

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la  
Propriété Intellectuelle  
Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
16 mars 2017 (16.03.2017)

WIPO | PCT

(10) Numéro de publication internationale  
**WO 2017/042257 A1**

(51) Classification internationale des brevets :  
A61Q 19/04 (2006.01) A61K 8/97 (2017.01)

(21) Numéro de la demande internationale :  
PCT/EP2016/071157

(22) Date de dépôt international :  
8 septembre 2016 (08.09.2016)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :  
1558358 9 septembre 2015 (09.09.2015) FR

(71) Déposant : PIERRE FABRE MEDICAMENT [FR/FR];  
45, place Abel Gance, 92100 Boulogne-billancourt (FR).

(72) Inventeurs : DUPLAN, Hélène; Villa Les Cactées 51 chemin de Mervilla, 31320 Auzeville Tolosan (FR). FIORI-NI-PUYBARET, Christel; 6 rue Charles Nodier, 31500 Toulouse (FR). JACQUES-JAMIN, Carine; 9 bis rue des Bruyères, 31170 Tournefeuille (FR). JOULIA, Philippe; 56 Route de Maurémont, 31290 Villenouvelle (FR). SU-BRA, Laurent; 48 Place Charles Gayral, 81630 Montgaillard (FR).

(74) Mandataire : REGIMBEAU; 20, rue de Chazelles, 75847 Paris Cedex 17 (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Déclarations en vertu de la règle 4.17 :

— relative à la qualité d'inventeur (règle 4.17.iv))

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))

(54) Title : GARDENIA EXTRACT FOR COLOURING THE SKIN

(54) Titre : EXTRAIT DE GARDENIA DANS LA COLORATION DE LA PEAU

(57) Abstract : The present invention relates to the use of a cosmetic composition intended for colouring the skin, said cosmetic composition including, as an active principle, an aqueous extract of gardenia.

(57) Abrégé : La présente invention a pour objet l'utilisation d'une composition cosmétique destinée à colorer la peau, ladite composition cosmétique comprenant à titre de principe actif un extrait aqueux de Gardénia.



WO 2017/042257 A1

## Extrait de Gardénia dans la coloration de la peau

La présente invention concerne l'utilisation d'un extrait de Gardénia destinée à colorer la peau.

5        La couleur de la peau humaine, encore appelée teint, présente une gradation continue du blanc au marron foncé presque noir, avec parfois des tons rosés ou cuivrés. La couleur de la peau est une caractéristique individuelle frappante, souvent considérée comme un marqueur ethnique ou socioéconomique. La

10        quantité et la nature des pigments contenues dans la peau, ainsi que leur répartition, sont les principaux critères déterminant sa couleur. La génétique joue un rôle capital dans la détermination du teint, mais aussi l'exposition au soleil, la plupart des humains bronzant sous l'effet des radiations ultraviolettes.

15        L'absorption de certains médicaments ainsi que des pathologies peuvent provoquer des hyperpigmentations ou des dépigmentations. Trois pigments sont responsables de la couleur de la peau grâce à leur répartition en surface. Le carotène est un pigment dont la couleur varie du jaune à l'orange. Il s'accumule dans la couche

20        cornée et les cellules adipeuses de l'hypoderme et favorise la synthèse de mélanine. Il est présent dans certains végétaux comme la carotte. Le second pigment est l'hémoglobine, lorsque la peau est bien oxygénée, elle donne sa couleur rosée à la peau claire. Une insuffisance d'oxygénation lui donne une couleur bleutée. La

25        mélanine est le pigment le plus important pour la coloration de la peau. Le taux de mélanine détermine sa couleur et assure une plus ou moins grande protection vis-à-vis des rayons ultraviolets. L'épiderme, les cheveux et les poils sont colorés par la mélanine qui se trouve dans la couche la plus profonde de

30        l'épiderme, la couche basale, et est produite par des cellules de grandes tailles, les mélanocytes. La mélanine est synthétisée dans les mélanosomes à partir d'un acide aminé, la tyrosine. La tyrosinase est une enzyme clé dans la synthèse de la mélanine. C'est le taux de mélanosomes et leur taille qui fait varier le

taux de mélanine d'une peau à l'autre. La mélanine absorbe les ultraviolets et les infrarouges et capte les radicaux libres qui sont éminemment toxiques et expliquent une grande partie des effets nocifs du soleil.

5 L'autobronzant est un produit cosmétique utilisé pour obtenir un hâle temporaire similaire à celui obtenu par bronzage, mais sans exposition au soleil. Il doit être appliqué sur le corps pour colorer l'épiderme. L'autobronzant contient du dihydroxyacétone, agent chimique qui permet la coloration de la  
10 peau. Il existe donc une demande importante pour développer de nouveaux produits colorant efficacement la peau, faciles à utiliser, par une simple prise orale par exemple.

De façon inattendue, les inventeurs ont trouvé qu'un extrait de Gardénia par voie orale et locale pouvait être utile pour  
15 colorer la peau.

Originaire de Chine et du Japon, *Gardenia jasminoides* J. Ellis est un arbuste de la famille des Rubiaceae à feuillage persistant d'environ 1 à 2 m de haut généralement. Cette plante est cultivée dans les pays tropicaux chauds et humides. Les  
20 feuilles, d'un vert foncé, sont opposées, elliptiques à ovales-oblongues, de 5 à 10 cm de longueur et de 2 à 7,5 cm de largeur, cunéiformes à la base et aiguës ou acuminées à l'apex avec un pétiole court et à stipules soudées par paires. Les fleurs blanches à ivoire, sont campanulées, de 3 à 4 cm, solitaires,  
25 terminales, sessiles et très odorantes. Le fruit est une baie coriace à 5 côtes, de 1 à 1,5 cm de long, ovoïde ou ellipsoïde, surmontée du calice persistant, jaune à rouge à maturité et contenant de nombreuses graines. Le fruit mûr, récolté en automne et séché, est inscrit à la pharmacopée chinoise.

30 La médecine chinoise prescrit le fruit de Gardénia sous différentes préparations : fruits secs (Zhi-zi), fruits frits (Chaozhi-zi) ou fruits carbonisés (Jiaozhi-zi). En usage interne, il est prescrit comme antipyrétique, contre la dysenterie bacillaire, les infections pulmonaires et urinaires, les

hépatites ou comme hémostatique dans les hémorragies nasales provoquées par la fièvre et en usage externe pour traiter les blessures, l'inflammation oculaire, les contusions, les plaies et les furoncles. Dans la médecine japonaise Kampo le fruit est  
5 utilisé pour traiter la douleur, les affections pulmonaires et la jaunisse. Ces usages traditionnels peuvent être expliqués par les propriétés pharmacologiques du fruit qui est hémostatique, anti-inflammatoire, stimulant, cholagogue, émétique et diurétique.

Les autres parties du *Gardenia jasminoides* présentent de  
10 multiples vertus. Les feuilles, fébrifuges, sont écrasées en Malaisie pour confectionner des cataplasmes pour traiter les migraines, les inflammations pulmonaires. L'écorce, fébrifuge et tonique, est utilisée en cas de fièvre, dysenterie et de douleurs abdominales. En Inde, la racine est utilisée dans la dyspepsie et  
15 dans les désordres nerveux. Les fleurs, émollientes, sont utiles pour traiter l'ophtalmie, la blennorragie et la vaginite. Les graines sont utilisées en externe sous forme de pâte pour traiter la jaunisse, le rhumatisme, la diverticulose.

En complément de ces usages médicaux, les fruits sont  
20 également employés pour colorer les denrées alimentaires ou les textiles de couleur jaune à orange en raison de leur richesse en crocines, des pigments identiques à ceux du safran.

Les principaux composés du fruit sont :

➤ des iridoïdes, représentés majoritairement par le géniposide  
25 et gardénoside. Les autres iridoïdes présents ainsi que les composés suivants en quantité plus faible: 6"-O-*trans*-sinapoylgénipin gentiobioside, 6"-O-*trans*-p-coumaroylgénipin gentiobioside, 6"-O-*trans*-cinnamoylgénipin gentiobioside, 6"-O-*trans*-p-coumaroylgéniposide, acide 6'-O-*trans*-p-coumaroylgéniposide,  
30 10-O-succinoylgéniposide, 6'-O-acetylgéniposide, Gardenal-I, Gardenal-II, Gardenal-III, 6-β-hydroxygéniposide, 6-α-hydroxygéniposide, 6-α-méthoxygéniposide, férétoside, génipin-1-β-gentiobioside, shanzhiside et les acides lamalbidique et picrocrocinique.

- des caroténoïdes tels que l'acide crocéique, la crocétine et les crocines, dérivés glycosylés de la crocétine. On distingue la crocine 1 (crocétine gentiobioside), la crocine 2 (crocétine gentiobioside glucoside) et la crocine 3 (crocétine glucoside),
- 5 ➤ des flavonoïdes : gardénine, quercétine, quercétine-3-rutinoside, quercétine-3-O-glucopyranoside, isoquercitrine, corymbosine, umuhengérine, nicotiflorine.
- des dérivés caféylquiniques (acide 3-caféoylquinique, acide 4-caféoylquinique), acide 3,4-dicaféoylquinique, acide
- 10 3,5-dicaféoylquinique, acide 4,5-dicaféoylquinique, 5-O-caféoylquininate d'éthyle, 5-O-caféoyl 3-O-sinapoylquininate de méthyl, 5-O-caféoyl 3-O-sinapoylquininate d'éthyle, 5-O-caféoyl 4-O-sinapoylquininate de méthyl, 5-O-caféoyl 4-O-sinapoylquininate d'éthyle, 3,5-di-O-caféoyl-4-O-(3-hydroxy-3-
- 15 méthyl)glutaroylquininate de méthyle, acide 3-O-caféoyl-4-O-sinapoylquinique, 3-O-caféoyl-4-O-sinapoylquininate de méthyle, 3-O-caféoyl-5-O-sinapoylquininate de méthyle, acide 3,4-di-O-caféoyl-5-O-(3-hydroxy-méthyl) glutaroylquinique, acide 3,5-di-O-caféoyl-4-O-(3-hydroxyméthyl) glutaroylquinique.
- 20 ➤ des acides phénols tels que les acides chlorogénique, caféique et 3,4-dihydroxy-benzoïque.
- des lignanes : gardénianane A, syringarésinol, pinorésinol, syringarésinol-4-O- $\beta$ -D-glucopyranoside, laricirésinol, alangilignoside D, lyonirésinol,
- 25 lyonirésinol-9-O- $\beta$ -D-glucopyranoside, balanophonine, acide glycosmisique, ficusal et céplignane.
- des sucres (mannitol).

La présente invention concerne l'utilisation d'une

30 composition cosmétique destinée à colorer la peau, ladite composition cosmétique comprenant à titre de principe actif un extrait aqueux de *Gardénia*.

D'une façon préférée, l'extrait aqueux de *Gardénia* provient de l'espèce *Gardenia jasminoides*.

Selon un mode de l'invention, l'extrait aqueux de *Gardénia* utilisé pour colorer la peau, contient une fraction massique de  
5 crocines comprise entre 0,1 et 10%, préférentiellement entre 1 et 5%.

La composition selon l'invention peut être formulée pour l'administration à l'être humain. Les compositions selon l'invention peuvent être administrées par voie orale,  
10 sublinguale, sous-cutanée, intramusculaire, intraveineuse, transdermique, topique ou bien encore intra-nasale. Avantageusement, la composition selon la présente invention est destinée à une administration par voie topique. D'une façon encore plus avantageuse, la composition selon la présente  
15 invention est destinée à une administration par voie orale.

Dans ce dernier cas l'extrait aqueux de *Gardénia* peut être administré sous formes unitaires d'administration, en mélange avec des supports pharmaceutiques classiques, aux êtres humains. Les formes unitaires d'administration appropriées comprennent les  
20 formes par voie orale telles que les comprimés, les gélules, les poudres, les granules et les solutions ou suspensions orales, les formes d'administration sublinguale et buccale, les formes d'administration sous-cutanée ou transdermique, topique, intramusculaire, intraveineuse ou intra-nasale.

Lorsque l'on prépare une composition solide sous forme de comprimés, on mélange l'ingrédient actif principal avec un véhicule pharmaceutique tel que la gélatine, l'amidon, le lactose, le stéarate de magnésium, le talc, la gomme arabique, la silice ou analogues. On peut enrober les comprimés de saccharose  
25 ou d'autres matières appropriées ou encore on peut les traiter de telle sorte qu'ils aient une activité prolongée ou retardée et qu'ils libèrent d'une façon continue une quantité prédéterminée de principe actif.  
30

On obtient une préparation en gélules en mélangeant l'ingrédient actif avec un diluant et en versant le mélange obtenu dans des gélules molles ou dures.

5 Une préparation sous forme de sirop ou d'élixir peut contenir l'ingrédient actif conjointement avec un édulcorant, un antiseptique, ainsi qu'un agent donnant du goût et un colorant approprié.

10 Dans un mode de réalisation particulier de l'invention, la composition comprend, par dose unitaire, de 10 mg à 1 g d'extrait de Gardénia, préférentiellement de 20 mg à 500 mg, avantageusement de 50 mg à 250 mg et plus préférentiellement de 100 mg à 200 mg ;

15 Dans un mode particulier de l'invention, la composition comprend, par dose unitaire, de 0,2 mg à 20 mg de crocines, préférentiellement de 1 mg à 5 mg et plus préférentiellement de 2 mg à 4 mg.

20 Selon un mode de l'invention, l'extrait de Gardénia contient une fraction massique de crocines comprise entre 0,1 et 10%, préférentiellement entre 0,5 et 8%, de manière préférée entre 1 et 5%, encore plus préférentiellement entre 1 et 3%.

Selon un mode de l'invention, l'extrait de Gardénia contient une fraction massique de crocétine comprise entre 0,01 et 5%, préférentiellement entre 0,03 et 3%, encore plus préférentiellement entre 0,1 et 1%.

25 Selon un mode particulièrement intéressant de l'invention, la composition cosmétique comprend en outre du Paprika et/ou une autre source de caroténoïdes issus de plantes, de microorganismes ou de micro-algues, préférentiellement un extrait de paprika (*Capsicum annuum*), d'*Haematoccus pluvialis* riche en astaxanthine, 30 d'œillet d'Inde (*Tagetes erecta*) riche en lutéine et zéaxanthine, de tomate source de lycopène, *Dunaliella salina*, *Xanthophyllomyces dendrorhous* and *Blakeslea trispora* sources de carotènes.

La présente invention concerne également une méthode de traitement cosmétique destinée à colorer la peau, consistant en l'administration d'une composition cosmétique comprenant un extrait aqueux de Gardénia selon l'invention.

5 La présente invention concerne enfin un procédé d'extraction des fruits de Gardénia.

Les fruits de Gardénia sont extraits par un solvant constitué d'eau ou d'un mélange d'eau et d'un solvant organique, un alcool tel que l'éthanol ou un ester tel que l'acétone.  
10 L'extraction peut être réalisée sur des fruits entiers ou broyés grossièrement au préalable. L'ajout d'enzymes, telles que des pectinases permettant d'améliorer l'extraction et/ou leur filtration en fluidifiant les jus d'extraction. L'extraction peut être réalisée par une méthode classique connue de l'homme du  
15 métier, en réacteur, par ultrasons ou encore par microondes à une température comprise entre 20°C et 100°C suivant la présence ou non d'enzymes. L'extraction peut être menée à pression atmosphérique ou sous pression avec de l'eau sub-critique. Après séparation solide-liquide, le filtrat est concentré sur  
20 eau, stérilisé puis séché en l'état ou sur un support de séchage, comme la maltodextrine ou la silice. Le séchage est réalisé à des températures inférieures à 80°C afin d'éviter la dégradation des crocines molécules instables à des températures plus élevées. Il peut être réalisé par des techniques connues de l'homme du métier  
25 comme par exemple par micro-ondes ou atomisation.

Les exemples suivants illustrent l'invention sans en limiter la portée.

#### Exemple 1 : Procédé d'extraction

30 Les fruits entiers de Gardénia sont extraits à 90°C par l'eau pendant 2 heures. Après séparation solide/liquide, des pectinases sont additionnées. Le filtrat est concentré sur eau *q.s.p.* 40% d'extrait sec, stérilisé puis séché aux micro-ondes.



L'extrait aqueux sec obtenu est une poudre de couleur rouge. Le rendement est de 25% environ. Les teneurs en crocines sont comprises entre 0,1 et 10%, la teneur moyenne en crocines est de l'ordre de 2%.

5 Exemple 2 : effets pharmacologiques sur un modèle d'explant de peau humaine

En raison de l'absence de modèle pharmacologique cellulaire et animal, les inventeurs ont mis au point un modèle *ex-vivo* afin de contourner les difficultés liées à l'absorption des actifs. En  
10 effet il n'y a pas d'absorption de la crocine sans hydrolyse intestinale au préalable et une faible assimilation de la crocétine et de ces dérivés après passage.

Protocole

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'effet colorant  
15 de différents extraits appliqués sur des explants de peau humaine en survie sur 72 heures. Le maintien en survie est effectué dans des plaques de culture 6 puits contenant du milieu de culture. Ces plaques de culture sont placées dans un incubateur à 37°C avec 5% de CO<sub>2</sub>. Les études ont été effectuées sur quatre  
20 donneurs.

La coloration de chaque milieu contenant des actifs ou témoin est évaluée grâce au Dermoscope C-Cube Edition Clinique de la Société PIXIENCE SAS. Il s'agit de la coloration maximale pouvant être obtenue, soit le niveau 100 % de l'échelle de  
25 cartographie de coloration relative à chaque actif. La coloration de chaque explant est mesurée à l'aide du Dermoscope C-Cube Edition Clinique. Au préalable, l'explant est placé dans une solution de milieu sans actif pour rincer l'explant des molécules d'actif présentes en surface de l'explant et qui n'auraient pas  
30 pénétré à travers la peau.

Echantillons testés :

- Témoin : milieu de culture
- oléorésine de Paprika (10% de caroténoïdes)
- extrait aqueux de Gardénia (4% de crocines)

- extrait aqueux de Gardénia hydrolysé par voie chimique (2,7% de crocétine)
- Crocines (100 %)
- Crocétine (87 %), obtenue par hydrolyse chimique des crocines.

Le milieu de culture choisi est un milieu DMEM (Dulbecco's Eagle Modified Medium), supplémenté en glutamine, antifongiques et antibiotique, décrit dans l'étude de Jacques et al. 2010 (Toxicol. In Vitro 24(5), 1426-34).

Les photos des explants cutanés ainsi que les écarts colorimétriques, illustrés sur la figure unique annexée, ont permis de montrer le pouvoir colorant important de la Crocétine, du Gardénia et du Gardénia hydrolysé.

Dans ces conditions, le pouvoir colorant du Paprika et des crocines, est inférieur à ceux de la crocétine, du Gardénia et du Gardénia hydrolysé.

Ces études permettent d'apporter la preuve de concept de la coloration des explants liée à l'extrait de Gardénia, mais aussi à l'extrait de Gardénia hydrolysé et de la crocétine. Ces résultats ont été obtenus sur quatre donneurs, à différents temps et avec des expérimentateurs distincts, permettant de valider la reproductibilité de ces résultats.

Exemple 3 : biodisponibilité des crocines

Peu d'études ont été menées afin d'étudier les propriétés pharmacocinétiques des crocines. L'étude de l'exemple 2 a permis de montrer certes le pouvoir colorant des crocines mais ce résultat est obtenu sur des explants de peau humaine. L'étude réalisée par Xi et al de 2007 (Xi et al., Phytomedicine 14 ; 633-636, 2007) permet de montrer cependant que les crocines ont une biodisponibilité d'au moins 20% chez le rat, ce qui laisse présager des résultats encore supérieurs chez l'homme.

## Revendications

1. Utilisation d'une composition cosmétique destinée à colorer la peau, ladite composition cosmétique comprenant à titre de principe actif un extrait aqueux de *Gardénia*.
2. Utilisation selon la revendication 1 caractérisée en ce que ledit extrait provient de l'espèce *Gardenia jasminoides*.
3. Utilisation selon l'une des revendications 1 ou 2 caractérisée en ce que ledit extrait contient une fraction massique de crocines comprise entre 0,1 et 10%, préférentiellement entre 1 et 5%.
4. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 3 caractérisée en ce que ladite composition est administrée par voie orale.
5. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que ladite composition comprend en outre du paprika et/ou du  $\beta$ -carotène.
6. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisée en ce que l'extrait aqueux de *Gardénia*, est obtenu par :
  - une extraction à partir des fruits entiers en présence de pectinases,
  - une séparation solide-liquide,
  - une stérilisation du filtrat, et
  - un séchage à des températures inférieures à 80 °C.
7. Méthode de traitement cosmétique destinée à colorer la peau consistant en l'administration d'une composition cosmétique selon les revendications 1 à 6.

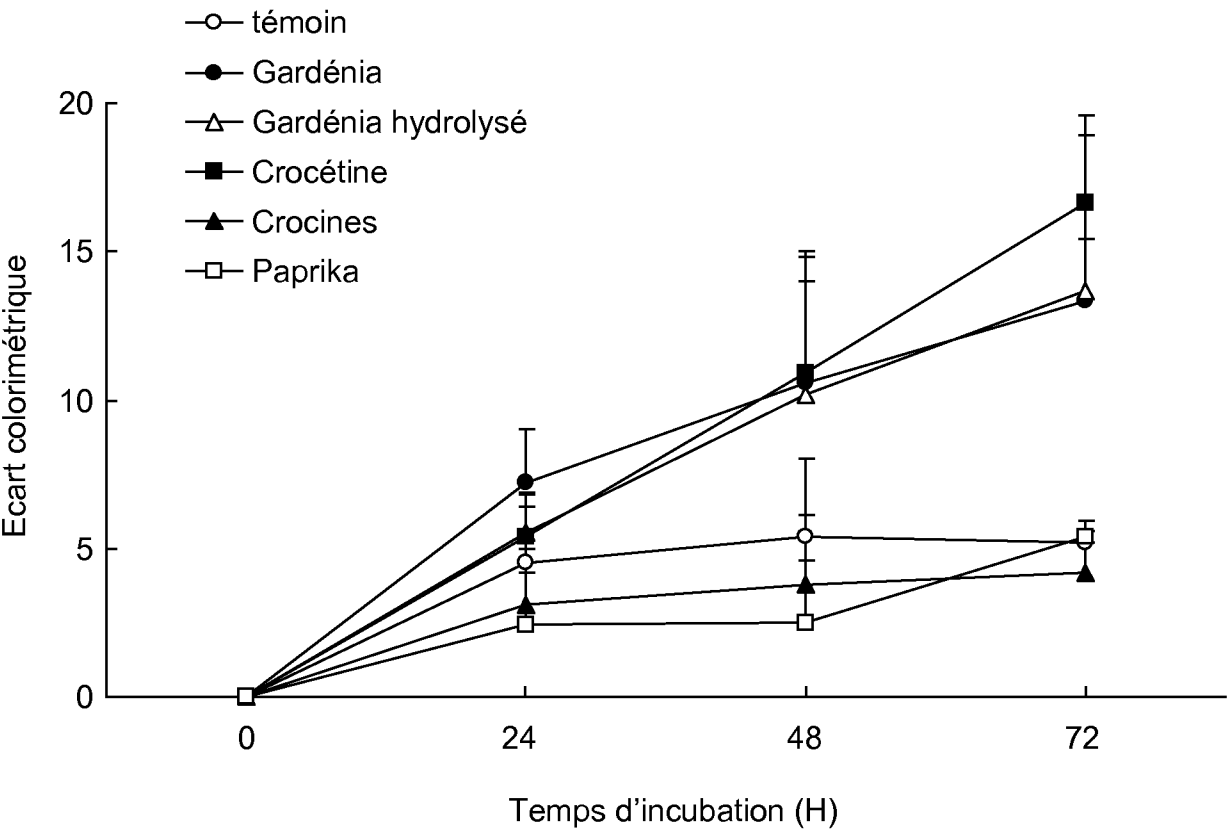


Figure 1

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/EP2016/071157

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
INV. A61Q19/04 A61K8/97  
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61Q A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DATABASE GNPD [Online] MINTEL; March 2013 (2013-03), "Crocetin + cassis 30 Days Supplement", XP002759359, Database accession no. 2038284 the whole document -----	1-7
A	DATABASE GNPD [Online] MINTEL; July 2007 (2007-07), "Eye Q Clear essence with DHA, Crocetin & Palm Carotene", XP002759362, Database accession no. 735947 the whole document ----- -/--	1-7



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

\* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 November 2016

Date of mailing of the international search report

02/12/2016

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Kling, Isabelle

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/EP2016/071157

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>DATABASE GNPD [Online] MINTEL; October 2008 (2008-10), "Crocetin Eye", XP002759363, Database accession no. 1141204 the whole document</p> <p>-----</p>	1-7
A	<p>"Cosmetics for maintaining skin moisture - comprise pptes. obtd. by extracting Gardenia jasminoides or Crocus sativum with water, treating extract and adjusting pH", WPI WORLD PATENT INFORMATION DERWENT, vol. 1, no. 96, 31 October 1995 (1995-10-31), XP002021296, abstract</p> <p>-----</p>	1-7
A	<p>DATABASE GNPD [Online] MINTEL; January 2014 (2014-01), "Bronzoral 1 Solar Sublimating Supplement", XP002759364, Database accession no. 2220161 the whole document</p> <p>-----</p>	1-7

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/EP2016/071157

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE  
INV. A61Q19/04 A61K8/97  
ADD.

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

## B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)  
A61Q A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)  
EPO-Internal

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	DATABASE GNPD [Online] MINTEL; mars 2013 (2013-03), "Crocetin + cassis 30 Days Supplement", XP002759359, Database accession no. 2038284 le document en entier -----	1-7
A	DATABASE GNPD [Online] MINTEL; juillet 2007 (2007-07), "Eye Q Clear essence with DHA, Crocetin & Palm Carotene", XP002759362, Database accession no. 735947 le document en entier ----- -/-	1-7



Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents



Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

\* Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

17 novembre 2016

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

02/12/2016

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Kling, Isabelle

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>DATABASE GNPD [Online]  MINTEL;  octobre 2008 (2008-10),  "Crocetin Eye",  XP002759363,  Database accession no. 1141204  le document en entier</p> <p>-----</p>	1-7
A	<p>"Cosmetics for maintaining skin moisture -  comprise pptes. obtd. by extracting  Gardenia jasminoides or Crocus sativum  with water, treating extract and adjusting  pH",  WPI WORLD PATENT INFORMATION DERWENT,  vol. 1, no. 96,  31 octobre 1995 (1995-10-31), XP002021296,  abrégé</p> <p>-----</p>	1-7
A	<p>DATABASE GNPD [Online]  MINTEL;  janvier 2014 (2014-01),  "Bronzoral 1 Solar Sublimating  Supplement",  XP002759364,  Database accession no. 2220161  le document en entier</p> <p>-----</p>	1-7





## (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107949370 A

(43)申请公布日 2018.04.20

(21)申请号 201680051767.4

(22)申请日 2016.09.08

(30)优先权数据

1558358 2015.09.09 FR

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.03.07

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2016/071157 2016.09.08

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/042257 FR 2017.03.16

(71)申请人 皮埃尔法布雷医药公司

地址 法国布洛涅-比扬古

(72)发明人 H·迪普朗 C·菲奥里尼-皮巴雷

C·雅克-雅曼 P·茹利亚

L·苏夫拉

(74)专利代理机构 北京戈程知识产权代理有限公司 11314

代理人 程伟 李媛

(51)Int.Cl.

A61K 8/9789(2017.01)

A61Q 19/04(2006.01)

权利要求书1页 说明书4页 附图1页

(54)发明名称

用于使皮肤着色的栀子提取物

(57)摘要

本发明涉及化妆品组合物旨在用于使皮肤着色的用途,所述化妆品组合物包含作为活性成分的栀子的水性提取物。

1. 化妆品组合物用于使皮肤着色的用途, 所述化妆品组合物包含作为活性成分的梔子的水性提取物。

2. 根据权利要求1所述的用途, 其特征在于所述提取物来自于物种梔子 *Gardenia jasminoides*。

3. 根据权利要求1或2之一所述的用途, 其特征在于所述提取物含有0.1至10%, 优选1至5%的质量分数的番红花素。

4. 根据权利要求1至3中任一项所述的用途, 其特征在于所述组合物经由口服途径施用。

5. 根据权利要求1至4中任一项所述的用途, 其特征在于所述组合物进一步包含红辣椒和/或 $\beta$ -胡萝卜素。

6. 根据权利要求1至5中任一项所述的用途, 其特征在于通过:

-在果胶酶的存在下从整个水果中提取,

-固液分离,

-滤液的灭菌, 和

-在低于80°C的温度干燥,

获得所述梔子的水性提取物。

7. 一种用于使皮肤着色的美容处理方法, 其包括施用根据权利要求1至6所述的化妆品组合物。

## 用于使皮肤着色的梔子提取物

[0001] 本发明涉及梔子 (*Gardenia*) 提取物用于使皮肤着色的用途。

[0002] 人皮肤颜色 (也称为肤色) 具有从白色到几乎黑色的深褐色的连续渐变, 有时具有玫瑰色或铜色色调。皮肤颜色是一种显著的个人特征, 其通常被认为是种族或社会经济的标志。包含在皮肤中的色素的量和性质及其分布是决定皮肤颜色的主要标准。遗传学在决定肤色方面发挥关键作用, 但太阳照射也是如此, 因为大多数人在紫外线辐射的作用下被晒黑。某些医药产品的吸收和疾病都可以导致色素沉着过度或色素减退。三种色素的表面分布是造成皮肤颜色的原因。胡萝卜素是一种色素, 其颜色在黄色和橙色间变化。其积聚在角质层和皮下组织的脂肪细胞中, 并促进黑色素合成。其存在于某些植物 (如胡萝卜) 中。第二种色素是血红蛋白; 当皮肤氧合良好时, 血红蛋白使浅色皮肤呈玫瑰色。氧合不足使其呈蓝色。黑色素是对于皮肤颜色最重要的色素。黑色素水平决定皮肤颜色, 并且其相应地提供对紫外线的强力防护。头部和身体的表皮和毛发被黑色素着色, 所述黑色素在表皮的最深层 (基底层) 中被发现, 其由大细胞 (黑素细胞) 产生。由氨基酸 (酪氨酸) 在黑素体中合成黑色素。酪氨酸酶是黑色素合成中的关键酶。黑素体的数量和尺寸改变了从一种皮肤类型到另一种皮肤类型的黑色素水平。黑色素吸收紫外线和红外线, 并捕获高毒性自由基, 所述自由基是大部分太阳有害作用的原因。

[0003] 自晒黑剂是一种化妆品, 其用于获得暂时的黝黑色而无需暴露在阳光下, 所述黝黑色类似于通过日晒获得的黝黑色。其必须应用在身体上以使表皮着色。自晒黑剂含有二羟基丙酮, 其作为一种使皮肤着色的化学剂。因此, 非常需要开发新的、易于使用的产品, 所述产品借助于例如简单的口服剂使皮肤有效地着色。

[0004] 意想不到地, 发明人已经发现, 经由口服和局部途径的梔子提取物可以用于使皮肤着色。

[0005] 原产于中国和日本的梔子 (*Gardenia jasminoides* J.Ellis) 是一种茜草科的常绿灌木, 一般高约1至2m。这种植物被种植在炎热且潮湿的热带国家。深绿色的叶子对生, 呈椭圆形至长椭圆形, 长5至10cm, 宽2至7.5cm, 在基部呈楔形, 在顶端急尖或渐尖, 叶柄短, 并且托叶成对融合。白色至象牙色的花呈钟形, 尺寸3至4cm, 单独, 顶生, 无梗且非常香。果实为坚韧的5面浆果, 长1至1.5cm, 卵形或椭球形, 顶生具有宿萼, 成熟时呈黄色至红色, 并且含有许多种子。成熟的果实在秋季收获并干燥, 其被登记在中国药典中。

[0006] 中医以不同的剂型规定梔子果实: 干的果实 (梔子 (Zhi-zi))、炒过的果实 (炒梔子 (Chaozhi-zi)) 或烤过的果实 (焦梔子 (Jiaozhi-zi))。其被开处方用于内服, 作为针对细菌性痢疾、肺和泌尿器官感染和肝炎的解热剂, 或作为由发热引起的鼻出血的止血剂; 并且用于外用, 以治疗外伤、眼部炎症、挫伤、伤口和疖疮。在日本汉方药中, 果实用于治疗疼痛、肺部疾病和黄疸。这些传统用途可以通过果实的药理学性质来解释, 所述性质为止血、消炎、兴奋、利胆、催吐和利尿。

[0007] 梔子的其他部分有很多功效。在马来西亚, 解热的叶子被粉碎, 以制造用于治疗偏头痛和肺部炎症的药膏。解热且滋补的树皮用于发热、痢疾和胃痛。在印度, 根用于消化不良和神经紊乱。镇痛的花用于治疗眼炎、淋病和阴道炎症。种子以糊剂形式外用以治疗黄

疸、风湿病和憩室病。

[0008] 除了这些医药用途以外,果实还用于将食品或纺织品染成黄色至橙色,这归因于它们高含量的番红花素(crocine),所述番红花素是与番红花(safran)的那些色素相同的色素。

[0009] 果实的主要化合物为:

[0010] ➤主要以京尼平苷和梔子苷为代表的环烯醚萜。其他环烯醚萜以及以下化合物以较小的量存在:6"-0-反式-芥子酰京尼平龙胆二糖苷、6"-0-反式-对-香豆酰京尼平龙胆二糖苷、6"-0-反式-肉桂酰京尼平龙胆二糖苷、6"-0-反式-对-香豆酰京尼平苷、6'-0-反式-对-香豆酰京尼平苷酸、10-0-琥珀酰京尼平苷、6'-0-乙酰京尼平苷、梔子醛-I (Gardenal-I)、梔子醛-II、梔子醛-III、6-β-羟基京尼平苷、6-α-羟基京尼平苷、6-α-甲氧基京尼平苷、鸡矢藤次苷甲酯(férétoside)、京尼平-1-β-龙胆二糖苷、山梔苷、lamalbidique酸和picrocrocinique酸。

[0011] ➤类胡萝卜素,如藏红花酸(acide crocéique)、番红花酸(crocétine)和番红花素(番红花酸的糖基化衍生物)。可以区分番红花素1(番红花酸龙胆二糖苷)、番红花素2(番红花酸龙胆二糖苷葡萄糖苷)和番红花素3(番红花酸葡萄糖苷),

[0012] ➤黄酮:梔子黄素(gardénine)、槲皮素、槲皮素-3-芸香糖苷、槲皮素-3-0-吡喃葡萄糖苷、异槲皮苷、corymbosine、umuhengérine、烟花苷(nicotiflorine)。

[0013] ➤咖啡酰奎宁衍生物(3-咖啡酰奎宁酸、4-咖啡酰奎宁酸)、3,4-二咖啡酰奎宁酸、3,5-二咖啡酰奎宁酸、4,5-二咖啡酰奎宁酸、5-0-咖啡酰奎宁酸乙酯、5-0-咖啡酰3-0-芥子酰奎宁酸甲酯、5-0-咖啡酰3-0-芥子酰奎宁酸乙酯、5-0-咖啡酰4-0-芥子酰奎宁酸甲酯、5-0-咖啡酰4-0-芥子酰奎宁酸乙酯、3,5-二-0-咖啡酰-4-0-(3-羟基-3-甲基)戊二酰奎宁酸甲酯、3-0-咖啡酰-4-0-芥子酰奎宁酸、3-0-咖啡酰-4-0-芥子酰奎宁酸甲酯、3-0-咖啡酰-5-0-芥子酰奎宁酸甲酯、3,4-二-0-咖啡酰-5-0-(3-羟基-甲基)戊二酰奎宁酸、3,5-二-0-咖啡酰-4-0-(3-羟甲基)戊二酰奎宁酸。

[0014] ➤酚酸,如绿原酸、咖啡酸和3,4-二羟基苯甲酸。

[0015] ➤木脂素:gardénianane A、丁香脂素、松脂醇、丁香脂素-4-0-β-D-吡喃葡萄糖苷、落叶松脂醇(laricirésinol)、alangilignoside D、lyonirésinol、lyonirésinol-9-0-β-D-吡喃葡萄糖苷、蛇菰宁(balanophonine)、glycosmisique酸、ficusal和肥牛树素(céplignane)。

[0016] ➤糖(甘露醇)。

[0017] 本发明涉及化妆品组合物用于使皮肤着色的用途,所述化妆品组合物包含作为活性成分的梔子的水性提取物。

[0018] 优选地,梔子的水性提取物来自于物种梔子(Gardenia jasminoides)。

[0019] 根据本发明的一个实施方案,用于使皮肤着色的梔子的水性提取物含有0.1至10%,优选1至5%的质量分数(fraction massique)的番红花素。

[0020] 根据本发明的组合物可以被配制用于施用至人。可以经由口服、舌下、皮下、肌肉、静脉内、透皮、局部或鼻内途径施用根据本发明的组合物。有利地,根据本发明的组合物用于经由局部途径施用。甚至更有利地,根据本发明的组合物用于经由口服途径施用。

[0021] 在后一种情况下,可以以单位剂型,将梔子的水性提取物与常规药物载体混合施

用至人。合适的单位剂型包括口服形式(如片剂、胶囊、粉末剂、颗粒剂和口服溶液或混悬剂)、舌下和口腔剂型、皮下或透皮、局部、肌内、静脉内或鼻内剂型。

[0022] 当以固体组合物被制备成片剂形式时,将主要活性成分与药物载体(如明胶、淀粉、乳糖、硬脂酸镁、滑石、阿拉伯胶、二氧化硅等)混合。可以用蔗糖或其他合适的材料涂布片剂,或者可以处理它们,以使它们具有延长的或延迟的活性,并使它们连续释放预定量的活性成分。

[0023] 通过将活性成分与稀释剂混合,并通过将所得的混合物灌入软胶囊或硬胶囊,来获得胶囊制剂。

[0024] 糖浆或酏剂形式的制剂可以含有活性成分和甜味剂、防腐剂,以及调味剂和合适的染料。

[0025] 在本发明的一个特别的实施方案中,每单位剂量的组合物包含10mg至1g,优选20mg至500mg,有利地50mg至250mg,更优选100mg至200mg梔子提取物。

[0026] 在本发明的一个特别的实施方案中,每单位剂量的组合物包含0.2mg至20mg,优选1mg至5mg,更优选2mg至4mg番红花素。

[0027] 根据本发明的一个实施方案,梔子提取物含有0.1至10%,优选0.5至8%,优选1至5%,甚至更优选1至3%的质量分数的番红花素。

[0028] 根据本发明的一个实施方案,梔子提取物含有0.01至5%,优选0.03至3%,甚至更优选0.1至1%的质量分数的番红花酸。

[0029] 根据本发明的一个特别有利的实施方案,化妆品组合物进一步包含红辣椒(Paprika)和/或来源于植物、微生物或微藻类的另一种类胡萝卜素来源,优选红辣椒(辣椒(Capsicum annuum))的提取物,富含虾青素的雨生红球藻(Haematococcus pluvialis),富含叶黄素和玉米黄质的非洲万寿菊(万寿菊(Tagetes erecta)),番茄(番茄红素的来源),盐生杜氏藻(Dunaliella salina),法夫酵母(Xanthophyllomyces dendrorhous)和三孢布拉氏霉菌(Blakeslea trispora)(胡萝卜素的来源)。

[0030] 本发明还涉及一种用于使皮肤着色的美容处理方法,其包括施用根据本发明的包含梔子的水性提取物的化妆品组合物。

[0031] 最后,本发明涉及一种用于提取梔子果实的方法。

[0032] 用由水组成的溶剂,或由水和有机溶剂、醇(如乙醇)或酯(如丙酮)的混合物组成的溶剂提取梔子果实。可以用整个水果或用预先粗磨的水果进行提取。可以加入酶(如果胶酶),通过液化提取果汁来改善提取和/或过滤。可以通过本领域技术人员已知的常规方法,在反应器中,通过超声或微波,在20℃至100℃的温度(取决于是否存在酶)进行提取。可以在大气压或在亚临界水的压力进行提取。

[0033] 在固液分离后,浓缩滤液的水,灭菌,然后就这样干燥,或在干燥助剂(如麦芽糖糊精或二氧化硅)上干燥。在低于80℃的温度进行干燥,以避免番红花素分子(其在较高温度不稳定)的降解。可以通过本领域技术人员已知的技术进行干燥,例如通过微波或喷雾干燥。

[0034] 以下实施例阐明本发明而不限其范围。

[0035] 实施例1:提取方法

[0036] 将整个梔子果实在90℃用水提取2小时。在固/液分离后,加入果胶酶。适量浓缩滤

液的水得到40%干燥提取物,灭菌,然后用微波干燥。

[0037] 所得的干燥水性提取物为红色粉末。产率为约25%。番红花素含量为0.1至10%,平均番红花素含量为2%级别。

[0038] 实施例2:在人皮肤外植体模型上的药理作用

[0039] 由于缺乏细胞和动物药理学模型,本发明人开发了一种体外模型,以克服与活性剂的吸收有关的困难。事实上,在没有首先的肠水解时没有番红花素的吸收,并且在通过后番红花酸和这些衍生物的同化很低。

[0040] 方案

[0041] 本研究的目的是评价不同的提取物应用于存活状态的人皮肤外植体上72小时的着色作用。在含有培养介质的6孔培养板中进行存活状态的维持。将这些培养板置于37℃,5%CO<sub>2</sub>的温育箱中。在四个供体上进行研究。

[0042] 用来自PIXIENCE SAS的Dermoscope C-Cube临床版评价每种含有活性剂或对照的介质的着色。评价涉及可以获得的最大着色,即,与每种活性剂相关的颜色映射比例的100%水平。使用Dermoscope C-Cube临床版测量每个外植体的着色。首先,将外植体置于没有活性剂的介质溶液中,以冲洗带有活性剂分子的外植体,所述活性剂分子存在于外植体表面且未穿透皮肤。

[0043] 测试的样品:

[0044] -对照:培养介质

[0045] -红辣椒油树脂(10%类胡萝卜素)

[0046] -梔子的水性提取物(4%番红花素)

[0047] -化学水解的梔子的水性提取物(2.7%番红花酸)

[0048] -番红花素(100%)

[0049] -番红花酸(87%),通过番红花素的化学水解获得。

[0050] 所选择的培养介质为补充有谷氨酰胺、抗真菌剂和抗生素的DMEM(杜氏改良伊格尔培养基),其在Jacques等人2010年的研究(*Toxicol. In Vitro* 24(5),1426-34)中描述。

[0051] 皮肤外植体的照片,和在单个附图中所示的比色差异显示了梔子和水解梔子的番红花酸的高着色强度。

[0052] 在这些条件下,红辣椒和番红花素的着色力不如梔子和水解梔子的番红花酸的那些。

[0053] 这些研究提供了使用梔子提取物、也提供了使用梔子水解的提取物和使用番红花酸使外植体着色的概念的证明。这些结果是在四个供体上,在不同时间用不同实验者获得的,从而验证了这些结果的可重复性。

[0054] 实施例3:番红花素的生物利用度

[0055] 对番红花素的药代动力学性质的研究很少进行。事实上,实施例2的研究显示了番红花素的着色强度,但是该结果是在人皮肤外植体上获得的。然而,Xi等人在2007年进行的研究(Xi等人,*Phytomedicine* 14;633-636,2007)显示,番红花素在大鼠中具有至少20%的生物利用度,这提示在人中的结果甚至更好。

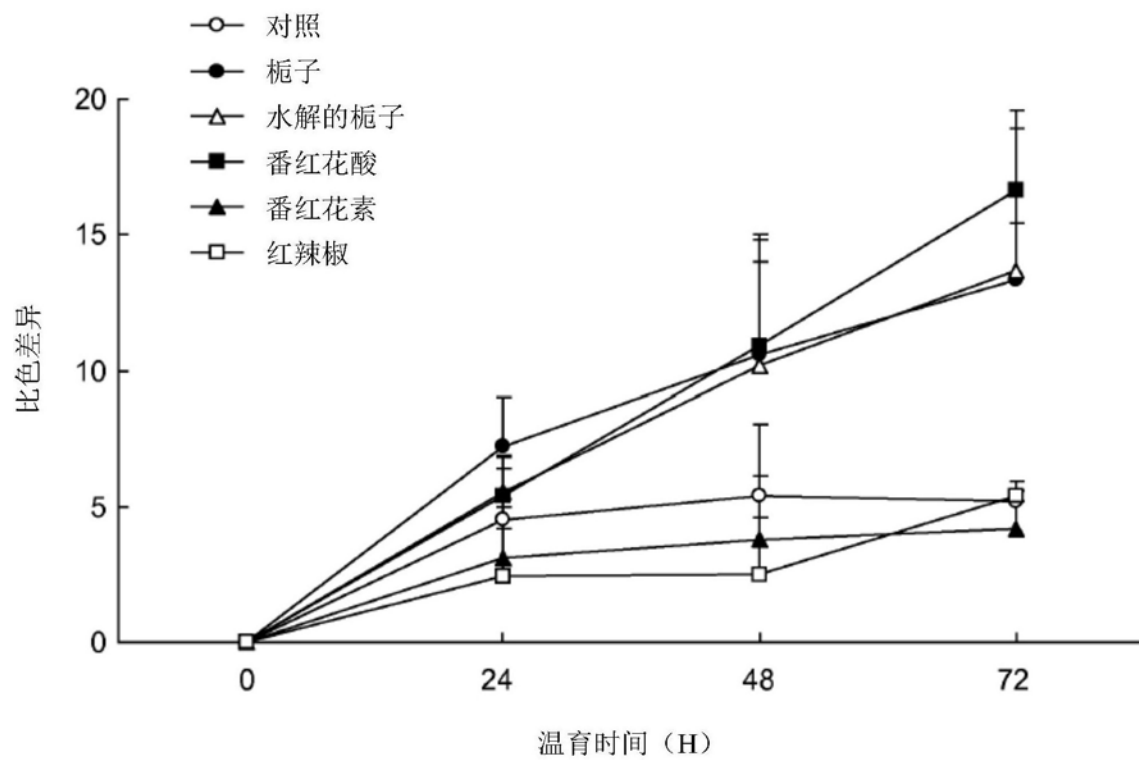


图1