntamente con el compuesto de referencia antioxidante, Trolox 10 µM o el extracto de *Eschscholtzia californica* a concentraciones determinadas no citotóxicas en presencia del compuesto de referencia prooxidante, H₂O₂ a 100 µM. La producción de ROS celulares se registra inmediatamente durante 60 minutos. La fluorescencia se registra cada cinco minutos usando un lector de microplacas (Varioskan-Thermo). Las células se mantienen a 37°C durante la cinética. Todos los compuestos se analizan por cuadruplicado. Sus efectos se comparan simultáneamente con los testigos negativo (H₂O₂) y positivo (Trolox).

B. Resultados

Este estudio demuestra que el extracto de *Eschscholtzia californica* a las dosis analizadas (0,05%, 0,1% y 0,25%) reduce de modo muy marcado, casi por completo en algunos casos, la producción de ROS celulares inducidas por H₂O₂.

III. Ejemplos de formulación

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

Crema de día, factor de protección solar 15

ES 2 775 019 T3

%

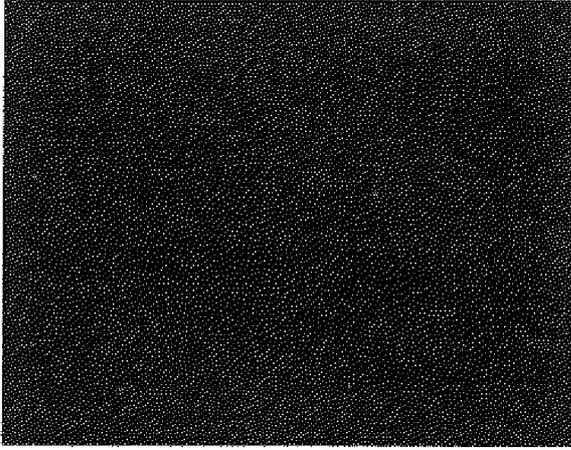
	Goma de xantano.....	0,20
	Glicerina.....	5,00
	Caprilil-glicol.....	0,30
5	Copolímero de acrilato de hidroxietilo/acriloldimetil-taurato de sodio.....	0,75
	Cetil-fosfato de potasio.....	0,70
	Alcohol cetearílico/glucósido de cetearilo	1,50
	Acetato de tocoferilo.....	0,20
	Benzoato de alquilo de C ₁₂₋₁₅	4,00
10	Salicilato de butiloctilo.....	5,00
	Homosalato.....	5,00
	Butil-metoxidibenzoilmetano.....	3,00
	Octocrileno.....	2,70
	Extracto de <i>Eschscholtzia californica</i>	0,50
15	Tocoferol.....	0,05
	Conservantes.....	c.s.
	Perfume.....	c.s.
	Agua desmineralizada.....	c.s.p. 100

Crema de noche

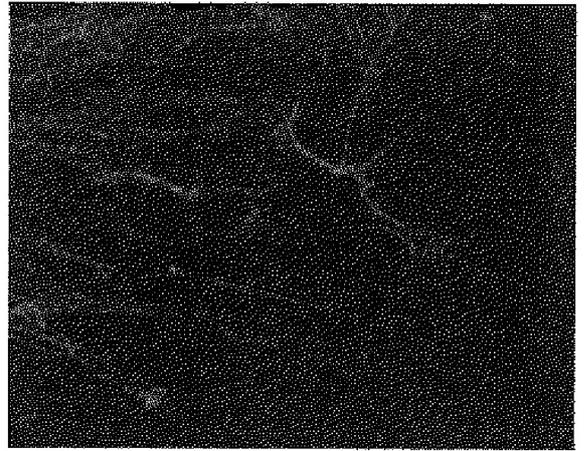
20		%
	Estearato de glicerilo/estearato de peg-100.....	2,50
	Isononanoato de isononilo.....	4,50
	Manteca de karité.....	2,00
	Isononanoato de cetearilo.....	8,00
25	Alcohol cetearílico/glucósido de cetearilo.....	3,50
	Dimeticona.....	3,00
	Carbómero.....	0,25
	Celulosa.....	0,50
	Extracto de <i>Eschscholtzia californica</i>	1,00
30	Glicoles.....	6,20
	Acetato de tocoferilo.....	0,20
	Conservantes.....	0,60
	Quelante.....	0,10
	Trometamina.....	c.s. pH
35	Perfume.....	c.s.
	Agua desmineralizada.....	c.s.p 100

REIVINDICACIONES

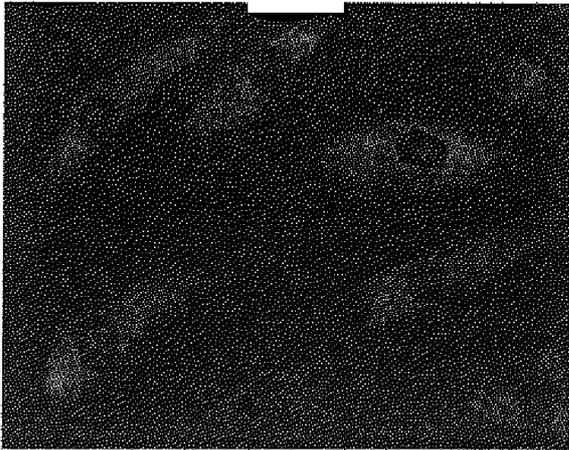
1. Uso cosmético de un extracto de *Eschscholtzia californica* para inducir la síntesis de colágeno.
- 5 2. Uso cosmético, no terapéutico, de un extracto de *Eschscholtzia californica* como agente antioxidante para proteger las células cutáneas del estrés oxidante.
3. Uso cosmético de un extracto de *Eschscholtzia californica* para retrasar, combatir, tratar o reducir el envejecimiento de la piel y/o la aparición de signos de envejecimiento de la piel.
- 10 4. Uso según la reivindicación 3, en el que los signos de envejecimiento de la piel se seleccionan entre arrugas, patas de gallo, flacidez cutánea, pérdida de elasticidad de las fibras cutáneas, piel marchita, piel adelgazada, y piel pálida y/o sin brillo.
5. Uso cosmético de un extracto de *Eschscholtzia californica* para reparar las manifestaciones cutáneas del envejecimiento y/o atenuar las arrugas y las patas de gallo y/o redensificar una piel marchita o adelgazada y/o redensificar y/o reafirmar y/o tonificar la piel de la cara y/o del cuerpo.
- 15 6. Uso no terapéutico de una composición cosmética para inducir la síntesis de colágeno y/o proteger las células cutáneas del estrés oxidante, caracterizado por que dicha composición comprende un extracto de *Eschscholtzia californica*.
7. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el extracto de *Eschscholtzia californica* es un extracto de las partes aéreas floridas.
- 20 8. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el extracto de *Eschscholtzia californica* es un extracto hidroalcohólico glicerinado.
9. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que dicho extracto se formula 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.
- 25 10. Uso de según la reivindicación 9, en el que dicha composición cosmética comprende además uno o varios agentes de formulación o aditivos tales como suavizantes, colorantes, agentes formadores de película, tensioactivos, perfumes, conservantes, emulsionantes, aceites, glicoles, filtros UV y vitaminas.



A



B



C

FIGURA 1

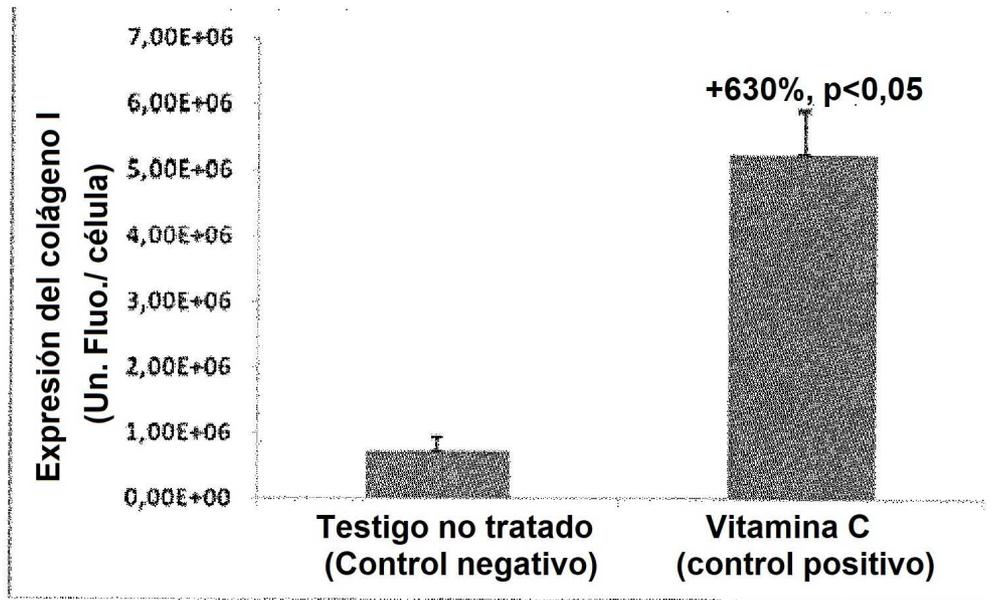


FIGURA 2A

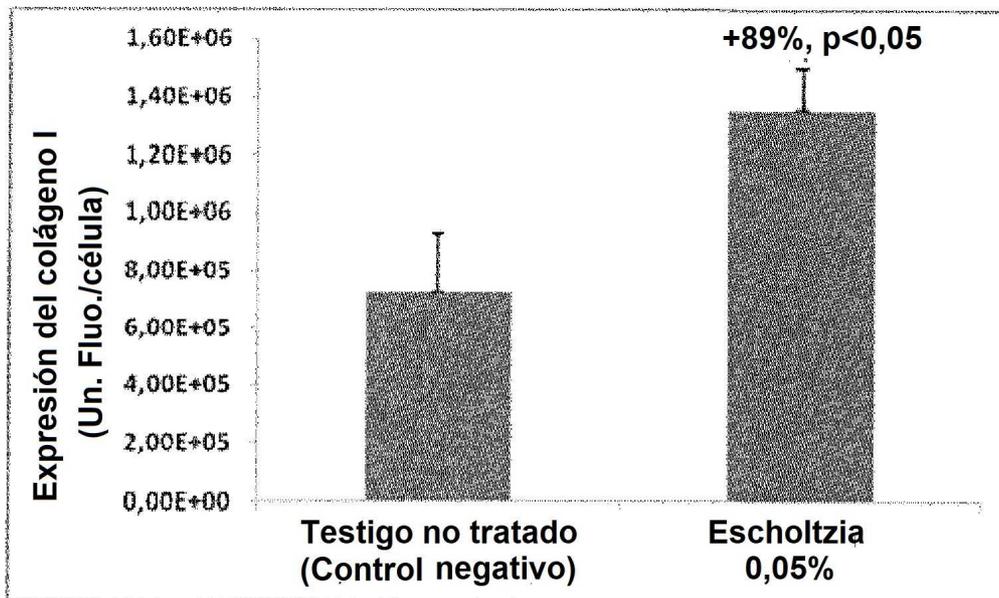


FIGURA 2B

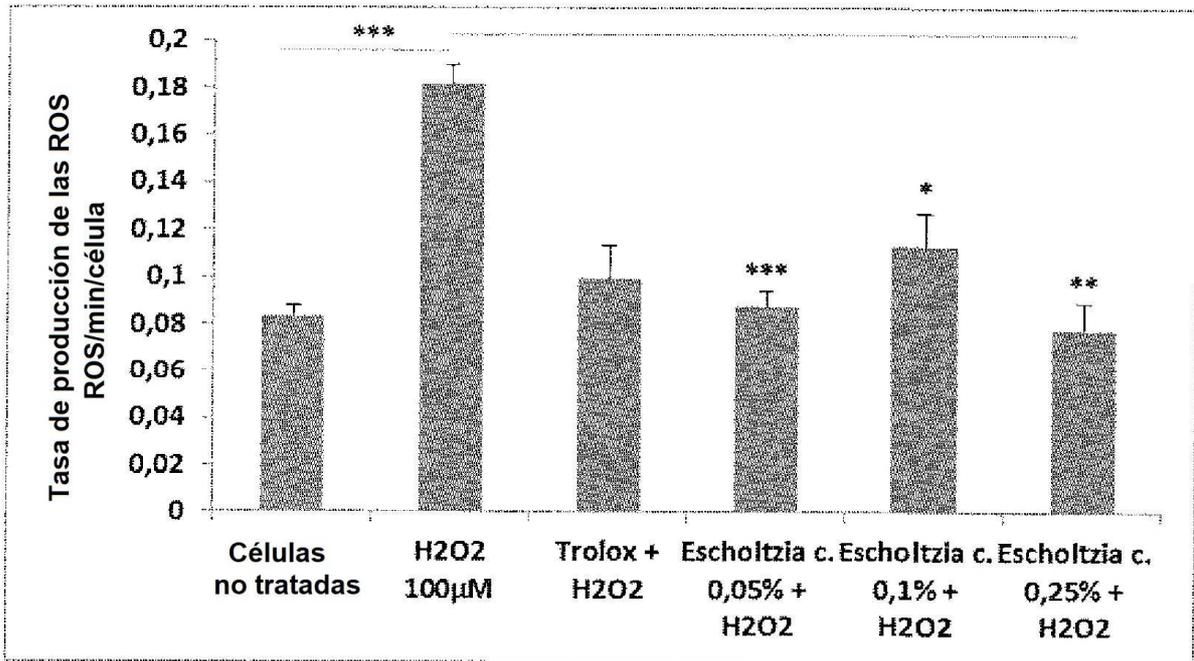


FIGURA 3