

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA



Organización CSA Ltda

Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones

INVENTARIO

PCT

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

08-46044

21. EXPEDIENTE No.

54. TÍTULO Uso de compuestos de centella Asiática

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

71. SOLICITANTE BAYER CONSUMER CARE AG

DOMICILIO BASILEA, SUIZA

74. APODERADO JAINÉ EDUARDO DELGADO VILLEGAS

22. BOGOTÁ, D. C.,

55

PETITORIO		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO	
			
		No. 08-046044- -00000-0000	
		Fecha: 2008-05-07 15:58:24 Dep. 2020 NUECREACION	
		Itm. 11 PATENTE(Y) Eve: 378 FASENACIONAL	
		Act. 411 PRESENTACION Folios: 64	
FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE			
PCT			
ENTRADA EN FASE NACIONAL			
1 SOLICITUD DE:			
☒ Patente de Invención		☐ Patente de Modelo de Utilidad	
☒ Capítulo I ☐ Capítulo II			
2 SOLICITANTE (71)	Nombre: BAYER CONSUMER CARE AG Dirección: Peter Merlan-Str. 84, CH-4052, BASILEA, SUIZA Nacionalidad o domicilio: BASILEA, SUIZA Lugar de Constitución: BASILEA, SUIZA Teléfono: Fax: E-mail:		IDENTIFICACIÓN C.C. ☐ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Cual: _____ Número:
3 REPRESENTANTE O APODERADO	Nombre: JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS Dirección: Avda. Carrera 24 No. 37-31 Of. 202 BOGOTA D.C., COLOMBIA Teléfono: 2444098 Fax: 2442498 E-mail:		IDENTIFICACIÓN C.C. ☒ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Cuál Número: 19.270.955 T.P. 43.308 C.S.J. BOGOTA
4 INVENTOR (ES) (72)	Nombre: SENE, Gérard; LOISEAU, Alain; y LEPETIT, Jean-Christophe 151, Rue León-Maurice Nordmann, F-75013, PARIS, FRANCIA; Dirección: 15, Chemin du Luy Bouillon, F-64140 ARZACQ, FRANCIA 109 Avenue Henri Barbusse, F-92700 COLOMBES, FRANCIA Nacionalidad o Domicilio: FRANCESES		
5	PCT '(88) Solicitud Internacional No. PCT/EP2006/010355 Fecha: 27 - 10 -08 Publicación Internacional No. WO 2007/054211 A1 Fecha: 18 - 05 - 07		
6	Título (54) USO DE COMPUESTOS DE CENTELLA ASIATICA		
7	Clasificación internacional (51) A61K 36/23		
8	Prioridad SI ☒ NO ☐	(33) País de Origen EP	(32) Fecha 09/11/2005
			(31) Número de Solicitud 05292384.4
9	Comprobante de pago No.		Fecha
Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.			

10

ANEXOS



Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.



Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.



Poderes, si fuere el caso.



Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.



Declaraciones



Copia de la solicitud internacional (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)



Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)



Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).



Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.



De ser el caso, copia del contrato de acceso.



De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.



De ser el caso, certificado de depósito del material biológico



Arte final 12X12 cm.



De ser el caso, información de otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas total o parcialmente con la invención de esta solicitud.



De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional, Nuevas Reivindicaciones



Otros: Informe de Búsqueda de Antecedentes Internacional junto con la traducción



Publicación Internacional No. WO 2007/054211 A1

FIGURA CARACTERISTICA

12

Solicito la concesión de la patente.

NOMBRE: JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS

FIRMA:

C.C. 19.270.955 Bogotá T.P. 43.308 C.S.J.

3

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCTNOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

To:

LINHART, Angela
c/o Bayer Healthcare Ag, Law and Patents, Patents
and Licensing
51368 Leverkusen
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year) 02 February 2007 (02.02.2007)	
Applicant's or agent's file reference BHC051132-WO	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/EP2006/010355	International filing date (day/month/year) 27 October 2006 (27.10.2006)
International publication date (day/month/year) Not yet published	Priority date (day/month/year) 09 November 2005 (09.11.2005)
Applicant BAYER CONSUMER CARE AG et al	

1. By means of this Form, which replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents, the applicant is hereby notified of the date of receipt by the International Bureau of the priority document(s) relating to all earlier application(s) whose priority is claimed. Unless otherwise indicated by the letters "NR", in the right-hand column or by an asterisk appearing next to a date of receipt, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
2. (If applicable) The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which, on the date of mailing of this Form, had not yet been received by the International Bureau under Rule 17.1(a) or (b). Where, under Rule 17.1(a), the priority document must be submitted by the applicant to the receiving Office or the International Bureau, but the applicant fails to submit the priority document within the applicable time limit under that Rule, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
3. (If applicable) An asterisk (*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b) (the priority document was received after the time limit prescribed in Rule 17.1(a) or the request to prepare and transmit the priority document was submitted to the receiving Office after the applicable time limit under Rule 17.1(b)). Even though the priority document was not furnished in compliance with Rule 17.1(a) or (b), the International Bureau will nevertheless transmit a copy of the document to the designated Offices, for their consideration. In case such a copy is not accepted by the designated Office as the priority document, Rule 17.1(c) provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

<u>Priority date</u>	<u>Priority application No.</u>	<u>Country or regional Office or PCT receiving Office</u>	<u>Date of receipt of priority document</u>
09 November 2005 (09.11.2005)	05292384.4	EP	22 January 2007 (22.01.2007)

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Agnes Wittmann-Regis Facsimile No. +41 22 338 90 84 Telephone No. +41 22 338 90 33
---	--

Facsimile No. +41 22 338 82 70

Form PCT/IB/304 (October 2005)

1/C414142.00

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/EP2006/010355

International filing date: 27 October 2006 (27.10.2006)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: EP
Number: 05292384.4
Filing date: 09 November 2005 (09.11.2005)

Date of receipt at the International Bureau: 22 January 2007 (22.01.2007)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in
compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse



Europäisches Patentamt
GD1

European Patent Office
DG1

Office européen des brevets
DG1

Bescheinigung

Certificate

Attestation

Die angehefteten Unterlagen
stimmen mit der ursprünglich
eingereichten Fassung der
auf dem nächsten Blatt
bezeichneten europäischen
Patentanmeldung überein.

The attached documents are
exact copies of the
European patent application
described on the following
page, as originally filed.

Les documents fixés à cette
attestation sont conformes à
la version initialement
déposée de la demande de
brevet européen spécifiée à
la page suivante.

Patentanmeldung Nr.

Patent application No.

Demande de brevet n°

05292384.4 / EP05292384

The organization code and number of your priority application, to be used for filing abroad under the Paris Convention, is EP05292384

04-12-2006

Der Präsident des Europäischen Patentamts;
Im Auftrag

For the President of the European Patent Office

Le Président de l'Office européen des brevets
p.o.

R.C. van Dijk

6



Europäisches Patentamt
GD1

European Patent Office
DG1

Office européen des brevets
DG1

Anmeldung Nr:
Application no : 05292384.4
Demande no:

Anmeldetag:
Date of filing: 09.11.05
Date de dépôt:

Anmelder/Applicant(s)/Demandeur(s):

Bayer Consumer Care AG
Peter Merian-Strasse 84
4052 Basel/CH

Bezeichnung der Erfindung/Title of the invention/Titre de l'invention:
(Falls die Bezeichnung der Erfindung nicht angegeben ist, siehe Beschreibung.
If no title is shown please refer to the description.
Si aucun titre n'est indiqué se référer à la description.)

Use of compounds from centella asiatica

In anspruch genommene Priorität(en) / Priority(ies) claimed / Priorité(s) revendiquée(s)
Staat/Tag/Aktenzeichen / State/Date/File no. / Pays/Date/Numéro de dépôt:

Internationale Patentklassifikation / International Patent Classification / Classification internationale des brevets:

A61K35/00

Am Anmeldetag benannte Vertragsstaaten / Contracting states designated at date of filing / Etats contractants désignées lors du dépôt:

AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HU IE IS IT LI LT LU LV MC NL PL PT RO SE SI SK TR

- 1 -

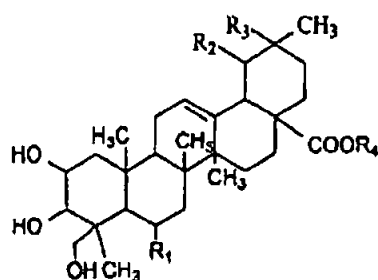
Use of Compounds from Centella Asiatica

The present invention relates to the use of compounds from Centella Asiatica in cosmetics, pharmaceuticals and food supplements for improving keratinocytes differentiation and for enhancing the epidermal functionality.

- 5 Centella asiatica, also known as Violette marronne (Reunion Island), as Gotu Kola or as Indian pennywort (India), or as Centella repanda (North America) and as Talapetraka (Madagascar), is a polymorphous herb and belongs to the family of Umbelliferae (Apiaceae), particularly to the Hydrocotyle subfamily that grows wild in pantropical moist and shady regions at an ideal altitude of 600 to 1200m. Centella asiatica includes three varieties called Typica, Abyssinica and
10 Floridana. It is known and used for healing, sedative, analgesic, antidepressant, antiviral and antimicrobial properties. The biological activity is enabled by active molecules from the triterpene series such as Asiaticoside (I), Madecassoside (under its 2 isomeric forms : madecassoside itself and terminoloside) (II), Asiatic acid (III) and Madecassic Acid (IV). They contribute to the natural defense of the plants against environmental aggression thanks to the anti-bacterial properties of the
15 genins (III, IV), which are obtained by hydrolysis from the heterosidic reserve form (I, II).

Extracts containing these compounds are used in the pharmaceutical and cosmetic industry regarding skin care and skin diseases, respectively for treating wounds, scars and venous insufficiency and for dermis restoration and anti-inflammatory properties as disclosed in WO2004/062678.

20



		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
I	Asiaticoside	H	CH ₃	H	Glu-Glu-Rha
II	Madecassoside	OH	CH ₃	H	Glu-Glu-Rha
	Terminoloside	OH	H	CH ₃	Glu-Glu-Rha
III	Asiatic Acid	H	CH ₃	H	H
IV	Madecassic Acid	OH	CH ₃	H	H

- 25 Aquaporins were discovered in 1988. These transmembrane proteins serve to facilitate water transport through the skin down osmotic gradients with low activation energy. Eleven aquaporins have been identified in mammals to date. Aquaporin-3 (AQP-3) is unique in its structure (lowest homology with other aquaporins) and its function (Ishibashi, K; Sasaki, S; Fushimi, K; Yamamoto, T; Kuwahara, M; Marumo, F, The American Journal Of Physiology, 272 (2) 2, 1997, p. F235-

8

- 2 -

F241). It is a glycerol and water transporter (aquaglyceroporin) regulated by p73 (Zheng, X; Chen, X, FEBS Letters, Volume 489, Issue 1, January 26, 2001, Pages 4-7). During development of the skin AQP-3 expression begins late in fetal life (Matsuzaki, T; Suzuki, T; Koyama, H; Tanaka, S; Takata, K, The Journal Of Histochemistry And Cytochemistry: Official Journal Of The Histochemistry Society, 47, (10), 1999, p. 1275-1286). Aquaporins serve as water channels and increases the permeability of membranes to water for as much as ten-fold. They are located in basal layers of epitheliums of numerous organs like kidney, lung or intestines (Takata K, Matzuaki T, Tajika Y, Prog Histem Cytochem 2004 (39) 1-835). Especially in the skin AQP-3 is located in keratinocytes (Sougrat R, Morand M, Gondran C, J Invest Dermatol 2002 (118) 678-85). The abundance of basolateral AQP-3 in epithelial tissue and its expression in many non-epithelial cells suggests that this aquaglyceroprotein is a major participant in osmolyte homeostasis in the human body and plays an important role in the hydration of the skin (Mobasheri, A; Wray, S; Marples, D, J Mol Histol, (36), 1-2, 2005, p. 1-14).

Several studies on mice deficient in AQP-3 demonstrate more directly the influence of AQP-3 for the state and functionality of the skin. According to Hara et al. (Hara, Mariko; Ma, Ronghui; Verkman AS, J of Biol Chem 277, 2002, (48), p 46616-46621) SHK1 mice have dry skin with reduced stratum corneum hydration, decreased elasticity and impaired functionality. Sougrat et al. propose AQP-3 as a water-clamp intended for improving the hydration of the epidermis below the stratum corneum (Sougrat R; Morand M; Gondran C; Barre, O; Gobin R; Bonte F; Dumas M; Verbavatz JM, J of Investigative Dermatology, 118 (4), 2002, 678-685). In a more recent study Hara et al. (Hara-Chikuma, Mariko; Verkman, A S, Biology Of The Cell / Under The Auspices Of The European Cell Biology Organization, (97), 7, 2005, p. 479-486) suggest that the glycerol rather than the water transporting function of AQP3 is important in skin physiology as the glycerol content of AQP-3 deficient mice is only reduced in the stratum corneum and in the epidermis. Accordingly the dry and relatively inelastic skin in AQP-3 null mice is probably related to the humectant properties of glycerol and the impaired stratum corneum repair due to impaired epidermal biosynthetic function.

Moreover AQP-3 is implicated in the triglyceride content of the epidermis and contributes partially to the lipid composition of the stratum corneum and ceramides. The water and associated transfer of electrolytes is beneficial for cells communication, reparation and drainage. Therefore AQP-3 regulating factors are helpful for the treatment of skin diseases associated with altered skin, water content, lipidic disorders and cells communication dysfunctions (WO 2001/37799).

Functionality of the epidermis can also be altered by an impairment of the stratum corneum organization and more generally by a poor differentiation of keratinocytes leading to a decrease of

the barrier function. Genetic or chronic deficiencies on ceramides, (pro-)filaggrin, Natural Moisturizing Factor etc. can be origins for a poor differentiation of keratinocytes.

Filaggrin in particular is important in the organization of lamellar corneocytes and consequently in the maintenance of skin water content and/or of the biological and physical body integrity.

- 5 Filaggrin is a basic, histidine-rich protein synthesized by cells of keratinizing epithelia that support major physiological functions in aged epidermis. Its protein precursor profilaggrin constitutes a major component of keratohyalin granules in the epidermal granular layer (Kanitakis J, Ramirez-Bosca A, Reano A, Viac J, Roche P, Thivolet J. Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol. 1988, 412(4), 375-82). Obtained by dephosphorylation of profilaggrin the filaggrin filament-associated
- 10 protein interacts with keratin to aggregate it in the stratum corneum of mammalian epidermis during the terminal differentiation of keratinocytes into corneocytes. It therefore plays a role in the organization of lamellar corneocytes and the cells cohesion, stratum corneum resistance and flexibility as well as in epidermal barrier function.

- The present invention relates to compounds from *Centella asiatica* selected from the group
- 15 consisting of madecassoside, terminolide, asiaticoside, madecassic acid and asiatic acid for improving the differentiation of keratinocytes and for enhancing the epidermal functionality.

Subject of the present invention is the use of at least one compound selected from the group consisting of madecassoside, terminolide, asiaticoside, madecassic acid and asiatic acid for improving the differentiation of keratinocytes and for enhancing the epidermal functionality.

- 20 The active compounds according to the invention are madecassoside, terminolide, asiaticoside, madecassic acid and asiatic acid and can be found e.g. in the plant *Centella asiatica* (e.g. from Madagascar). Extracts containing the active compounds of the present invention can be obtained e.g. by extraction of *Centella asiatica* as described in WO2004/062678. The extracts of *Centella asiatica* can comprise different pentacyclic triterpenes such as asiatic acid, asiaticoside, madecassic acid, madecassoside and/or terminolide. The active compounds can be isolated from the extracts
- 25 of *Centella asiatica* as described in WO2004/062678. The compounds of the present invention can be used as a single isolated substance or in combination with one or more other compounds of the invention.

- Subject of the present invention is also the use of a plant extract, preferably a plant extract of
- 30 *Centella asiatica*, comprising at least one of the active compounds.

Preference is given to a plant extract containing madecassoside and terminolide and optionally asiaticoside with an amount of more than 75%, preferably more than 85% by weight of the total

plant extract. Other impurities can be e.g. fatty acids. The ratio asiaticoside: (madecassoside+terminoloside) can be from 5:95 up to 25:75. The ratio of madecassoside and terminoloside can be from 30:70 up to 70:30, preferably 40:60 up to 60:40 by weight.

The solvent of the mixture is preferably a mixture of water and alcohol e.g. ethanol. The ratio of the volume between water and alcohol can be from 50:50 up to 90:10, preferably 75:25.

Preference is given to a mixture of madecassoside and terminoloside. The ratio of madecassoside and terminoloside can be from 30:70 up to 70:30, more preferably 40:60 up to 60:40 by weight. The purity of the mixture is preferably greater than 95% relative to the total weight of the mixture. More preferably the mixture contains no or only in trace amounts of asiaticoside.

Compounds, mixtures and extracts of the present invention can be administered in any form by any effective route, including, e.g., oral, parenteral, enteral, intravenous, intraperitoneal, topical, transdermal (e.g., using any standard patch), ophthalmic, nasally, local, non-oral, such as aerosol, inhalation, subcutaneous, intramuscular, buccal, sublingual, rectal, vaginal, intra-arterial, and intrathecal, etc. They can be administered alone, or in combination with any ingredient(s), active or inactive. Preference is given to a topical administration.

Compounds, mixtures and extracts of the present invention can be converted in a known manner into the usual formulations such as cosmetically or pharmaceutical compositions or compositions used as food supplement. These may be liquid or solid formulations e.g. without limitation normal and enteric coated tablets, capsules, pills, powders, granules, elixirs, tinctures, solution, suspensions, suppositories, syrups, solid and liquid aerosols, emulsions, pastes, creams, ointments, milks, gels, salves, serums, foams, shampoos, sticks or lotions.

Preference is given to a cosmetically composition in a form of an aqueous solution, a white or colored cream, ointment, milk, gel, salve, serum, foam, shampoo, stick, cream, paste, or lotion.

Compounds, mixtures and extracts of the present invention can be further combined with any other suitable additive or pharmaceutically acceptable carrier. Such additives include any of the substances already mentioned, as well as any of those used conventionally, such as those described in Remington: The Science and Practice of Pharmacy (Gennaro and Gennaro, eds, 20th edition, Lippincott Williams & Wilkins, 2000); Theory and Practice of Industrial Pharmacy (Lachman et al., eds., 3rd edition, Lippincott Williams & Wilkins, 1986); Encyclopedia of Pharmaceutical Technology (Swarbrick and Boylan, eds., 2nd edition, Marcel Dekker, 2002). These can be referred to herein as "pharmaceutically acceptable carriers" to indicate they are combined with the active drug and can be administered safely to a subject for therapeutic purposes.

- 5 -

The dosage of the compounds, mixtures and extracts of the present invention can be selected with reference to the other and/or the type of disease and/or the disease status in order to provide the desired therapeutic activity. These amounts can be determined routinely for a particular patient, where various parameters are utilized to select the appropriate dosage (e.g., type of disease, age of patient, disease status, patient health, weight, etc.), or the amounts can be relatively standard.

The amount of the administered active ingredient can vary widely according to such considerations as the particular compound and dosage unit employed, the mode and time of administration, the period of treatment, the age, sex, and general condition of the patient treated, the nature and extent of the condition treated, the rate of drug metabolism and excretion, the potential drug combinations and drug-drug interactions, and the like.

Preference is given to a composition comprising the active compounds, mixtures and extracts of the present invention in an amount of from 0.005% up to 10%, preferably 0.01 up to 5%, more preferably 0.1% up to 3% by weight of the total composition.

The pharmaceutical composition according to the invention is administered one or more, preferably up to three, more preferably up to two times per day. Preference is given to a topical administration.

Nevertheless, it may in some cases be advantageous to deviate from the amounts specified, depending on body weight, individual behaviour toward the active ingredient, type of preparation and time or interval over which the administration is effected. For instance, less than the aforementioned minimum amounts may be sufficient in some cases, while the upper limit specified has to be exceeded in other cases. In the case of administration of relatively large amounts, it may be advisable to divide these into several individual doses over the day.

Administration of the compounds, mixtures or extracts of the present invention can increase the expression of AQP-3 in the epidermic layer, preferably in the stratum corneum. Therefore compounds, mixtures or extracts of the present invention can be used for any disease or disorder associated with a deficiency of AQP-3 expression. When the compounds, mixtures or extracts of the present invention are administered e.g. the hydration of the skin, preferably hydration of the epidermis below the stratum corneum, can be maintained or improved. Also the elasticity and/or epidermal resistance of the skin can be maintained or restored. The lamellar organization of corneocytes can be improved and the cohesion of stratum corneum, epidermal barrier function and/or skin impermeability can be increased. Epidermal dehydration can be prevented and the regeneration of the protective lipid film of the skin can be supported. The electrolyte and water transfer of the skin can be improved. Osmolytic homeostasis can be activated and/or regenerated.

- 6 -

The epidermal detoxification, the communication of keratinocytes and or the reparation of the membrane of keratinocytes can be improved. Furthermore the drainage of keratinocytes can be enhanced.

5 Compounds, mixtures and extracts of the present invention can be used for improving the differentiation of keratinocytes, for enhancing the epidermal functionality and/or for treating or preventing of skin diseases or skin disorders such as epithelial lesions, atrophy, ulceration, hyperplasia, dysplasia, cutaneous squamous lesions, dry skin, dry atopic dermatitis, ichthyotic skins or atopic pytiriasis.

10 Compounds, mixtures and extracts of the present invention can also be used for the treatment and/or prevention of abnormalities of epidermal maturation and/or keratinisation.

15 Preferably compounds, mixtures and extracts of the present invention are used for activating AQP-3 e.g. in different epidermal layers. Therefore the transfer of water, water-soluble compounds such as electrolytes and/or glycerol can be increased which results in activation or regeneration of osmolyte homeostasis, enhancement of the keratinocytes drainage and so improvement of the subsequent cell detoxification, keratinocytes membranc reparation and lipidic disorders treatment, improvement of the keratinocytes communication (between cells and between epidermis on the one hand and the Epidermal Dermal Junction or the dermis on the other hand).

20 Preferably compounds, mixtures and extracts of the present invention are used for activating filaggrin whereby the activity on the differentiation of keratinocytes is affected. Therefore abnormalities of epidermal maturation and/or keratinisation can be treated, cohesion of stratum corneum (corneocytes lamellar organization), the epidermal harrier function and/or skin impermeability is increased, epidermal dehydration can be prevented, and the epidermal elasticity/flexibility and resistance is improved.

Examples:

Example 1: Evaluation of keratinocytes AQP-3 expression

Biopsies from abdominal plastic surgery (41-year-old woman) are used in this ex vivo experiment. They are cultured in a specific survival explants medium: BEM (BJO-EC's Explants Medium).

- 5 4 mg of a formulation containing 3% of a mixture of madecassoside and terminoloside is applied versus a control formulation (only excipients without active compounds) at the following days: D0, D1, D2, D3 and D4.

Histological studies are performed at the following after 0 h, 3 h, 24 h and 5 days.

- 10 After dehydration and paraffin impregnation, explants are fixed with Bouin's solution. They are then cut and stained by Masson's trichome stain.

Fluorescent immunomarking: Aquaporin-3 (AQP-3) is marked on frozen cryostat cut tissues with anti-AQP3 from Chemicon (polyclonal ref AB3276) with a biotin/streptavidin system and revealed by FITC.

Observations are done by electronic microscope. They are quantified as followed:

15 Expression of AQP 3 in the epidermic layers

time	0 h	3h	24h	5 days
Stratum corneum basis				
Control	0			
Excipient		0	0	3
Excipient + 3% mixture		0	1	4
Basal poles of basal keratinocytes				
Control	0			
Excipient		0	0	3
Excipient + 3% mixture		0	4	4

Absent: 0; weak: 1, very moderate: 2, moderate: 3, clear: 4, very clear: 5, high: 6

At 0 h, the AQP-3 expression is clearly visible in membranes (regular, pericellular presence). It is absent at the base of the stratum corneum, clear-cut in the epidermal upper layers, moderate in the basal layer and absent in the basal pole of basal keratinocytes (usually AQP-3 lacking area).

BHC 05.1.132

- 8 -

A time-dependent phenomenon is observed for the increase of AQP-3 expression in epidermis by administration of the mixture: AQP-3 is more clearly visualized after 3h, and even more after 24h. After 5 days an important development of the protein channels is observed at the basal pole of the basal keratinocytes. This particular location of AQP-3 is likely a favourable factor for the dermoepidermal communication, especially for the humic originally from vascularization, which is a known differentiation inductor.

Example 2: Evaluation of keratinocytes filaggrin synthesis

Biopsies from abdominal plastic surgery (41-year-old woman) are used in this ex vivo experiment. They are cultured in a specific survival explants medium: BEM (BIO-EC's Explants Medium).

4 mg of a formulation containing 3% of a mixture of madecassoside and terminololide is applied versus a control formulation (only excipients without active compounds) at the following days: D0, D1, D2, D3 and D4.

Histological studies are performed after 0 h, 3 h and 24 h.

After dehydration and paraffin impregnation, explants are fixed with Bouin's solution. They are then cut and stained by Masson's trichome stain.

Fluorescent immunomarking: Filaggrin is marked on frozen cryostat cut tissues with anti-filaggrin from BTI Cliniscience (clone OKTB1 ref BT 576) with a biotin/streptavidin system and revealed by FITC.

Observations are done by electronic microscope.

At 0 h filaggrin is normally expressed at the stratum corneum basis. After 3 h an increased expression is observed. After 24 h an increased fluorescence is observed in a greater number of cells layers (marking present in 9 to 10 layers from the stratum corneum basis).

The cohesion of the stratum corneum stratification is improved due to filaggrin. Its increased concentration in the upper granular layer leads to an enhancement of the organization and physical quality in the stratum corneum (apoptotic regulation) and a strengthening of the hydric affinity following its hydrolysis. Therefore the anti-dryness activity can be improved.

Example 3: Typical composition of a creams

Cream 1:

Ingredients (INCI, w/w%): 1.0% of active compound (e.g. mixture of madecassoside and terminoloside, or extract of Centella asiatica according to the invention), 1.5% of beheneth-10,
5 1.5% of beheneth-25, 5.0% of dycaprylyl carbonate, 5.0% of hexyl laurate, 5.0% of isohexadecane, 5.0% of cetearyl isononanoate, 1.0% of dimethicone, 2.0% of behenyl alcohol, 2.0% of hydrogenated vegetable glycerides, 0.5% of phenoxyethanol and parabens, 0.5% of tocopherol acetate, 3.0% of glycerol, 2.0% butylenes glycol, 0.1% of xanthan gum, 0.2% of carbomer and water (qs 100).

10 Cream 2:

Ingredients (INCI, w/w%): 1.0% of active compound (e.g. mixture of madecassoside and terminoloside, or extract of Centella asiatica according to the invention), 5.0% of cetearyl glucoside and cetearyl alcohol, 5.0% of caprylic/capric triglyceride, 5.0% of squalane, 3.0% of cetearyl isononanoate, 2.0% of dimethicone crosspolymer, 1.5% of stearyl alcohol, 5.0% of
15 dycaprylyl carbonate, 0.1% parabens, 0.5% of phenoxyethanol and parabens, 2.0% of glycerol, 0.3% of carbomer, 2.0% of PEG 32, 0.2% of xanthan gum, 2.0% of aluminium starch octenyl succinate and water (qs 100).

- 10 -

What is claimed is:

1. Use of at least one compound from *Centella asiatica* selected from the group consisting of madecassoside, terminoloside, asiaticoside, madecassic acid and asiatic acid for the manufacture of a composition for activating AQP-3 and/or filaggrin.
- 5 2. Use of claim 1 for improving the differentiation of keratinocytes and/or for enhancing the epidermal functionality.
3. Use of any of claims 1 or 2 for the treatment and/or prevention of abnormalities of epidermal maturation and/or keratinisation.
4. Use of any of claims 1 or 2 for the treatment of abnormalities of epidermal maturation
10 and/or keratinisation.
5. Use of any of claims 1 or 2 for increasing the cohesion of stratum corneum (corneocytes lamellar organization), the epidermal barrier function and/or skin impermeability.
6. Use of any of claims 1 or 2 for preventing of epidermal dehydration.
7. Use of any of claims 1 or 2 for improving the epidermal elasticity/flexibility and
15 resistance.
8. Use of any of claims 1 or 2 for increasing the transfer of water, water-soluble compounds and/or glycerol.
9. Use of any of claims 1 or 2 for activation or regeneration of osmolytic homeostasis, enhancement of the keratinocytes drainage and so improvement of the subsequent cell
20 detoxification, keratinocytes membrane reparation and lipidic disorders treatment, improvement of the keratinocytes communication (between cells and between epidermis on the one hand and the Epidermal Dermal Junction or the dermis on the other hand).
10. Use of any of claims 1 or 2 for treating or preventing of skin diseases or skin disorders such as epithelial lesions, atrophy, ulceration, hyperplasia, dysplasia, cutaneous squamous
25 lesions, dry skin, dry atopic dermatitis, ichthyotic skins or atopic pytiriasis.
11. Use of any of claims 1 to 10 of a mixture comprising madecassoside and terminoloside.
12. Use of claim 11 wherein the ratio between madecassoside and terminoloside is from 30:70 up to 70:30 by weight.

- 11 -

13. Use of any of claims 1 to 12 of a plant extract comprising least one compound selected from the group consisting of madecassoside, terminololide, asiaticoside, madecassic acid and asiatic acid.
14. Use of claim 13 wherein the plant extract is an extract of *Centella asiatica*.
- 5 15. Use of any of claims 13 to 14 wherein the plant extract contains a mixture of madecassoside and terminololide in an amount of more than 75% by weight of the total extract.
16. Use of any of claims 13 to 15 wherein the solvent of the extract is a mixture of water and ethanol.

- 12 -

Use of Compounds from Centella Asiatica

Abstract

The present invention relates to the use of compounds from Centella Asiatica in cosmetics, pharmaceuticals and food supplements for improving keratinocytes differentiation and for enhancing the epidermal functionality.

Use of Compounds from Centella Asiatica

Abstract

The present invention relates to the use of compounds from Centella Asiatica in cosmetics, pharmaceuticals and food supplements for improving keratinocytes differentiation and for enhancing the epidermal functionality.

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
18 May 2007 (18.05.2007)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2007/054211 A1

(51) International Patent Classification:
A61K 36/23 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/EP2006/010355

(22) International Filing Date: 27 October 2006 (27.10.2006)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
05292384.4 9 November 2005 (09.11.2005) EP

(71) Applicant (for all designated States except US): BAYER
CONSUMER CARE AG [CH/CH]; Peter Merian-Str. 84,
CH-4052 Basel (CH).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): SENE, Gérard
[FR/FR]; 151, Rue Léon-Maurice Nordmann, F-75013
Paris (FR). LOISEAU, Alain [FR/FR]; 15, Chemin
du Luy Bouillon, F-64140 Arzacq (FR). LEPETIT,
Jean-Christophe [FR/FR]; 109 Avenue Henri Barbusse,
F-92700 Colombes (FR).

(74) Agent: LINHART, Angela; c/o Bayer Healthcare Ag,
Law and Patents, Patents and Licensing, 51368 Leverkusen
(DE).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN,
CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS,
JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS,
LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY,
MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS,
RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT,
RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,
GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— with international search report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guid-
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-
ning of each regular issue of the PCT Gazette.

WO 2007/054211 A1

(54) Title: USE OF COMPOUNDS FROM CENTELLA ASIATICA

(57) Abstract: The present invention relates to the use of compounds from Centella Asiatica in cosmetics, pharmaceuticals and food supplements for improving keratinocytes differentiation and for enhancing the epidermal functionality.

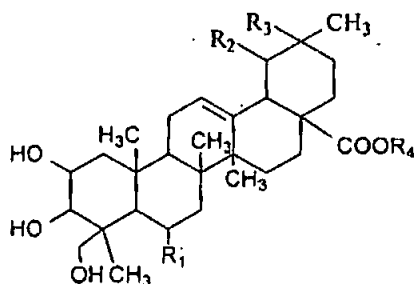
Use of Compounds from Centella Asiatica

The present invention relates to the use of compounds from Centella Asiatica in cosmetics, pharmaceuticals and food supplements for improving keratinocytes differentiation and for enhancing the epidermal functionality.

- 5 Centella asiatica, also known as Violette marronne (Reunion Island), as Gotu Kola or as Indian pennywort (India), or as Centella repanda (North America) and as Talapetraka (Madagascar), is a polymorphous herb and belongs to the family of Umbelliferae (Apiaceae), particularly to the Hydrocotyle subfamily that grows wild in pantropical moist and shady regions at an ideal altitude of 600 to 1200m. Centella asiatica includes three varieties called Typica, Abyssinica and
- 10 Floridana. It is known and used for healing, sedative, analgesic, antidepressant, antiviral and antimicrobial properties. The biological activity is enabled by active molecules from the triterpene series such as Asiaticoside (I), Madecassoside (under its 2 isomeric forms : madecassoside itself and terminoloside) (II), Asiatic acid (III) and Madecassic Acid (IV). They contribute to the natural defense of the plants against environmental aggression thanks to the anti-bacterial properties of the
- 15 genins (III, IV), which are obtained by hydrolysis from the heterosidic reserve form (I, II).

Extracts containing these compounds are used in the pharmaceutical and cosmetic industry regarding skin care and skin diseases, respectively for treating wounds, scars and venous insufficiency and for dermis restoration and anti-inflammatory properties as disclosed in WO2004/062678.

20



		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
I	Asiaticoside	H	CH ₃	H	Glu-Glu-Rha
II	Madecassoside	OH	CH ₃	H	Glu-Glu-Rha
	Terminoloside	OH	H	CH ₃	Glu-Glu-Rha
III	Asiatic Acid	H	CH ₃	H	H
IV	Madecassic Acid	OH	CH ₃	H	H

- 25 Aquaporins were discovered in 1988. These transmembrane proteins serve to facilitate water transport through the skin down osmotic gradients with low activation energy. Eleven aquaporins have been identified in mammals to date. Aquaporin-3 (AQP-3) is unique in its structure (lowest homology with other aquaporins) and its function (Ishibashi, K; Sasaki, S; Fushimi, K; Yamamoto, T; Kuwahara, M; Marumo, F, The American Journal Of Physiology, 272 (2) 2, 1997, p. F235-

u

22

F241). It is a glycerol and water transporter (aquaglyceroporin) regulated by p73 (Zheng, X; Chen, X, FEBS Letters, Volume 489, Issue 1, January 26, 2001, Pages 4-7). During development of the skin AQP-3 expression begins late in fetal life (Matsuzaki, T; Suzuki, T; Koyama, H; Tanaka, S; Takata, K, The Journal Of Histochemistry And Cytochemistry: Official Journal Of The
5 Histochemistry Society, 47, (10), 1999, p. 1275-1286). Aquaporins serve as water channels and increase the permeability of membranes to water for as much as ten-fold. They are located in basal layers of epitheliums of numerous organs like kidney, lung or intestines (Takata K, Matzuaki T, Tajika Y, Prog Histem Cytochem 2004 (39) 1-835). Especially in the skin AQP-3 is located in keratinocytes (Sougrat R, Morand M, Gondran C, J Invest Dermatol 2002 (118) 678-85). The
10 abundance of basolateral AQP-3 in epithelial tissue and its expression in many non-epithelial cells suggest that this aquaglyceroprotein is a major participant in osmolyte homeostasis in the human body and plays an important role in the hydration of the skin (Mobasheri, A; Wray, S; Marples, D, J Mol Histol, (36), 1-2, 2005, p. 1-14).

Several studies on mice deficient in AQP-3 demonstrate more directly the influence of AQP-3 for
15 the state and functionality of the skin. According to Hara et al. (Hara, Mariko; Ma, Ronghui; Verkman AS, J of Biol Chem 277, 2002, (48), p 46616-46621) SHK1 mice have dry skin with reduced stratum corneum hydration, decreased elasticity and impaired functionality. Sougrat et al. propose AQP-3 as a water-clamp intended for improving the hydration of the epidermis below the stratum corneum (Sougrat R; Morand M; Gondran C; Barre, O; Gobin R; Bonte F; Dumas M;
20 Verbavatz JM, J of Investigative Dermatology, 118 (4), 2002, 678-685). In a more recent study Hara et al. (Hara-Chikuma, Mariko; Verkman, A S, Biology Of The Cell / Under The Auspices Of The European Cell Biology Organization, (97), 7, 2005, p. 479-486) suggest that the glycerol rather than the water transporting function of AQP3 is important in skin physiology as the glycerol content of AQP-3 deficient mice is only reduced in the stratum corneum and in the epidermis.
25 Accordingly the dry and relatively inelastic skin in AQP-3 null mice is probably related to the humectant properties of glycerol and the impaired stratum corneum repair due to impaired epidermal biosynthetic function.

Moreover AQP-3 is implicated in the triglyceride content of the epidermis and contributes partially to the lipid composition of the stratum corneum and ceramides. The water and associated transfer
30 of electrolytes is beneficial for cells communication, reparation and drainage. Therefore AQP-3 regulating factors are helpful for the treatment of skin diseases associated with altered skin, water content, lipidic disorders and cells communication dysfunctions (WO 2001/37799).

Functionality of the epidermis can also be altered by an impairment of the stratum corneum organization and more generally by a poor differentiation of keratinocytes leading to a decrease of

the skin barrier function. Genetic or chronic deficiencies on ceramides, (pro-)filaggrin, Natural Moisturizing Factor, Transglutaminase etc. can be origins for a poor differentiation and a deficient maturation of keratinocytes.

5 Filaggrin in particular is important in the organization of lamellar corneocytes and consequently in the maintenance of skin water content and/or of the biological and physical skin integrity. Filaggrin is a basic, histidine-rich protein synthesized by cells of keratinizing epithelia that support major physiological functions in epidermis. Its protein precursor profilaggrin constitutes a major component of keratohyalin granules in the epidermal granular layer (Kanitakis J, Ramirez-Bosca A, Reano A, Viac J, Roche P, Thivolet J. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol.* 1988, 412(4), 10 375-82). Obtained by dephosphorylation of profilaggrin, the filaggrin filament-associated protein interacts with keratin to aggregate it in the stratum corneum of mammalian epidermis during the terminal differentiation of keratinocytes into corneocytes. It therefore plays a role in the organization of lamellar corneocytes and the cells cohesion, stratum corneum resistance and flexibility as well as in epidermal barrier function.

15 Another example for epidermal functionality key compounds concerns transglutaminases, which play an important role in mature keratinocytes. Transglutaminases (TGM) are a widely distributed group of calcium-dependent enzymes that catalyse formation of covalent isopeptide bonds, the obtained cross-linked products are highly resistant to mechanical challenge and proteolytic degradation (*Biochem J*, 368, 2002, 377-96). Four out of the nine TGM discovered to date are 20 expressed in the epidermis. These enzymes have been shown to be expressed maximally in the upper spinous and granular cells of the epidermis (*Cell*, 40, 1985, 685-695; *Differentiation*, 33, 1986, 130-141).

TGM are particularly essential in the terminal differentiation of the epidermis, where they heavily cross-link keratins and a range of differentiation-specific structural proteins (such as involucrin, 25 loricrin, etc.), in the formation of the cornified cell envelope in the biogenesis of the stratum corneum (*Bioessays*, 24, 2002, 789-800; *J. Cell Sc.*, 95, 1990, 631-638). Mutations of TGM and their substrates cause severe skin diseases: for example, dysfunction of TGM-1 have been shown to cause lamellar ichthyosis, a disease characterized by excessive scaling and shedding of the outer epidermis (*Am. J. Hum. Genet.*, 77, 2005, 907-917; *Nat Rev Mol Cell Biol*, 6, 2005, 328-340).

The present invention relates to compounds from *Centella asiatica* selected from the group consisting of madecassoside, terminololide, asiaticoside, madecassic acid and asiatic acid for improving the differentiation of keratinocytes and for enhancing the epidermal functionality.

5 Subject of the present invention is the use of at least one compound selected from the group consisting of madecassoside, terminololide, asiaticoside, madecassic acid and asiatic acid for improving the differentiation of keratinocytes and for enhancing the epidermal functionality thanks to AQP-3, filaggrin and/or transglutaminase activation .

10 The active compounds according to the invention are madecassoside, terminololide, asiaticoside, madecassic acid and asiatic acid and can be found e.g. in the plant *Centella asiatica* (e.g. from Madagascar). Extracts containing the active compounds of the present invention can be obtained e.g. by extraction of *Centella asiatica* as described in WO2004/062678. The extracts of *Centella asiatica* can comprise different pentacyclic triterpenes such as asiatic acid, asiaticoside, madecassic acid, madecassoside and/or terminololide. The active compounds can be isolated from the extracts of *Centella asiatica* as described in WO2004/062678. The compounds of the present invention can
15 be used as a single isolated substance or in combination with one or more other compounds of the invention.

Subject of the present invention is also the use of a plant extract, preferably a plant extract of *Centella asiatica*, comprising at least one of the active compounds.

20 Preference is given to a plant extract containing madecassoside and terminololide and optionally asiaticoside with an amount of more than 75%, preferably more than 85% by weight of the total plant extract. Other impurities can be e.g. fatty acids. The ratio asiaticoside: (madecassoside+terminololide) can be from 5:95 up to 25:75. The ratio of madecassoside and terminololide can be from 30:70 up to 70:30, preferably 40:60 up to 60:40 by weight.

25 The solvent of the mixture is preferably a mixture of water and alcohol e.g. ethanol. The ratio of the volume between water and alcohol can be from 50:50 up to 90:10, preferably 75:25.

Preference is given to a mixture of madecassoside and terminololide. The ratio of madecassoside and terminololide can be from 30:70 up to 70:30, more preferably 40:60 up to 60:40 by weight. The purity of the mixture is preferably greater than 95% relative to the total weight of the mixture. More preferably the mixture contains no or only in trace amounts of asiaticoside.

30 Compounds, mixtures and extracts of the present invention can be administered in any form by any effective route, including, e.g., oral, parenteral, enteral, intravenous, intraperitoneal, topical, transdermal (e.g., using any standard patch), ophthalmic, nasally, local, non-oral, such as aerosol,

inhalation, subcutaneous, intramuscular, buccal, sublingual, rectal, vaginal, intra-arterial, and intrathecal, etc. They can be administered alone, or in combination with any ingredient(s), active or inactive. Preference is given to a topical administration.

Compounds, mixtures and extracts of the present invention can be converted in a known manner
5 into the usual formulations such as cosmetic or pharmaceutical compositions or compositions used as food supplement. These may be liquid or solid formulations e.g. without limitation normal and enteric coated tablets, capsules, pills, powders, granules, elixirs, tinctures, solution, suspensions, suppositories, syrups, solid and liquid aerosols, emulsions, pastes, creams, ointments, milks, gels, salves, serums, foams, shampoos, sticks or lotions.

10 Preference is given to a cosmetic composition in a form of an aqueous solution, a white or colored cream, ointment, milk, gel, salve, serum, foam, shampoo, stick, cream, paste, or lotion.

Compounds, mixtures and extracts of the present invention can be further combined with any other suitable additive or pharmaceutically acceptable carrier. Such additives include any of the substances already mentioned, as well as any of those used conventionally, such as those described
15 in Remington: The Science and Practice of Pharmacy (Gennaro and Gennaro, eds, 20th edition, Lippincott Williams & Wilkins, 2000); Theory and Practice of Industrial Pharmacy (Lachman et al., eds., 3rd edition, Lippincott Williams & Wilkins, 1986); Encyclopedia of Pharmaceutical Technology (Swarbrick and Boylan, eds., 2nd edition, Marcel Dekker, 2002). These can be referred to herein as "pharmaceutically or cosmetically acceptable carriers" to indicate they are
20 combined with the active drug and can be administered safely to a subject for therapeutic purposes.

The dosage of the compounds, mixtures and extracts of the present invention can be selected with reference to the other and/or the type of disease and/or the disease status in order to provide the desired therapeutic activity. These amounts can be determined routinely for a particular patient, where various parameters are utilized to select the appropriate dosage (e.g., type of disease, age of
25 patient, disease status, patient health, weight, etc.), or the amounts can be relatively standard.

The amount of the administered active ingredient can vary widely according to such considerations as the particular compound and dosage unit employed, the mode and time of administration, the period of treatment, the age, sex, and general condition of the patient treated, the nature and extent of the condition treated, the rate of drug metabolism and excretion, the potential drug combinations
30 and drug-drug interactions, and the like.

Preference is given to a composition comprising the active compounds, mixtures and extracts of the present invention in an amount of from 0.005% up to 10%, preferably 0.01 up to 5%, more preferably 0.1% up to 3% by weight of the total composition.

The pharmaceutical or cosmetic composition according to the invention is administered one or
5 more, preferably up to three, more preferably up to two times per day. Preference is given to a topical administration.

Nevertheless, it may in some cases be advantageous to deviate from the amounts specified, depending on body weight, individual behaviour toward the active ingredient, type of preparation and time or interval over which the administration is effected. For instance, less than the
10 aforementioned minimum amounts may be sufficient in some cases, while the upper limit specified has to be exceeded in other cases. In the case of administration of relatively large amounts, it may be advisable to divide these into several individual doses over the day.

Administration of the compounds, mixtures or extracts of the present invention can increase the expression of AQP-3 in the epidermis, preferably in the living layers (basal keratinocytes, stratum
15 granulosum & spinosum), the expression of filaggrin and/or of transglutaminase. Therefore compounds, mixtures or extracts of the present invention can be used for any disease or disorder associated with a deficiency of AQP-3, filaggrin and/or transglutaminase expression. When the compounds, mixtures or extracts of the present invention are administered e.g. the hydration of the skin, preferably hydration of the epidermis below the stratum corneum, can be maintained or
20 improved. Also the elasticity and/or epidermal resistance of the skin can be maintained or restored. The lamellar organization of corneocytes can be improved and the cohesion of stratum corneum, epidermal barrier function and/or skin impermeability can be increased. Epidermal dehydration can be prevented and the regeneration of the protective lipid film of the skin can be supported. The electrolyte and water transfer of the skin can be improved. Osmolytic homeostatis can be activated
25 and/or regenerated. The epidermal detoxification, the communication of keratinocytes and/or the reparation of the membrane of keratinocytes can be improved. Furthermore the drainage of keratinocytes can be enhanced.

Compounds, mixtures and extracts of the present invention can be used for improving the differentiation of keratinocytes, for enhancing the epidermal functionality and/or for treating or
30 preventing of skin diseases or skin disorders such as epithelial lesions, atrophy, ulceration, hyperplasia, dysplasia, cutaneous squamous lesions, dry skin, dry atopic dermatitis, ichthyotic skins or atopic pytiriasis.

27

Compounds, mixtures and extracts of the present invention can also be used for the treatment and/or prevention of abnormalities of epidermal maturation and/or keratinisation.

Preferably compounds, mixtures and extracts of the present invention are used for activating AQP-3 e.g. in different epidermal layers. Therefore the transfer of water, water-soluble compounds such as electrolytes or neutral solutes, and/or the transfer of glycerol can be increased which result in activation or regeneration of osmolyte homeostasis, enhancement of the keratinocytes drainage and so improvement of the subsequent cell detoxification, keratinocytes membrane reparation and lipidic disorders treatment, improvement of the keratinocytes communication (between cells and between epidermis on the one hand and the Epidermal Dermal Junction or the dermis on the other hand).

Preferably compounds, mixtures and extracts of the present invention are used for activating filaggrin whereby the activity on the differentiation of keratinocytes is affected. Therefore abnormalities of epidermal maturation and/or keratinisation can be treated, cohesion of stratum corneum (corneocytes lamellar organization), the epidermal barrier function and/or skin impermeability is increased, epidermal dehydration can be prevented, and the epidermal elasticity/flexibility and resistance is improved.

Preferably compounds, mixtures and extracts of the present invention are used for activating transglutaminase whereby the activity on the maturation of keratinocytes is affected. Therefore abnormalities of epidermal maturation and/or keratinisation can be treated, cohesion of stratum corneum (corneocytes lamellar organization), the epidermal barrier function and/or skin impermeability is increased and the epidermal resistance is improved.

28

Examples:Example 1: Evaluation of keratinocytes AQP-3 expression

Biopsies from abdominal plastic surgery (41-year-old woman) are used in this ex vivo experiment. They are cultured in a specific survival explants medium: BEM (BIO-EC's Explants Medium).

- 5 4 mg of a formulation containing 3% of a mixture of madecassoside and terminoloside is applied versus a control formulation (only excipient without active compounds) at the following days: D0, D1, D2, D3 and D4.

Histological studies are performed at the following after 0 h, 3 h, 24 h and 5 days.

- 10 After dehydration and paraffin impregnation, explants are fixed with Bouin's solution. They are then cut and stained by Masson's trichome stain.

Fluorescent immunomarking: Aquaporin-3 (AQP-3) is marked on frozen cryostat cut tissues with anti-AQP3 from Chemicon (polyclonal ref AB3276) with a biotin/streptavidin system and revealed by FITC. Observations are done by electronic microscope and quantification by image analysis. They are quantified as followed:

- 15 *Observations of the expression of AQP 3 in the epidermic layers*

time	0 h	3h	24h	5 days
Stratum corneum basis				
Control	0			
Excipient		0	0	3
Excipient + 3% mixture		0	1	4
Basal poles of basal keratinocytes				
Control	0			
Excipient		0	0	3
Excipient + 3% mixture		0	4	4

Absent: 0; weak: 1, very moderate: 2, moderate: 3, clear: 4, very clear: 5, high: 6

At 0 h, the AQP-3 expression is clearly visible in membranes (regular, pericellular presence). It is absent at the base of the stratum corneum, clear-cut in the epidermal upper layers, moderate in the basal layer and absent in the basal pole of basal keratinocytes (usually AQP-3 lacking area).

- 20 A time-dependent phenomenon is observed for the increase of AQP-3 expression in epidermis by administration of the mixture: AQP-3 is more clearly visualized after 3h, and even more after 24h. After 5 days an important development of the protein channels is observed at the basal pole of the

29

basal keratinocytes. This particular location of AQP-3 is likely a favourable factor for the dermoepidermal communication, especially for the heme originally from vascularization, which is a known differentiation inductor.

Quantification of the expression of AQP 3 in the epidermic layers

- 5 Percentage of the surface occupied by the aquaporin 3 at day 5

	In the living epidermis		In the basal pole of the basal keratinocytes	
	Average	Deviation	Average	Deviation
Excipient	42,9	1,9	31,1	1,8
Excipient + 3% mixture	56,9	3,1	44,9	3,7

On day 5 and by comparison to the excipient, the formulation containing 3% of a mixture Madecassoside - Terminoloside significantly increases the AQP-3 content by 33% in the living epidermis and by 44% in the basal pole of the basal keratinocytes layer.

10

Example 2: Evaluation of keratinocytes filaggrin synthesis

Biopsies from abdominal plastic surgery (41-year-old woman) are used in this ex vivo experiment. They are cultured in a specific survival explants medium: BEM (BIO-EC's Explants Medium).

- 15 4 mg of a formulation containing 3% of a mixture of madecassoside and terminoloside is applied versus a control formulation (only excipients without active compounds) at the following days: D0, D1, D2, D3 and D4.

Histological studies are performed after 0 h, 3 h and 24 h.

After dehydration and paraffin impregnation, explants are fixed with Bouin's solution. They are then cut and stained by Masson's trichome stain.

- 20 Fluorescent immunomarking: Filaggrin is marked on frozen cryostat cut tissues with anti-filaggrin from BTI Cliniscience (clone OKTB1 ref BT 576) with a biotin/streptavidin system and revealed by FITC. Observations are done by electronic microscope and quantification by image analysis.

Observations of the expression of AQP 3 in the epidermic layers

At 0 h filaggrin is normally expressed at the stratum corneum basis. After 3 h an increased expression is observed. After 24 h an increased fluorescence is observed in a greater number of cells layers (marking present in 9 to 10 layers from the stratum corneum basis).

The cohesion of the stratum corneum stratification is improved due to filaggrin. Its increased concentration in the upper granular layer leads to an enhancement of the organization and physical quality in the stratum corneum (apoptotic regulation) and a strengthening of the hydric affinity following its hydrolysis. Therefore the anti-dryness activity can be improved.

Quantification of the expression of filaggrin in the epidermic layers

Percentage of the surface occupied by filaggrin in the epidermis at after 24h

	t = 0 h		t = 24h	
	Average	Deviation	Average	Deviation
Blank	9,8	1,4		
Excipient			5,9	1,8
Excipient + 3% mixture			9,4	1,7

On day 1 and by comparison to the excipient, the formulation containing 3% of a mixture Madecassoside - Terminoloside significantly increases the filaggrin content of epidermis by 59%.

Example 3: Evaluation of keratinocytes transglutaminase synthesis

Biopsies from abdominal plastic surgery (41-year-old woman) are used in this ex vivo experiment.

They are cultured in a specific survival explants medium: BEM (BIO-EC's Explants Medium).

4 mg of a formulation containing 3% of a mixture of madecassoside and terminoloside is applied versus a control formulation (only excipients without active compounds) at the following days: D0, D1, D2, D3 and D4.

Histological studies are performed after 0 h, 3 h and 24 h.

After dehydration and paraffin impregnation, explants are fixed with Bouin's solution. They are then cut and stained by Masson's trichome stain.

Fluorescent immunomarking: Transglutaminase is marked on frozen cryostat cut tissues with anti-membrane transglutaminase from Harbor Bio-products (MAB Clone B.C1) with a

31

biotin/streptavidin system and revealed by FITC. Observations are done by electronic microscope and quantification by image analysis.

Observations of the expression of transglutaminase in the epidermic layers

On day0, the transglutaminase expression is light and irregular.

- 5 After 24 hours, the immunostaining is clear on explants receiving 3% of the Madecassoside/Terminolosite blend. It is clearly lighter on thoses receiving the excipient.

Quantification of the expression of transglutaminase in the epidermic layers

Percentage of the surface occupied by transglutaminase in the epidermis after 24h

	t = 0 h		t = 24 h	
	Average	Deviation	Average	Deviation
Blank	0,73	0,51		
Excipient			0,02	0,02
Excipient + 3% mixture			0,20	0,14

10

On day 1 and by comparison to the excipient, the formulation containing 3% of a mixture Madecassoside - Terminolosite moderately but significantly increases the transglutaminase.

Example 4: Typical composition of a cream

- 15 Cream 1:

Ingredients (INCI, w/w%): 1.0% of active compound (e.g. mixture of madecassoside and terminolosite, or extract of Centella asiatica according to the invention), 1.5% of beheneth-10, 1.5% of beheneth-25, 5.0% of dycaprylyl carbonate, 5.0% of hexyl laurate, 5.0% of isohexadecane, 5.0% of cetearyl isononaoate, 1.0% of dimethicone, 2.0% of behcnyl alcohol, 2.0%
20 of hydrogenated vegetable glycerides, 0.5% of phenoxyethanol and parabens, 0.5% of tocopherol acetate, 3.0% of glycerol, 2.0% butylenes glycol, 0.1% of xanthan gum, 0.2% of carbomer and water (qs 100).

Cream 2:

32

Ingredients (INCI, w/w%): 1.0% of active compound (e.g. mixture of madecassoside and terminoloside, or extract of *Centella asiatica* according to the invention), 5.0% of cetearyl glucoside and cetearyl alcohol, 5.0% of caprylic/capric triglyceride, 5.0% of squalane, 3.0% of cetearyl isononaoate, 2.0% of dimethicone crosspolymer, 1.5% of stearyl alcohol, 5.0% of dycaprylyl carbonate, 0.1% parabens, 0.5% of phenoxyethanol and parabens, 2.0% of glycerol, 0.3% of carbomer, 2.0% of PEG 32, 0.2% of xanthan gum, 2.0% of aluminium starch octenyl succinate and water (qs 100):

What is claimed is:

1. Use of at least one compound from *Centella asiatica* selected from the group consisting of madecassoside, terminoloside, asiaticoside, madecassic acid and asiatic acid for the manufacture of a composition for activating AQP-3, filaggrin and/or transglutaminase.
- 5 2. Use of claim 1 for improving the differentiation of keratinocytes and/or for enhancing the epidermal functionality.
3. Use of any of claims 1 or 2 for the treatment and/or prevention of abnormalities of epidermal maturation and/or keratinisation.
4. Use of any of claims 1 or 2 for the treatment of abnormalities of epidermal maturation
10 and/or keratinisation.
5. Use of any of claims 1 or 2 for increasing the cohesion of stratum corneum, the epidermal barrier function and/or skin impermeability.
6. Use of any of claims 1 or 2 for preventing of epidermal dehydration.
7. Use of any of claims 1 or 2 for improving the epidermal elasticity/flexibility and
15 resistance.
8. Use of any of claims 1 or 2 for increasing the transfer of water, water-soluble compounds and/or glycerol.
9. Use of any of claims 1 or 2 for activation or regeneration of osmolyte homeostasis, enhancement of the keratinocytes drainage and so improvement of the subsequent cell
20 detoxification, keratinocytes membrane reparation and lipidic disorders treatment, improvement of the keratinocytes communication.
10. Use of any of claims 1 or 2 for treating or preventing of skin diseases or skin disorders such as epithelial lesions, atrophy, ulceration, hyperplasia, dysplasia, cutaneous squamous lesions, dry skin, dry atopic dermatitis, ichthyotic skins or atopic pytiriasis.
- 25 11. Use of any of claims 1 to 10 of a mixture comprising madecassoside and terminoloside.
12. Use of claim 11 wherein the ratio between madecassoside and terminoloside is from 30:70 up to 70:30 by weight.

13. Use of any of claims 1 to 12 of a plant extract comprising least one compound selected from the group consisting of madecassoside, terminoloside, asiaticoside, madecassic acid and asiatic acid.
14. Use of claim 13 wherein the plant extract is an extract of *Centella asiatica*.
- 5 15. Use of any of claims 13 to 14 wherein the plant extract contains a mixture of madecassoside and terminoloside in an amount of more than 75% by weight of the total extract.
16. Use of any of claims 13 to 15 wherein the solvent of the extract is a mixture of water and ethanol.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2006/010355A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K36/23

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)
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 practical, search terms used)

EPO-Internal, MEDLINE, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2004/062678 A (ROCHE CONSUMER HEALTH LTD [CH]; LOISEAU ALAIN [FR]; SENE GERARD [FR];) 29 July 2004 (2004-07-29) cited in the application page 8, line 12 - page 11, line 13 examples 1,3,4 claims 1,10,12-23 ----- -/-	1-16

☒ 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 document 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.
"A" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

31 January 2007

Date of mailing of the international search report

08/02/2007

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 051 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3018

Authorized officer

Ganschow, Silke

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2006/010355

36

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	LEPETIT J-C: "MADECASSOSIDE - IMMUNE REGULATION OF PSORIASIS-LIKE DISORDERS BY NATURAL ANTI-INFLAMMATORY ACTIVE INGREDIENT" SOFW-JOURNAL SEIFEN, OELE, FETTE, WACHSE, VERLAG FUR CHEMISCHE INDUSTRIE, AUGSBURG, DE, vol. 131, no. 4, April 2005 (2005-04), page 28,30,32,34, XP008060903 ISSN: 0942-7694 the whole document	1-11, 13-16
X	WO 2005/034891 A2 (ACCESS BUSINESS GROUP INT LLC [US]; ZIMMERMAN AMY C [US]; SCIMECA JOHN) 21 April 2005 (2005-04-21) paragraph [0031] - paragraph [0038] paragraph [0045] paragraph [0089] - paragraph [0095] example 1 figures 1-8	1-11,13, 14
X	BONNET G F: "TRAITEMENT DES CELLULITES LOCALISEES PAR LE MADECASSOL" PROGRES MEDICAL, SN, PARIS,, FR, vol. 102, no. 3, March 1974 (1974-03), pages 109-110, XP001030401 ISSN: 0033-0450 the whole document	1,9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2006/010355

33

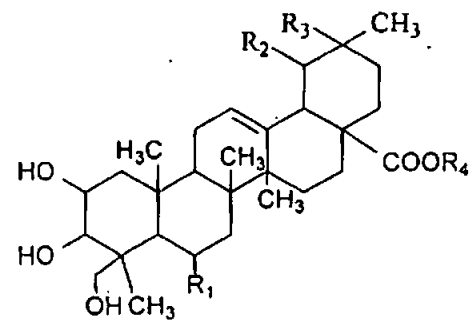
Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2004062678 A	29-07-2004	AU 2003296799 A1	10-08-2004
		CA 2509421 A1	29-07-2004
		CN 1774257 A	17-05-2006
		EP 1569672 A1	07-09-2005
		FR 2848117 A1	11-06-2004
		JP 2006516962 T	13-07-2006
		KR 20060069349 A	21-06-2006
		US 2006106206 A1	18-05-2006
WO 2005034891 A2	21-04-2005	KR 20060108665 A	18-10-2006
		US 2006257386 A1	16-11-2006

USO DE COMPUESTOS DE CENTELLA ASIATICA

La presente invención se refiere al uso de compuestos de *Centella asiatica* en cosméticos, fármacos y suplementos alimentarios para mejorar la diferenciación de los queratinocitos y para potenciar la función epidérmica.

La *Centella asiatica*, también conocida como Violette marronile (Isla Reunión), como Gotu Kola o como Indian pennywort (India), o como *Centella repanda* (America del Norte) y como Talapetraka (Madagascar), es una hierba polimorfa y pertenece a la familia de las Umbellíferas (Apiaceae), en particular a la subfamilia Hydrocotyle que crece en regiones de humedad pantropical y sombrías a una altitud ideal de 600 a 1.200 m. La *Centella asiatica* incluye tres variedades denominadas Typica, Abyssinica y Floridana. Se conoce y se usa por sus propiedades curativas, sedantes, analgésicas, antidepresivas, antivirales y antimicrobianas. La actividad biológica es conferida por las moléculas activas de la serie de los triterpenos tales como Asiaticósido (I), Madecasósido (en sus 2 formas isoméricas: madecasósido en sí y terminolósido) (II), ácido asiático (III) y ácido madecásico (IV). Contribuyen a la defensa natural de las plantas contra agresiones ambientales gracias a las propiedades antibacterianas de las geninas (III, IV), que se obtienen mediante hidrólisis a partir de la forma de reserva heterosídica (I, II).

Los extractos que contienen estos compuestos se usan en la industria farmacéutica y cosmética en el cuidado de la piel y en enfermedades epiteliales, respectivamente para tratar heridas, cicatrices e insuficiencia venosa y para la restauración de la dermis y propiedades antiinflamatorias tal como se describe en el documento WO2004/062678.



		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
I	Asiaticósido	H	CH ₃	H	Glu-Glu-Rha
II	Madecasósido	OH	CH ₃	H	Glu-Glu-Rha
	Terminolósido	OH	H	CH ₃	Glu-Glu-Rha
III	Ácido asiático	H	CH ₃	H	H
IV	Ácido madecásico	OH	CH ₃	H	H

Las acuaporinas se descubrieron en 1988. Estas proteínas

5 transmembrana sirven para facilitar el transporte de agua a través de la piel por gradientes osmóticos con una energía de activación baja. Se han identificado once acuaporinas en mamíferos hasta la fecha. La acuaporina-3 (AQP-3) tiene una estructura (menor homología con otras acuaporinas) y función únicas (Ishibashi, K; Sasaki, S; Fushimi, K; Yamamoto, T; Kuwahara, M; Marumo, F,

10 The American Journal of Physiology, 272 (2) 2, 1997, páginas F235-F241). Es un transportador de glicerol y agua (acuagliceroporina) regulada por p73 (Zheng, X; Chen, X, FEBS Letters, Volumen 489, Número 1, 26 de enero de 2001, páginas 4-7). Durante el desarrollo de la piel, la expresión de AQP-3

comienza de forma tardía en la vida fetal (Matsuzaki, T; Suzuki, T; Koyama, H; Tanaka, S; Takata, K, The Journal of Histochemistry and Cytochemistry: Official Journal of The Histochemistry Society, 47, (10), 1999, páginas 1275-1286). Las acuaporinas sirven de canales de agua y aumentan la permeabilidad de las membranas al agua hasta diez veces. Están localizadas en las capas basales del epitelio de numerosos órganos tales como el riñón, el pulmón o los intestinos (Takata K, Matzuaki T, Tajika Y, Prog Histem Cytochem 2004 (39) 1-835). Especialmente en la piel, la AQP-3 está localizada en los queratinocitos (Sougrat R, Morand M, Gondran C, J Invest Dermatol 2002 (118) 678-85). La abundancia de AQP-3 basolateral en el tejido epitelial y su expresión en muchas células no epiteliales sugiere que esta acuagliceroproteína participa con un papel principal en la homeostasis de osmolitos en el cuerpo humano y desempeña un papel importante en la hidratación de la piel (Mobasheri, A; Wray, S; Marples, D, J Mol Histol, (36), 1-2, 2005, páginas 1-14).

Diversos estudios en ratones deficientes en AQP-3 demuestran más directamente la influencia de AQP-3 sobre el estado y función de la piel. De acuerdo con Hara y cols. (Ham, Mariko; Ma, Ronghui; Verkman AS, J of Biol Chem 277, 2002, (48), páginas 46616-46621) los ratones SHK1 tienen la piel seca con una menor hidratación del estrato córneo, menor elasticidad y función deficiente. Sougrat y cols. proponen que AQP-3 es una trampa de agua con la función de mejorar la hidratación de la epidermis bajo el estrato córneo (Sougrat R; Morand M; Gondran C; Barre, O; Gobin R; Bonte F; Dumas M; Verbavatz JM, J of Investigative Dermatology, 118 (4), 2002, 618-685). En un estudio más reciente Hara y cols. (Hara-Chikuma, Mariko; Verkman, A S,

41

Biology of The Cell Under The Auspices of The European Cell Biology Organization, (97), 7, 2005, páginas 479-486) sugieren que es la función de transporte del glicerol y no el agua de AQP3 la que es importante en la fisiología de la piel ya que el contenido en glicerol de los ratones deficientes en

5 AQP-3 solo está reducido en el estrato córneo y en la epidermis. Por consiguiente la piel seca y relativamente inelástica de los ratones con AQP-3 anulado probablemente está relacionada con las propiedades humectantes del glicerol y la deficiente reparación del estrato córneo debida una función biosintética epidérmica deficiente.

10 Además, AQP-3 está implicada en el contenido en triglicéridos de la epidermis y contribuye parcialmente a la composición lipídica del estrato córneo y las ceramidas. El agua y la transferencia asociada de electrolitos son beneficiosas para la comunicación, reparación y drenaje de las células. Por lo tanto, los factores que regulan AQP-3 son de utilidad para el tratamiento de

15 enfermedades de la piel asociadas a alteración de la piel, contenido en agua, trastornos lipídicos y disfunciones de la comunicación celular (documento WO 2001/37799).

La función de la epidermis también puede verse alterada por una deficiencia en la organización del estrato córneo y de forma más general por

20 una deficiente diferenciación de los queratinocitos que provoca un declive en la función de barrera de la piel. El déficit genético o crónico de ceramidas (pro-)filagrina, factor humectante natural, transglutaminasa, etc. puede ser el origen de una deficiente diferenciación y una deficiente maduración de los queratinocitos.

25 La filagrina en particular es importante en la organización de los

corneocitos laminares y en consecuencia en el mantenimiento del contenido en agua de la piel y/o de la integridad biológica y física de la piel. La filagrina es una proteína básica, rica en histidina que sintetizan las células del epitelio queratinizador que soporta las principales funciones fisiológicas de la epidermis. Su proteína precursora profilagrina constituye un componente principal de los gránulos de queratohialina de la capa granular epidérmica (Kanitakis J, Ramirez-Bosca A, Reano A, Viac J, Roche P, Thivolet J. Virchow's Arch A Pathol Anat Histopathol. 1988, 412(4), 375-82). Obtenida mediante desfosforilación de la profilagrina, la proteína asociada a los filamentos de filagrina interactúa con la queratina agregándose en el estrato córneo de la epidermis de mamífero durante la diferenciación final de los queratinocitos en corneocitos. Por lo tanto, desempeña un papel en la organización de los corneocitos laminares y la cohesión celular, resistencia del estrato córneo y flexibilidad así como su función de barrera epidérmica.

Otro ejemplo de compuestos clave para la función epidérmica se refiere a las transglutaminasas, que desempeñan un papel importante en los queratinocitos maduros. Las transglutaminasas (TGM) son un grupo de amplia distribución de las enzimas dependientes de calcio que catalizan la formación de enlaces isopeptídicos covalentes, los productos reticulados obtenidos son muy resistentes a la agresión mecánica y a la degradación proteolítica (Biochem J, 368, 2002, 377-96). Cuatro de las nueve TGM descubiertas hasta la fecha se expresan en la epidermis. Se ha demostrado que estas enzimas se expresan de forma máxima en las células espinosas y granulares de la epidermis (Cell, 40, 1985, 685-695; Differentiation, 33, 1986, 130-141).

Las TGM son particularmente esenciales en la diferenciación final de la

epidermis, donde se reticulan fuertemente con las queratinas y una variedad de proteínas estructurales específicas para la diferenciación (tales como involucrina, loricrina, etc.), en la formación de la cubierta celular cornificada en la biogénesis del estrato córneo (Bioesays, 24, 2002, 789-800; J. Cell Sci, 95, 5 1990, 631-638). Las mutaciones de TGM y sus sustratos provocan graves enfermedades de la piel: por ejemplo, se ha demostrado que la disfunción de TGM-1 provoca ictiosis laminar, una enfermedad caracterizada por una formación excesiva de escamas y descamación de la epidermis más externa (Am. J. Hum. Genet., 77, 2005, 907-917; Nat Rev Mol Cell Biol, 6, 2005, 328-10 340).

La presente invención se refiere a compuestos de *Centella asiatica* que se seleccionan del grupo constituido por madecasósido, terminolósido, asiaticósido, ácido madecásico y ácido asiático para mejorar la diferenciación de queratinocitos y para potenciar la función epidérmica.

15 Objeto de la presente invención es el uso de al menos un compuesto que se selecciona del grupo constituido por madecasósido, terminolósido, asiaticósido, ácido madecásico y ácido asiático para mejorar la diferenciación de queratinocitos y para potenciar la función epidérmica gracias a la activación de AQP-3, filagrina y/o transglutaminasa.

20 Los compuestos activos de acuerdo con la invención son madecasósido, terminolósido, asiaticósido, ácido madecásico y ácido asiático y pueden encontrarse por ejemplo en la planta *Centella asiatica* (por ejemplo de Madagascar). Los extractos que contienen los compuestos activos de la presente invención pueden obtenerse por ejemplo extrayendo *Centella asiatica* 25 tal como se describe en el documento WO2004/062678. Los extractos de

Centella asiatica pueden comprender diferentes triterpenos pentacíclicos tales como ácido asiático, asiaticósido, ácido madecásico, madecasósido y/o terminolósido. Los compuestos activos pueden aislarse a partir de los extractos de *Centella asiatica* tal como se describe en el documento WO2004/062678.

- 5 Los compuestos de la presente invención pueden usarse como una única sustancia aislada o combinados con otro u otros compuestos de la invención.

Objeto de la presente invención es también el uso de un extracto vegetal, preferiblemente un extracto vegetal de *Centella asiatica*, que comprende al menos uno de los compuestos activos.

- 10 Se otorga preferencia a un extracto vegetal que contiene madecasósido y terminolósido y opcionalmente asiaticósido con una cantidad de más del 75%, preferiblemente más del 85% en peso del extracto vegetal total. Otras impurezas pueden ser por ejemplo ácidos grasos. La proporción entre asiaticósido:(madecasósido+terminolósido) puede ser de 5:95 hasta 25:75. La
15 proporción entre madecasósido y terminolósido puede ser de 30:70 hasta 70:30, preferiblemente 40:60 hasta 60:40 en peso.

El disolvente de la mezcla es preferiblemente una mezcla de agua y alcohol por ejemplo etanol. La proporción entre el volumen de agua y alcohol puede ser de 50:50 hasta 90:10, preferiblemente 75:25.

- 20 Se otorga preferencia a una mezcla de madecasósido y terminolósido. La proporción entre madecasósido y terminolósido puede ser de 30:70 hasta 70:30, más preferiblemente 40:60 hasta 60:40 en peso. La pureza de la mezcla es preferiblemente superior al 95% relativa al peso total de la mezcla. Más preferiblemente la mezcla no contiene asiaticósido o contiene únicamente
25 cantidades traza.

Los compuestos, mezclas y extractos de la presente invención pueden administrarse en cualquier forma por cualquier vía eficaz, que incluye, por ejemplo, oral, parenteral, enteral, intravenosa, intraperitoneal, tópica, transdérmica (por ejemplo, usando cualquier parche estándar), oftálmica, nasal, local, no oral, tal como aerosol, inhalación, subcutánea, intramuscular, bucal, sublingual, rectal, vaginal, intraarterial, e intratecal, etc. Pueden administrarse solos o combinados con cualquier ingrediente(s), activo(s) o inactivo(s). Se otorga preferencia a la administración tópica.

Los compuestos, mezclas y extractos de la presente invención pueden convertirse de forma conocida en las formulaciones habituales tales como composiciones cosméticas o farmacéuticas o composiciones que se usan como suplemento alimentario. Éstas pueden ser formulaciones líquidas o sólidas por ejemplo sin limitación comprimidos normales y con recubrimiento gastroprotector, cápsulas, píldoras, polvos, gránulos, elixires, tinturas, soluciones, suspensiones, supositorios, jarabes, aerosoles sólidos y líquidos, emulsiones, pastas, cremas, ungüentos, leches, geles, bálsamos, sueros, espumas, champús, barras o lociones.

Se otorga preferencia a una composición cosmética en forma de una solución acuosa, una crema, ungüento, leche, gel, bálsamo, suero, espuma, champú, barra, crema, pasta, o loción blancos o de color.

Los compuestos, mezclas y extractos de la presente invención pueden combinarse además con cualquier otro aditivo o vehículo farmacéuticamente aceptable adecuado. Dichos aditivos incluyen cualquiera de las sustancias ya mencionadas, así como cualquiera de las que se usan convencionalmente, tales como las que se describen en Remington: The Science and Practice of

Pharmacy (Gennaro y Gennaro, editores, 20ª edición, Lippincott Williams & Wilkins, 2000); Theory and Practice of Industrial Pharmacy (Lachman y cols., editores., 3ª edición, Lippincott Williams & Wilkins, 1986); Encyclopedia of Pharmaceutical Technology (Swarbrick y Boilan, editores., 2ª edición, Marcel Dekker, 2002). Estos pueden denominarse en el presente documento "vehículos farmacéuticamente o cosméticamente aceptables" para indicar que se combinan con el fármaco activo y que pueden administrarse de forma segura a un sujeto con fines terapéuticos.

La dosis de los compuestos, mezclas o extractos de la presente invención puede seleccionarse con respecto al otro y/o al tipo de enfermedad y/o el estado de enfermedad para proporcionar la actividad terapéutica deseada. Estas cantidades pueden ser determinadas de forma rutinaria para un paciente particular, utilizando diversos parámetros para seleccionar la dosis apropiada (por ejemplo, tipo de enfermedad, edad del paciente, estado de enfermedad, salud del paciente, peso, etc.), o las cantidades pueden ser relativamente estándar.

La cantidad del ingrediente activo administrado puede variar ampliamente de acuerdo con consideraciones tales como el compuesto particular y la unidad de administración que se emplee, el modo y tiempo de administración, el periodo de tratamiento, la edad, sexo y estado general del paciente tratado, la naturaleza y extensión de la afección tratada, la velocidad de metabolismo y excreción del fármaco, las potenciales combinaciones de fármacos y las interacciones entre fármacos y similares.

Se otorga preferencia a una composición que comprende los compuestos activos, mezclas y extractos de la presente invención en una

cantidad desde 0,005% hasta 10%, preferiblemente desde 0,01 hasta 5%, más preferiblemente desde 0,1% hasta 3% en peso de la composición total.

La composición farmacéutica o cosmética de acuerdo con la invención se administra una o más, preferiblemente hasta tres, más preferiblemente hasta dos veces al día. Se otorga preferencia a la administración tópica.

Sin embargo, en algunos casos puede ser ventajoso desviarse de las cantidades especificadas, dependiendo del peso corporal, respuesta individual al ingrediente activo, tipo de preparación y tiempo o intervalo durante el cual se realiza la administración. Por ejemplo, puede ser necesario usar las cantidades inferiores a las mínimas mencionadas anteriormente en algunos casos mientras que, en otros casos, debe superarse el límite superior especificado. En el caso de la administración de cantidades relativamente grandes, puede ser recomendable dividir las dosis individuales durante el día.

La administración de los compuestos, mezclas o extractos de la presente invención puede aumentar la expresión de AQP-3 en la epidermis, preferiblemente en las capas vivas (queratinocitos basales, estrato granuloso y espinoso), la expresión de filagrina y/o de transglutaminasa. Por lo tanto, las mezclas o extractos de la presente invención pueden usarse para cualquier enfermedad o tratamiento asociado a un déficit en la expresión de AQP-3, filagrina y/o transglutaminasa. Cuando los compuestos, mezclas o extractos de la presente invención se administran por ejemplo puede mantenerse o mejorarse la hidratación de la piel, preferiblemente la hidratación de la epidermis bajo el estrato córneo. También puede mantenerse o devolverse la elasticidad y/o resistencia epidérmica de la piel. Puede mejorarse la

organización laminar de los corneocitos y puede aumentarse la cohesión del estrato córneo, la función de barrera de la epidermis y/o la impermeabilidad de la piel. Puede prevenirse la deshidratación de la epidermis y puede apoyarse la regeneración de la película lipídica protectora de la piel. Puede mejorarse la
5 transferencia de electrolitos y agua de la piel. Puede activarse y/o regenerarse la homeostasis osmolítica. Puede mejorarse la desintoxicación epidérmica, la comunicación de los queratinocitos y/o la reparación de la membrana de queratinocitos. Además, puede mejorarse el drenaje de los queratinocitos.

Los compuestos, mezclas y extractos de la presente invención pueden
10 usarse para mejorar la diferenciación de los queratinocitos, para potenciar la función epidérmica y/o para tratar o prevenir las enfermedades de la piel o trastornos de la piel tales como lesiones epiteliales, atrofia, ulceración, hiperplasia, displasia, lesiones escamosas cutáneas, piel seca, dermatitis atópica seca, pieles ictiosicas o pitiriasis atópica.

15 Los compuestos, mezclas y extractos de la presente invención también pueden usarse para el tratamiento y/o prevención de anomalías de la maduración y/o queratinización de la epidermis.

Preferiblemente los compuestos, mezclas y extractos de la presente invención se usan para activar AQP-3 por ejemplo en diferentes capas de la
20 epidermis. Por lo tanto, puede aumentarse la transferencia de agua, de compuestos solubles en agua tales como electrolitos o solutos neutros, y/o la transferencia de glicerol lo que provoca la activación o regeneración de la homeostasis de osmolitos, potenciación del drenaje de queratinocitos y así la mejora de la posterior desintoxicación de las células, reparación de la
25 membrana de los queratinocitos y el tratamiento de trastornos lipídicos, mejora

de la comunicación de los queratinocitos (entre células y entre la epidermis por una parte y la unión entre la dermis y la epidermis o la dermis por otra parte).

Preferiblemente los compuestos, mezclas y extractos de la presente invención se usan para activar filagrina, mediante lo cual se afecta a la actividad sobre la diferenciación de los queratinocitos. Por lo tanto, pueden tratarse anomalías de la maduración epidérmica y/o de la queratinización, se mejora la cohesión del estrato córneo (organización de las láminas de corneocitos), la función de barrera epidérmica y/o la impermeabilidad de la piel, puede prevenirse la deshidratación epidérmica, y se mejora la elasticidad/flexibilidad y resistencia de la piel.

Preferiblemente los compuestos, mezclas y extractos de la presente invención se usan para activar transglutaminasa, mediante lo cual se afecta a la actividad sobre la maduración de los queratinocitos. Por lo tanto, pueden tratarse anomalías de la maduración epidérmica y/o de la queratinización, se mejora la cohesión del estrato córneo (organización de las láminas de corneocitos), la función de barrera epidérmica y/o la impermeabilidad de la piel y se mejora la elasticidad/flexibilidad y resistencia de la piel.

Ejemplos

Ejemplo I: Evaluación de la expresión de AQP-3 en los queratinocitos

Se usan biopsias de cirugía plástica abdominal (mujer de 41 años de edad) en este experimento ex vivo. Se cultivan en un medio especial de supervivencia de explantes específico: BEM (Medio de explante de BIO-EC).

Se aplican 4 mg de una formulación que contiene 3% de una mezcla de madecasósido y terminolósido y se compara con una formulación de control (sólo excipiente sin compuestos activos) los siguientes días: D0, D1, D2, D3 y

D4.

Los estudios histológicos se realizan después de 0 horas, 3 horas, 24 horas y 5 días.

Después de la deshidratación e impregnación en parafina, se fijan los
5 explantes con solución de Bouin. Se cortan y se tiñen mediante la tinción tricromática de Mason.

Inmunomarcado flurorescente: la acuaporina-3 (AQP-3) se marca en tejidos cortados en criostat congelados con un anticuerpo contra AQP3 de Chemicon (policlonal ref AB3276) con un sistema de biotina/estreptavidina y se
10 revela mediante FITC. Las observaciones se realizan mediante microscopio electrónico y la cuantificación mediante análisis de imágenes. Se cuantifican de la forma siguiente:

Observaciones de la expresión de AQP 3 en las capas de la epidermis

Tiempo	0 h	3 h	24 h	5 días
--------	-----	-----	------	--------

Base del estrato córneo

Control	0			
Excipiente		0	0	3
Excipiente + mezcla al 3%		0	1	4

Agrupaciones basales de queratinocitos basales

Control	0			
Excipiente		0	0	3
Excipiente + mezcla al 3%		0	4	4

15

Ausente: 0; débil: 1, muy moderada: 2, moderada:3, obvia: 4, muy obvia:

5, elevada:6

A 0 h, la expresión de AQP-3 es claramente visible en las membranas (presencia regular, pericelular). Está ausente en la base del estrato córneo, es obvia en las capas superiores de la epidermis, moderada en la capa basal y
5 está ausente de la agrupación basal de queratinocitos basales (habitualmente un área que carece de AQP-3).

Se observa un fenómeno dependiente del tiempo de aumento de la expresión de AQP-3 en la epidermis por la administración de la mezcla: AQP-3 se visualiza de forma más obvia después de 3 h, e incluso más después de 24
10 h. Después de 5 días, se observa un importante desarrollo de los canales proteínicos en la agrupación basal de los queratinocitos basales. Esta localización particular de AQP-3 probablemente es un factor favorable para la comunicación dermoepidérmica, especialmente para el hemo originario de la vascularización, que es un conocido inductor de la diferenciación.

15 *Cuantificación de la expresión de AQP-3 en las capas epidérmicas*

Porcentaje de la superficie ocupado por la acuaporina 3 el día 5

	En la epidermis viva		En la agrupación basal de los queratinocitos basales	
	Media	Desviación	Media	Desviación
Excipiente	42,9	1,9	31,1	1,8
Excipiente + mezcla al 3%	56,9	3,1	44,9	3,7

El día 5 y comparando con el excipiente, la formulación que contiene 3%

de una mezcla de Madecasósido y Terminolósido aumenta significativamente el contenido en AQP-3 en un 33% en la epidermis viva y en un 44% en la capa de agrupación basal de los queratinocitos basales.

Ejemplo 2: Evaluación de la síntesis de filagrina por los queratinocitos

5 Se usan biopsias de cirugía plástica abdominal (mujer de 41 años de edad) en este experimento ex vivo. Se cultivan en un medio especial de supervivencia de explantes específico: BEM (Medio de explante de BIO-EC).

Se aplican 4 mg de una formulación que contiene 3% de una mezcla de madecasósido y terminolósido y se compara con una formulación de control
10 (sólo excipientes sin compuestos activos) los siguientes días: D0, D1, D2, D3 y D4.

Los estudios histológicos se realizan después de 0 horas, 3 horas y 24 horas.

Después de la deshidratación e impregnación en parafina, se fijan los
15 explantes con solución de Bouin. Se cortan y se tiñen mediante la tinción tricromática de Mason.

Inmunomarcado fluroescente: la filagrina se marca en tejidos cortados en criostat congelados con un anticuerpo contra filagrina de BTI Cliniscience (clon OKTB1 ref BT 576) con un sistema de biotina/estreptavidina y se revela
20 mediante FITC. Las observaciones se realizan mediante microscopio electrónico y la cuantificación mediante análisis de imágenes.

Observaciones de la expresión de AQP 3 en las capas de la epidermis

A 0 h la filagrina se expresa normalmente en la base del estrato córneo. Después de 3 h se observa una mayor expresión. Después de 24 h se observa
25 una mayor fluorescencia en un mayor número de capas de células (el marcado

se ve en de 9 a 10 capas de la base del estrato córneo).

La cohesión de la estratificación del estrato córneo mejora debido a la filagrina. Su mayor concentración en la capa granular superior provoca una mejora de la organización y la calidad física en el estrato córneo (regulación apoptótica) y un fortalecimiento de la afinidad hídrica tras su hidrólisis. Por lo tanto, puede mejorarse la actividad contra la sequedad.

Cuantificación de la expresión de filagrina en las capas de la epidermis

Porcentaje de la superficie ocupada por filagrina en la epidermis después de 24 h

	t = 0 h		t = 24 h	
	Media	Desviación	Media	Desviación
Blanco	9.8	1.4		
Excipiente			5,9	1,8
Excipiente + mezcla al 3%			9,4	1,7

10

El día 1 y comparando con el excipiente, la formulación que contiene 3% de una mezcla de Madecasósido - Terminolósido aumenta significativamente el contenido en filagrina de la epidermis en un 59%.

15 Ejemplo 3: Evaluación de la síntesis de transglutaminasa por los queratinocitos

Se usan biopsias de cirugía plástica abdominal (mujer de 41 años de edad) en este experimento ex vivo. Se cultivan en un medio especial de supervivencia de explantes específico: BEM (Medio de explante de BIO-EC).

Se aplican 4 mg de una formulación que contiene 3% de una mezcla de

madecasósido y terminolósido y se compara con una formulación de control (sólo excipientes sin compuestos activos) los siguientes días: D0, D1, D2, D3 y D4.

Los estudios histológicos se realizan después de 0 horas, 3 horas y 24 horas.

Después de la deshidratación e impregnación en parafina, se fijan los explantes con solución de Bouin. Se cortan y se tiñen mediante la tinción tricromática de Mason.

Inmunomarcado fluroescente: la transglutaminasa se marca en tejidos cortados en criostat congelados con un anticuerpo contra transglutaminasa de Harbor Bio-products (MAB Clone B.C1) con un sistema de biotina/estreptavidina y se revela mediante FITC. Las observaciones se realizan mediante microscopio electrónico y la cuantificación mediante análisis de imágenes.

Observaciones de la expresión de transglutaminasa en las capas de la epidermis

El día 0, la expresión de glutaminasa es leve e irregular.

Después de 24 horas, la inmunotinción es obvia en los explantes que recibieron 3% de la mezcla de madecasósido y ferminolósido. Es obviamente más leve en los que recibieron el excipiente.

Cuantificación de la expresión de transglutaminasa en las capas de la epidermis

Porcentaje de la superficie ocupada por transglutaminasa en la epidermis después de 24 h

t = 0 h	t = 24 h
---------	----------

	Media	Desviación	Media	Desviación
Blanco	0,73	0,51		
Excipiente			0,02	0,02
Excipiente + mezcla al 3%			0,20	0,14

El día 1 y comparando con el excipiente, la formulación que contiene 3% de una mezcla de Madecasósido - Terminolósido aumenta de forma moderada pero significativa el contenido en transglutaminasa.

5 Ejemplo 4: Composición típica de una crema

Crema 1:

Ingredientes (INCI, % en p/p): 1,0% de compuesto activo (por ejemplo mezcla de madecasósido y terminolósido, o extracto de *Centella asiatica* de acuerdo con la invención), 1,5% de beheneth-10, 1,5% de beheneth-25, 5,0%
10 de dycaprylyl carbonate, 5,0% de hexyl laurate, 5,0% de isohexadecane, 5,0% de cetearyl isononaoate, 1,0% de dimethicone, 2,0% de behenyl alcohol, 2,0% de hydrogenated vegetable glycerides, 0,5% de phenoxy ethanol y parabens, 0,5% de tocopherol acetate, 3,0% de glycerol, 2,0% de butylene glycol, 0,1% de xanthan gum; 0,2% de carbomer y aqua (cs 100).

15 Crema 2:

Ingredientes (INCI, % p/p): 1,0% de compuesto activo (por ejemplo mezcla de madecasósido y terminolósido, o extracto de *Centella asiatica* de acuerdo con la invención), 5,0% de cetearyl glucoside y cetearyl alcohol, 5,0% de caprylic/capric triglyceride, 5,0% de squalane, 3,0% de cetearyl
20 isononaoate, 2,0% de dimethicone crosppolymer, 1,5% de stearyl alcohol, 5,0%

56

-19-

de dycaprylyl carbonate, 0,1% de parabens, 0,5% de phenoxyethanol y parabens, 2,0% de glycerol, 0,3% de carbomer, 2,0% de PEG 32, 0,2% de xanthan gum, 2,0% de aluminium starch octenyl succinate y aqua (cs 100);

Habiendo descrito la invención como antecede, se declara como propiedad lo contenido en las siguientes

REIVINDICACIONES

- 5 1. Uso de al menos un compuesto de *Centella asiatica* que se selecciona del grupo constituido por madecasósido, terminolósido, asiaticósido, ácido madecásico y ácido asiático para la fabricación de una composición para activar AQP-3, filagrina y/o transglutaminasa.
- 10 2. Uso de la reivindicación 1 para mejorar la diferenciación de queratinocitos y/o para potenciar la función epidérmica.
3. Uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2 para el tratamiento y/o prevención de anormalidades de la maduración y/o queratinización
- 15 epidérmicas.
4. Uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2 para el tratamiento de anormalidades de la maduración y/o queratinización epidérmicas.
- 20 5. Uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2 para aumentar la cohesión del estrato córneo, la función de la barrera epidérmica y/o la impermeabilidad de la piel.
6. Uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2 para prevenir la
- 25 deshidratación de la epidermis.

7. Uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2 para mejorar la elasticidad, flexibilidad y resistencia epidérmicas.
8. Uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2 para aumentar la
5 transferencia de agua, compuestos solubles en agua y/o glicerol.
9. Uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2 para la activación o regeneración de la homeostasis de osmolitos, para la mejora del drenaje de los queratinocitos y así para la mejora de la posterior desintoxicación de las
10 células, reparación de la membrana de los queratinocitos y el tratamiento de trastornos lipídicos, para la mejora de la comunicación de los queratinocitos.
10. Uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2 para tratar o prevenir las enfermedades de la piel o trastornos de la piel tales como lesiones epiteliales,
15 atrofia, ulceración, hiperplasia, displasia, lesiones escamosas cutáneas, piel seca, dermatitis atópica seca, pieles ictiósicas o pitiriasis atópica.
11. Uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 de una mezcla que comprende madecasósido y terminolósido.
- 20
12. Uso de la reivindicación 11, en el que la proporción entre madecasósido y terminolósido es de 30:70 hasta 70:30 en peso.
13. Uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 de un extracto vegetal
25 que comprende al menos un compuesto que se selecciona del grupo

constituido por madecasósido, terminolósido, asiaticósido, ácido madecásico y ácido asiático.

14. Uso de la reivindicación 13, en el que el extracto vegetal es un extracto
5 de *Centella asiatica*.

15. Uso de cualquiera de las reivindicaciones 13 a 14, en el que el extracto vegetal contiene una mezcla de madecasósido y terminolósido en una cantidad de más de 75% en peso del extracto total.

10

16. Uso de cualquiera de las reivindicaciones 13 a 15, en el que el disolvente del extracto es una mezcla de agua y etanol.

USO DE COMPUESTOS DE CENTELLA ASIATICA**RESUMEN DE LA INVENCION**

La presente invención se refiere al uso de compuestos de *Centella asiatica* en cosméticos, fármacos y suplementos alimentarios para mejorar la
5 diferenciación de los queratinocitos y para potenciar la función epidérmica.

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

TARJETA ARCHIVO PROPIETARIOS

PATENTE DE INVENCION X PCT X MODELO DE UTILIDAD DISEÑO INDUSTRIAL

(21) N° de solicitud:

(22) Fecha de solicitud:

(51) Clasificación Internacional:

(71) Solicitante (s)

BAYER CONSUMER CARE AG

(72) Inventor(es)

SENE, Gérard; LOISEAU, Alain; y LEPETIT, Jean-Christophe

(74) Apoderado:

JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS

(30) Prioridad

(31)

No. Prioridad

(32)

Fecha

(33)

País

05292384.4

09/11/2005

EP

(85) Fecha inicio fase nacional: **09/06/2008**

(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT

Fecha de presentación de la solicitud: **27 - 10 -06**

No. de solicitud **PCT/EP2006/ 010355**

(87)

Publicación internacional

Fecha: **18 - 05 - 07** Fecha (dd/mm/aa)

N° publicación: **WO 2007/ 054211 A1**

(54) Título:

USO DE COMPUESTOS DE CENTELLA ASIATICA

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES TARJETA ARCHIVO TEMATICO	
PATENTE DE INVENCION ☒ PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD ☐ DISEÑO INDUSTRIAL ☐			
(21) N° de solicitud:		(22) Fecha de solicitud:	
(51) Clasificación Internacional:			
(71) Solicitante(s)		BAYER CONSUMER CARE AG	
(72) Inventor(es): SENE, Gérard; LOISEAU, Alain; y LEPETIT, Jean-Christophe			
(74) Apoderado:		JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS	
(30) Prioridad	(31) No. Prioridad	(32) Fecha	(33) País
	05292384.4	09/11/2005	EP
(85) Fecha límite inicio fase nacional: 09/06/2008		(87) Publicación internacional:	
(86) Datos relativos a la presentación de la solíc. PCT		Fecha: 18 - 05 - 07	
Fecha de presentación de la solicitud: 27 - 10 - 06		No. Publicación: WO2007/054211 A1	
No. de solicitud		PCT/EP2006/ 010355	
(54) Título: USO DE COMPUESTOS DE CENTELLA ASIATICA			
Resumen: Uso de al menos un compuesto de <i>Centella asiatica</i> que se selecciona del grupo constituido por madecasósido, terminolósido, asiaticósido, ácido madecásico y ácido asiático para la fabricación de una composición para activar AQP-3, filagrina y/o transglutaminasa.			
CONTINUA AL RESPALDO			

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN
SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION

(21) N° de solicitud:	(51) Int Cl:
22) Fecha de solicitud:	(71) Solicitante(s) BAYER CONSUMER CARE AG
(30) Prioridad (31) No. Prioridad (32) Fecha (33) Pais	(72) Inventor(es) SENE, Gérard; LOISEAU, Alain; LEPETIT, Jean-Christophe
05292384.4 09/11/05 EP	(74) Apoderado: JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS
(85) Fecha límite inicio fase nacional: 09/06/2008	(87) Publicación Internacional
Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT Fecha de presentación de la solicitud: 27-10 -06 No. de solicitud PCT/EP2006/ 010355	Fecha: 18-05- 07 Fecha (dd/mm/aa) N° publicación: WO2007/ 054211 A1
(54) Título:	USO DE COMPUESTOS DE CENTELLA ASIATICA

Resumen:

Uso de al menos un compuesto de *Centella asiatica* que se selecciona del grupo constituido por madecasósido, terminolósido, asiaticósido, ácido madecásico y ácido asiático para la fabricación de una composición para activar AQP-3, filagrina y/o transglutaminasa.

64.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

Este recibo debe ser utilizado
Únicamente para tramites de
Mario Delgado Echeverry e Hijos Ltda.

Marca: Pct/ep 2006/010380

Expediente:

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 08 - 36,017
FECHA : MAYO 7 DE 2008

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-046044-00000-0000

Fecha: 2008-05-07 15:58:24 Dep. 2020 NUECREACIONI
Itm. 11 PATENTEIYII Eva: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 64

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
MARIO DELGADO ECHEVERRY	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	3171346	07/05/2008	12.641.000.00

***** CONCEPTO *****

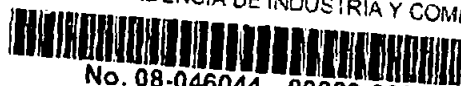
ANT. RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	501.000.00
	TOTAL :	\$ 501.000.00

SON: QUINIENTOS UN MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

63
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-046044-00000-0000

Fecha: 2008-05-07 15:58:24 Dep. 2020 NUECREACION
Fra. 11 PATENTE IYII Eva: 378 FASENACIONAL
Act. 411 PRESENTACION Folios: 84



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE
PCT

PATENTE DE INVENCION ☒

MODELO DE UTILIDAD ☐

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente ☒
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☒
- ◆ Descripción de la invención ☒
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes ☒
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☒

COMPLETA ☒

INCOMPLETA ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial ☐
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☐
- ◆ Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño ☐
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☐

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado ☐
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☐
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado ☐
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☐

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐

SLC

Firma Responsable

Fecha 7 MAY 08

Carrera 13, No. 27-00 Piso 5, 7 y 10

Conmutador: 3 82 08 40

Fax: 350 52-20

E-mail: info@slc.gov.co

www.slc.gov.co

Bogotá, D.C., Colombia

66

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
DELGADO VILLEGAS JAIME EDUARDO

REFERENCIA	Radicación No.	8 46044
	Solicitud internacional	PCT/EP2006/010355
	Fecha inicio fase nacional	09/06/2008
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	8319

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante. (Art. 26-k) Decisión 486.

2. La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado, con el lleno de los requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente, deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante, cuando ésta fuere persona jurídica.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No.10 de 2001.


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 27 JUN. 2008
adpall