

(12) PEDIDO INTERNACIONAL PUBLICADO SOB O TRATADO DE COOPERAÇÃO EM MATÉRIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organização Mundial da Propriedade Intelectual
Secretaria Internacional



(10) Número de Publicação Internacional
WO 2023/015364 A1

(43) Data de Publicação Internacional
16 de Fevereiro de 2023 (16.02.2023) **WIPO | PCT**

(51) Classificação Internacional de Patentes:

A61K 8/97 (2017.01) A61Q 19/00 (2006.01)
A61K 8/99 (2017.01) A61Q 19/08 (2006.01)

(21) Número do Pedido Internacional:

PCT/BR2021/050341

(22) Data do Depósito Internacional:

12 de Agosto de 2021 (12.08.2021)

(25) Língua de Depósito Internacional:

Português

(26) Língua de Publicação:

Português

(71) Requerente: **NATURA COSMÉTICOS S.A.** [BR/BR];
Avenida Alexandre Colares, nº 1188, Bloco A, Vila Jaguara, 05106-000 São Paulo - SP (BR).

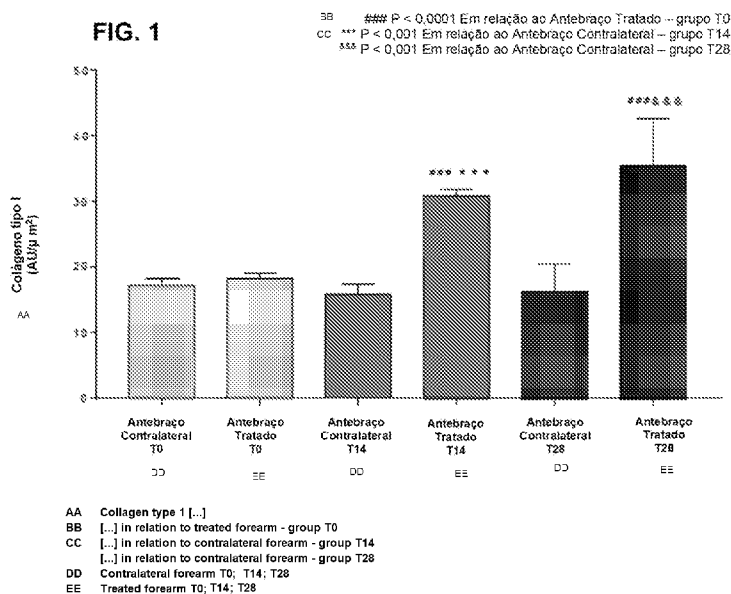
(72) Inventores: **SOLDATI, Pedro Paulo**; c/o Natura Cosméticos S.A., Avenida Alexandre Colares, nº 1188, Bloco A, Vila Jaguara, 05106-000 São Paulo - SP (BR).

la Jaguará, 05106-000 São Paulo - SP (BR). **ZIMBARDI, Daniela**; c/o Natura Cosméticos S.A., Avenida Alexandre Colares, nº 1188, Bloco A, Vila Jaguara, 05106-000 São Paulo - SP (BR). **DURÃES ZERBINATTI, Gabriela**; c/o Natura Cosméticos S.A., Avenida Alexandre Colares, nº 1188, Bloco A, Vila Jaguara, 05106-000 São Paulo - SP (BR). **DE MIRANDA CHAVES VASQUEZ PINTO, Luciana**; c/o Natura Cosméticos S.A., Avenida Alexandre Colares, nº 1188, Bloco A, Vila Jaguara, 05106-000 São Paulo - SP (BR). **CAROLLO MONCAYO, Priscila**; c/o Natura Cosméticos S.A., Avenida Alexandre Colares, nº 1188, Bloco A, Vila Jaguara, 05106-000 São Paulo - SP (BR). **ARANDAS MONTEIRO E SILVA, Silas**; c/o Natura Cosméticos S.A., Avenida Alexandre Colares, nº 1188, Bloco A, Vila Jaguara, 05106-000 São Paulo - SP (BR). **PANZARIN SAVIETTO, Joice**; c/o Natura Cosméticos S.A., Avenida Alexandre Colares, nº 1188, Bloco A, Vila Jaguara, 05106-000 São Paulo - SP (BR).

(54) Title: COSMETIC COMPOSITION, USE OF *CASEARIA SYLVESTRIS*, *SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS*, *HYMENAEA COURBARIL* AND *LACTOBACILLUS*, AND METHOD FOR PREVENTING AND OR TREATING SIGNS OF SKIN AGEING

(54) Título: COMPOSIÇÃO COSMÉTICA, USO DE *CASEARIA SYLVESTRIS*, *SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS*, *HYMENAEA COURBARIL* E *LACTOBACILLUS* E MÉTODO DE PREVENÇÃO E/OU TRATAMENTO DE SINAIS RESULTANTES DO ENVELHECIMENTO DA PELE

FIG. 1



(57) Abstract: The invention relates to cosmetic compositions comprising *Casearia sylvestris* (guaçatonga), *Schinus terebinthifolius* (aroeira), *Hymenaea courbaril* (jatobá), *Lactobacillus* and cosmetically acceptable adjuvants, in different cosmetic forms, which are useful in the prevention and/or treatment of signs of skin ageing. The present invention also relates to the combined use of *Casearia sylvestris*, *Schinus terebinthifolius*, *Hymenaea courbaril* and *Lactobacillus* for preventing and/or treating signs of skin ageing, as well as to a method for preventing and/or treating signs of skin ageing.

(57) Resumo: A presente invenção refere-se a composições cosméticas compreendendo *Casearia sylvestris* (guaçatonga), *Schinus terebinthifolius* (aroeira), *Hymenaea courbaril* (jatobá), *Lactobacillus* e adjuvantes cosmeticamente aceitáveis, em formas cosméticas diversificadas, as quais são úteis na prevenção e/ou tratamento de sinais resultantes do envelhecimento da pele. A presente invenção

(Continua na página seguinte)



WO 2023/015364 A1

rá, 05106-000 São Paulo - SP (BR). **ABRAHÃO DIAS, Ana Luisa**; c/o Natura Cosméticos S.A., Avenida Alexandre Colares, nº 1188, Bloco A, Vila Jaguará, 05106-000 São Paulo - SP (BR).

(74) **Mandatário: DANNEMANN, SIEMSEN, BIGLER & IPANEMA MOREIRA**; Avenida Rodolfo Amoedo, 300, Barra da Tijuca, 22620-350 Rio de Janeiro - RJ (BR).

(81) **Estados Designados** (*sem indicação contrária, para todos os tipos de proteção nacional existentes*): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) **Estados Designados** (*sem indicação contrária, para todos os tipos de proteção regional existentes*): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasiático (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), Europeu (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicado:

- com relatório de pesquisa internacional (Art. 21(3))
- em preto e branco; o pedido internacional tal como depositado contém cores ou níveis de cinza e pode ser baixado do PATENTSCOPE

também se refere ao uso de *Casearia silvestres*, *Schinus terebinthifolius*, *Hymenaea courbaril* e *Lactobacillus*, de forma combinada, para prevenção e/ou tratamento de sinais resultantes do envelhecimento da pele, bem como método de prevenção e/ou tratamento de sinais resultantes do envelhecimento da pele.

COMPOSIÇÃO COSMÉTICA, USO DE CASEARIA SYLVESTRIS, SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS, HYMENAEA COURBARIL E LACTOBACILLUS E MÉTODO DE PREVENÇÃO E/OU TRATAMENTO DE SINAIS RESULTANTES DO ENVELHECIMENTO DA PELE

5 CAMPO DA INVENÇÃO

[1] A presente invenção refere-se a composições cosméticas compreendendo *Casearia sylvestris* (guaçatonga), *Schinus terebinthifolius* (aroeira), *Hymenaea courbaril* (jatobá), *Lactobacillus* e adjuvantes cosmeticamente aceitáveis, em formas cosméticas diversificadas, as quais são
10 úteis na prevenção e/ou tratamento de sinais resultantes do envelhecimento da pele. A presente invenção também se refere ao uso de *Casearia sylvestris*, *Schinus terebinthifolius*, *Hymenaea courbaril* e *Lactobacillus*, de forma combinada, para prevenção e/ou tratamento de sinais resultantes do envelhecimento da pele, bem como método de prevenção e/ou tratamento de
15 sinais resultantes do envelhecimento da pele.

FUNDAMENTO DA INVENÇÃO

[2] A pele recobre a superfície do corpo humano e é constituída por uma porção epitelial, a epiderme, e uma porção conjuntiva, a derme. A pele é um dos maiores órgãos do corpo humano e desempenha múltiplas funções
20 como proteção do organismo contra a perda de água e contra o atrito, transmissão de informações sobre o ambiente para o sistema nervoso central, colabora na termorregulação do corpo e excreção de várias substâncias, entre outras.

[3] A epiderme é constituída por epitélio estratificado pavimentoso queratinizado. Já a derme, por sua vez, é constituída por tecido conjuntivo onde se apoia a epiderme e une a pele ao tecido subcutâneo.
25

[4] O cuidado da pele, em todas as suas extensões, tem sido objeto de inúmeras investigações nos últimos anos, especialmente por necessidades estéticas, associadas à prevenção e/ou tratamento de sinais
30 resultantes do envelhecimento da pele.

[5] Diversos mecanismos estão envolvidos no envelhecimento cutâneo. Dentre eles, a diminuição da produção de colágeno, proteína

responsável pela estruturação e firmeza da pele que, após certa idade, enfrenta uma diminuição progressiva devido ao envelhecimento do fibroblasto, que acaba diminuindo a produção das fibras. Outros componentes importantes da estrutura da pele, como elastina, ácido hialurônico e proteínas de junção das camadas da pele como integrinas, também têm sua produção reduzida progressivamente com a idade, impactando na estrutura e nas funções da pele.

[6] Assim, o mercado vem disponibilizando ao longo dos anos inúmeras alternativas de composições cosméticas destinadas à prevenção e/ou tratamento de sinais resultantes do envelhecimento da pele, particularmente no que diz respeito à intervenção na produção ou suplementação de colágeno, uma vez que este é responsável pela resistência da pele.

[7] Contudo, persiste a necessidade de novos produtos eficazes na prevenção e/ou tratamento de sinais resultantes do envelhecimento da pele, particularmente que atuem de forma mais eficiente no estímulo à produção de colágeno e de outras proteínas estruturais como a elastina e as integrinas, além de substâncias relevantes para a pele como o ácido hialurônico, dentre outros mecanismos e benefícios.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[8] Em uma primeira realização, a presente invenção trata de uma composição cosmética que compreende *Casearia sylvestris* (guaçatonga), *Schinus terebinthifolius* (aroeira), *Hymenaea courbaril* (jatobá), *Lactobacillus* e adjuvantes cosmeticamente aceitáveis, em quantidades apropriadas que propiciam efeitos inesperados na prevenção e/ou tratamento de sinais resultantes do envelhecimento da pele.

[9] Em outra realização, a presente invenção diz respeito ao uso de *Casearia sylvestris* (guaçatonga), *Schinus terebinthifolius* (aroeira), *Hymenaea courbaril* (jatobá), *Lactobacillus* na preparação de uma composição cosmética eficiente na prevenção e/ou tratamento de sinais resultantes do envelhecimento da pele.

[10] Em uma terceira realização, a presente invenção trata do método de prevenção e/ou tratamento de sinais resultantes do envelhecimento da pele que compreende a aplicação na pele de uma composição cosmética de

acordo com a presente invenção.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[11] A figura 1 apresenta a semi-quantificação da intensidade de fluorescência da síntese de colágeno tipo I em biópsias obtidas de voluntários tratadas com a composição da presente invenção. Os dados representam a média \pm desvio padrão de 9 áreas (ANOVA - Bonferroni).

[12] Figura 2 apresenta a semi-quantificação da intensidade de fluorescência da síntese de elastina em biópsias obtidas de voluntários tratadas com a composição da presente invenção. Os dados representam a média \pm desvio padrão de 9 áreas (ANOVA - Bonferroni).

[13] Figura 3 apresenta a semi-quantificação da intensidade de fluorescência da síntese do ácido hialurônico em biópsias obtidas de voluntários tratadas com a composição da presente invenção. Os dados representam a média \pm desvio padrão de 9 áreas (ANOVA - Bonferroni).

[14] Figura 4 apresenta a semi-quantificação da intensidade de fluorescência da síntese de integrinas em biópsias obtidas de voluntários tratadas com a composição da presente invenção. Os dados representam a média \pm desvio padrão de 9 áreas (ANOVA - Bonferroni).

[15] Figura 5 apresenta a CFU após 24h de incubação em MCM + ingrediente de teste.

DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

[16] A presente invenção trata de uma composição cosmética eficaz na prevenção e/ou tratamento de sinais resultantes do envelhecimento da pele.

[17] A depositante surpreendentemente verificou que a composição cosmética de acordo com a presente invenção, compreendendo *Casearia sylvestris* (guaçatonga), *Schinus terebinthifolius* (aroeira), *Hymenaea courbaril* (jatobá), *Lactobacillus* e adjuvantes cosmeticamente aceitáveis, apresenta resultados inesperados, ou seja, sinérgicos na produção de colágeno, além de efeitos benéficos simultâneos na pele, como aumento da luminosidade, melhora de textura, aumento da produção de elastina, hidratação imediata e por até 48 horas.

[18] De acordo com a presente invenção, *Casearia sylvestris* (guaçatonga) e *Schinus terebinthifolius* (aroeira) podem ser utilizadas na forma de extrato e *Hymenaea courbaril* (jatobá) na forma de extrato, óleo ou manteiga. Em realização particular, ditos ingredientes são utilizados na forma de extrato.

5 Em realização preferida, *Lactobacillus* é selecionado de *Lactobacillus plantarum*.

[19] Em realização preferida, a composição cosmética de acordo com a presente invenção compreende 0,001 a 5% de *Casearia sylvestris*, de 0,001 a 5% de *Schinus terebinthifolius*, de 0,001 a 5% de *Hymenaea courbaril* e de 0,001 a 2% *Lactobacillus* em peso da composição.

10 [20] Em realização ainda mais preferida, a composição cosmética de acordo com a presente invenção compreende 0,1% de *Casearia sylvestris*, 0,025 % de *Schinus terebinthifolius*, 0,25% de *Hymenaea courbaril* e 0,5% de *Lactobacillus* em peso da composição.

[21] Os resultados simultâneos na pele proporcionados pela
15 composição da presente invenção são verificados imediatamente na luminosidade, suavização de linhas finas, melhora da textura, hidratação imediata e por até 48 horas. Após sete dias é possível observar redução visível das linhas finas (localizadas principalmente na região dos olhos). Após 15 dias é possível observar redução significativa da quantidade e profundidade de rugas
20 moderadas, localizadas principalmente no chamado bigode chinês e, de forma surpreendente, até 75% de mais colágeno, elastina e ácido hialurônico, além do fortalecimento da microbiota da pele por conta dos efeitos prebiótico e probiótico. Ainda, após 30 dias, observa-se uma pele reestruturada, pele melhorada de sua densidade e reorganização de camadas, presença de duas vezes mais proteínas
25 na conexão da pele e redução intensiva de rugas profundas, localizadas principalmente na região da testa.

[22] A composição cosmética de acordo com a presente invenção pode ser disponibilizada em diferentes formas cosmeticamente aceitáveis, por exemplo, mas sem limitação, na forma de creme, gel, suspensão,
30 emulsão, elixir, sérum, óleo, pomada.

[23] A composição cosmética de acordo com a presente invenção é destinada ao uso na prevenção e/ou tratamento de sinais resultantes

do envelhecimento da pele, com efeitos na microbiota da pele (prebiótico e probiótico), hidratante (pele luminosa), aumento da produção de colágeno, aumento da produção de elastina, aumento da produção de ácido hialurônico, aumento da produção de integrina, redução de rugas e redensificação da derme.

5 [24] Assim, em um segundo aspecto, a presente invenção refere-se ao uso de *Casearia sylvestris*, *Schinus terebinthifolius*, *Hymenaea courbaril* e *Lactobacillus* na preparação de uma composição cosmética de acordo com a presente invenção para prevenção e/ou tratamento de sinais resultantes do envelhecimento da pele.

10 [25] Ainda, em um terceiro aspecto, a presente invenção se refere ao método de prevenção e/ou tratamento de sinais resultantes do envelhecimento da pele que compreende a aplicação na pele de uma composição cosmética de acordo com a presente invenção.

[26] Os adjuvantes cosmeticamente aceitáveis de acordo com a
15 presente invenção incluem, sem qualquer limitação, aqueles conhecidos da técnica. Em realização particular os ingredientes podem incluir emolientes, umectantes, emulsificantes, agentes condicionantes, modificadores de sensorial, silicones, óleos, agentes reológicos, opacificantes, espessantes, agentes estruturantes, antioxidantes, quelantes, neutralizantes, pigmentos e
20 partículas sensoriais, fragrâncias, conservantes, solubilizantes, glicóis, entre outros. Mais particularmente, os ingredientes podem ser selecionados de água, acrilatos, pentileno glicol, etoxilados, gomas, glicerina, propanodiol, silicas, dimeticone, ácidos graxos, álcoois graxos, triglicerídeo caprílico/caprico, etil macadamiate, arachidil álcool, behenil álcool e arachidil glucosídeo, trealose,
25 esterres de jojoba, dicaprilil carbonato, fenoxietanol, hidroxiacetofenona, perfume, goma xantana, cetearil álcool, sódio gluconato e/ou tocoferol.

[27] Os exemplos a seguir, sem impor qualquer limitação, ilustram a presente invenção, particularmente no que diz respeito aos efeitos na quantificação de marcadores moleculares associados às funções gerais da pele.

30 EXEMPLOS

Exemplo 1. Composição de acordo com a presente invenção

[28] A composição cosmética de acordo com a presente

invenção foi preparada com 0,1% de extrato de guaçatonga (*Casearia sylvestris*), 0,025 % de extrato de aroeira (*Schinus terebinthifolius*), 0,25% de extrato de jatobá (*Hymenaea courbaril*) e 0,5% de *Lactobacillus* em peso da composição.

5 [29] Os adjuvantes utilizados foram água, glicerina, propanodiol, sílica, dimeticone, triglicerídeo caprílico/caprico, etil macadamiate, arachidil álcool, behenil álcool e arachidil glucosídeo, trealose, esteres de jojoba, dicaprilil carbonato, fenoxietanol, hidroxiacetofenona, perfume, goma xantana, cetearil álcool, sódio gluconato e tocoferol.

10 Exemplo 2. Avaliação na síntese de proteínas epidermais e dermais

[30] O objetivo do estudo foi avaliar os efeitos clínicos da composição da presente invenção na síntese de colágeno tipo I, elastina, ácido hialurônico, integrina $\alpha 6\beta 4$ em biópsias de pele humana por análise de imunofluorescência, para demonstrar efeitos antienvhecimento e

15 preenchimento.

[31] 09 voluntários completaram o estudo em até 28 dias após o uso do produto avaliado; média de idade: 48 ± 05 anos. Não houve relatos ou evidências de reações adversas durante o estudo.

[32] Os voluntários da pesquisa foram instruídos a interromper o

20 uso de qualquer produto cosmético em seus antebraços 72 horas antes do início do estudo. No dia do estudo, um local foi marcado nos antebraços direito e esquerdo dos voluntários da pesquisa, e a composição da presente invenção foi aplicada em um dos locais e o outro local foi controle (antebraço contralateral). Biópsias de pele humana foram coletadas antes do início do uso do produto

25 avaliado (T0), após 14 dias de uso domiciliar (T14) e após 28 dias de uso domiciliar (T28), seguidas de análise de imunofluorescência.

[33] Os resultados demonstraram que a composição da presente invenção promove um aumento na síntese de colágeno tipo I, elastina, ácido hialurônico, integrina $\alpha 6\beta 4$, favorecendo a sustentação, elasticidade e

30 preenchimento do tecido, reduzindo os efeitos do envelhecimento, como o aparecimento de rugas e flacidez.

[34] Especificamente na Figura 1, a intensidade de marcação

para colágeno tipo I está significativamente aumentada (69,17%) no Antebraço Tratado T14 (composição de acordo com a presente invenção); (P <0,0001).

[35] Especificamente na Figura 2, a intensidade de marcação para elastina é significativamente aumentada em 76,56% no antebraço tratado T14 (composição de acordo com a presente invenção); (P <0,01).

[36] Especificamente na Figura 3, a intensidade de marcação para ácido hialurônico é significativamente aumentada em 54,47% no antebraço tratado T14 (composição de acordo com a presente invenção); (P <0,01).

[37] Especificamente na Figura 4, a intensidade de marcação para integrina é significativamente aumentada 198,46 no Antebraço Tratado T14 (composição de acordo com a presente invenção); (P <0,0001).

[38] Os resultados demonstraram que a composição de acordo com a presente invenção promove um aumento na síntese de colágeno tipo I, elastina, ácido hialurônico, integrina $\alpha6\beta4$, favorecendo a sustentação, elasticidade e preenchimento do tecido, reduzindo os efeitos do envelhecimento, como o aparecimento de rugas e flacidez.

Exemplo 3. Avaliação *in vitro* da atividade prebiótica

[39] Foram testados dois grupos, tendo o primeiro (Grupo 1) recebido 0,5% da composição da presente invenção e o segundo (Grupo 2) 0,025% + 0,1% da composição da presente invenção

[40] O objetivo do estudo foi avaliar a atividade prebiótica considerando bactérias do microbioma cutâneo *in vitro*.

[41] Os microrganismos avaliados foram *Staphylococcus warneri*, 3 diferentes cepas de *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium striatum*, *Corynebacterium xerosis* e *Cutibacterium acnes*.

[42] As composições da presente invenção puderam ser metabolizadas por bactérias e induzir o crescimento após 24h de incubação, favorecendo aqueles considerados benéficos, conforme mostrado na figura 5. Além disso, conforme mostrado na tabela 2, a formação de biofilme foi maior nos microrganismos benéficos do que nos microrganismos não benéficos.

Exemplo 4. Avaliação da aspereza da pele por análise de imagem

[43] Dez voluntários de pesquisa completaram o estudo; idade média: 49 ± 8 anos; Fototipo (Fitzpatrick): 50% fototipo III, 50% fototipo IV.

[44] Os voluntários da pesquisa foram instruídos a interromper o uso de qualquer produto cosmético no rosto e antebraços 48 horas antes do início do estudo.

[45] A metodologia consistiu na avaliação da redução do ressecamento e melhora da textura da pele por meio da análise de imagens. As imagens da testa e antebraços foram obtidas no início do estudo, após 15 minutos e 2 horas da aplicação do produto investigacional.

[46] De acordo com os resultados obtidos com a aplicação do protocolo, pode-se concluir que:

[47] Antebraços: houve uma redução significativa de 12,6% na aspereza da pele após 15 minutos da aplicação da composição da presente invenção e houve uma redução significativa de 7,4% na aspereza da pele após 2 horas da aplicação da composição da presente invenção.

[48] Testa: houve uma redução significativa de 10,8% na aspereza da pele após 15 minutos da aplicação da composição da presente invenção e houve uma redução significativa de 3,9% na aspereza da pele após 2 horas da aplicação do produto experimental.

[49] Isso indicou que a aplicação da composição da presente invenção proporciona uma melhoria na textura da pele.

Exemplo 5. Avaliação da eficácia clínica

[50] Foi avaliada a eficácia clínica da composição da presente invenção com propriedades de redensificação dérmica, através da análise de imagem da pele por ultrassonografia de 50 MHz, por meio de um ultrassom 50 MHz Dub® SkinScanner.

[51] Para a mensuração dos parâmetros foi utilizado um equipamento de ultrassom de alta frequência de 50 MHz, com o auxílio de um software. As leituras foram realizadas aplicando-se a sonda na área de teste, apoiando-a sobre a pele em regiões previamente demarcadas. Utilizou-se também um gel na interface entre a sonda e a pele para obtenção de uma imagem com melhor qualidade.

[52] Os voluntários desse estudo consistiram em 22 mulheres com idades que variam entre 35 e 60 anos. Com base na distribuição das idades das participantes, verifica-se que a maioria apresenta idades entre 46 e 55 anos.

[53] Com base nos dados obtidos, observa-se que, após 60 dias de uso da formulação avaliada, houve um aumento significativo de 36,76%, 18,13% e 21,61% da eco-densidade dérmica nas regiões malar, periorbital e frontal, respectivamente. Verifica-se, ainda, que nessas áreas a distribuição dos dados tendeu a maiores valores desse parâmetro em T60 quando comparado a T0. Desse modo, sugere-se que a densidade da derme aumentou nas regiões estudadas sob influência do produto-teste.

[54] Verifica-se que a composição da presente invenção proporcionou um aumento significativo da eco-densidade dérmica em todas as regiões faciais avaliadas. O produto também provocou uma redução significativa da SENEb nos sítios malar e frontal, havendo um aumento de partícula hiperecólica. Além disso, a espessura dérmica da região malar reduziu significativamente em decorrência da organização horizontal e mais e compacta dos feixes de colágeno. Desse modo, observa-se que o uso do produto promoveu a redensificação dérmica.

Exemplo 6. Avaliação da hidratação da pele por corneometria.

[55] O objetivo deste estudo foi avaliar a melhora na hidratação da pele após a aplicação da composição da presente invenção.

[56] 10 voluntários de pesquisa completaram o estudo. Idade média: 46 ± 12 anos.

[57] Os voluntários da pesquisa foram instruídos a interromper o uso de qualquer produto cosmético em seus antebraços 48 horas antes do início do estudo. Antes do início das medições, os voluntários permaneceram 30 minutos em ambiente climatizado a 20 ± 2 ° C e $50 \pm 5\%$ de umidade relativa. Após o período de estabilização, as medições de capacitância da linha de base foram obtidas. Em seguida, a composição da presente invenção foi aplicada e os voluntários da pesquisa permaneceram no laboratório para as medidas após 15 minutos, 2, 4 e 8 horas. Nos dois dias seguintes, os voluntários da pesquisa retornaram ao laboratório para as medições após 24 e 48 horas da aplicação do

produto sob investigação.

[58] De acordo com o protocolo do estudo e os procedimentos utilizados para avaliar o aumento da hidratação da pele, foi possível observar que a composição da presente invenção proporcionou aumento significativo na hidratação da pele após 15 minutos, 2, 4, 8, 24 e 48 horas da aplicação, quando comparado ao controle (pele sem aplicação de nenhum produto).

[59] A composição da presente invenção mantém a pele hidratada por até 48 horas após a aplicação.

[60] A composição da presente invenção aumentou o nível de hidratação da pele em até 37,3%.

[61] 100% dos voluntários da pesquisa apresentaram melhora na hidratação da pele após a aplicação da composição da presente invenção.

Exemplo 7. Avaliação *in vitro* de potencial ação sobre a síntese de colágeno total e elastina

[62] Neste estudo foi avaliado os efeitos da composição da presente invenção sobre a síntese de Colágeno Total e Elastina em cultura de fibroblastos humanos, com a finalidade de avaliar potencial ação atenuadora dos aspectos e sinais do envelhecimento da pele.

[63] Fibroblastos dérmicos normais humanos (*Gibco, Thermo Scientific*) foram semeados em garrafas de 75 cm², cultivados e expandidos em estufa úmida, a 37 °C em presença de 5% de CO₂, utilizando meio de cultura específico. Ao atingirem 70-80% de confluência, as células foram tripsinizadas e semeadas em placas de 6 poços para posterior incubação com o produto-teste e avaliação do parâmetro proposto.

[64] As células foram incubadas com uma concentração de cada produto-teste avaliado, sob condição de redução do Soro Fetal Bovino para 1%. Em seguida, as células foram incubadas nas mesmas condições de cultivo supracitadas por mais 72 horas. Depois, o sobrenadante das células foi coletado para posterior mensuração da síntese de Colágeno Total, e o lisado celular foi coletado para quantificação da síntese de Elastina.

[65] O colágeno solúvel foi mensurado utilizando kit comercialmente disponível (*SIRCOL Soluble Collagen Assay, Biocolor Co., UK*).

Em tubos plásticos próprios para microcentrifuga, é adicionado 1mL do corante específico (*Sircol Dye Reagent*) em 100 µl de sobrenadante da amostra de ensaio. Em seguida, os microtubos são mantidos sob agitação em misturador orbital durante 30 minutos em temperatura ambiente (TA). O complexo formado colágeno-corante é precipitado por centrifugação (10.000 x g) por 10 minutos, então, o sobrenadante é descartado e o pellet formado (complexo colágeno+corante) é suspenso em 1mL de reagente alcali (solução NaOH 0.5 M). Depois, alíquotas de 200µL são transferidas para uma placa de 96 poços e a leitura das absorbâncias é determinada em 540 nm. A concentração de colágeno é determinada com base na curva de calibração utilizando um padrão de colágeno total fornecido pelo fabricante do kit.

[66] Os níveis de elastina são determinados segundo o protocolo descrito no kit de detecção Fastin (*Biocolor, Belfast, Irland*). O conteúdo de elastina das amostras é precipitado em tubos de microcentrifuga após a adição de 1 mL de reagente de precipitação (ácido tricloroacético e arginina) e incubação a 0°C por 24 horas. Após a centrifugação dos tubos (10.000 x g) por 10 minutos, o sobrenadante é descartado e o pellet é suspenso em 1 mL de TPPS (5,10,15,20-tetrafenil-21,23-porfina sulfonato) e 200 µL de sulfato de amônio saturado 90% para a formação do complexo elastina-corante. Após 60 minutos de agitação, os tubos são centrifugados (10.000 x g) por 10 minutos, o sobrenadante é descartado e o complexo formado é suspenso em 1 mL do reagente de dissociação (HCl guanidina e 1-propanol) que permite a formação de um complexo colorido, cuja absorbância é medida em 513 nm. A concentração de elastina é calculada com base na curva de calibração utilizando p padrão de elastina fornecido pelo fabricante do kit.

[67] Para análise estatística foi utilizada análise de variância (ANOVA). O teste de Dunnett foi utilizado quando a análise de variância detectava diferenças significativas entre os grupos. Em todos os grupos estudados, foram considerados estatisticamente significativos aqueles cujos valores de P foram inferiores a 0,05.

[68] Diferentes amostras foram testadas:

[69] A amostra 1 representa guaçatonga 0,01% + aroeira

0,0025% + *bifidobacterium* 0,1%;

[70] A amostra 2 representa guaçatonga 0,01% + aroeira 0,0025% + jatobá 0,25% + *bifidobacterium* 0,1%;

[71] A amostra 3 representa guaçatonga 0,01% + aroeira 0,0025% + jatobá 0,25% + sodio cocoil amino ácidos 0,1% (por exemplo, disponibilizado sob nome comercial Sepicalm) + 0,1% + *bifidobacterium* 0,1%;

[72] A amostra 4 representa guaçatonga 0,01% + aroeira 0,0025% + *Lactobacillus* 0,1%;

[73] A amostra 5 representa guaçatonga 0,01% + aroeira 0,0025% + jatobá 0,25% + *Lactobacillus* 0,1%;

[74] A amostra 6 representa guaçatonga 0,01% + aroeira 0,0025% + jatobá 0,25% + sodio cocoil amino ácidos 0,1% (por exemplo, disponibilizado sob nome comercial Sepicalm) + *Lactobacillus* 0,1%;

[75] A amostra 7 representa *bifidobacterium* 0,1%;

[76] A amostra 8 representa *Lactobacillus* 0,1%.

[77] Todas as amostras promoveram aumento significativo ($P < 0,01$) sobre a síntese de Colágeno Total *in vitro*, em 411, 1237, 370, 701, 2636, 388, 870 e 1417%, respectivamente, em comparação com o grupo Controle.

[78] Entretanto, de forma inesperada e surpreendente, baseado nos resultados do teste acima, bem como em estudos adicionais, nas mesmas condições de teste, observou-se um efeito sinérgico da composição de acordo com a presente invenção em colágeno total (Kit comercialmente disponível *SIRCOL Soluble Collagen Assay, Biocolor Co.*), conforme tabela a seguir:

Tabela 1. Resultados com marcador colágeno total; controle basal

| Amostra | Concentrações | Resultados |
|--|---------------------------------|------------|
| Guaçatonga + Aroeira+ <i>Lactobacillus</i> | 0,1% + 0,025% + 0,5% | 701% |
| Jatobá | 0,25 % (p/v) | 268% |
| Jatobá | 0,125 % (p/v) | 249% |
| Jatobá | 0,060 % (p/v) | 44% |
| Guaçatonga + Aroeira+ Jatobá + <i>Lactobacillus</i> | 0,1% + 0,025% + 0,25% + 0,5% | 2636% |

[79] Os resultados mostram que a composição de acordo com a

presente invenção apresentou resultado sinérgico de 2636% em colágeno total em detrimento dos resultados de 701% de Guaçatonga + Aroeira + *Lactobacillus* e 268% de jatobá.

[80] Os resultados apresentados no presente estudo também
5 demonstram que a composição de acordo com a presente invenção pode promover aumento significativo ($P < 0,01$) na síntese de elastina de 15%.

[81] Tais resultados comprovam a ação antienvhecimento da pele da composição de acordo com a presente invenção.

[82] O homem da técnica saberá prontamente avaliar, por meio
10 dos ensinamentos contidos no texto e nos exemplos apresentados, vantagens da invenção e propor variações e alternativas equivalentes de realização, sem fugir ao escopo da invenção, conforme definido nas reivindicações anexas.

REIVINDICAÇÕES

1. Composição cosmética caracterizada pelo fato de que compreende *Casearia sylvestris*, *Schinus terebinthifolius*, *Hymenaea courbaril*, *Lactobacillus* e adjuvantes cosmeticamente aceitáveis.

5 2. Composição cosmética, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que compreende de 0,001 a 5% de *Casearia sylvestris*, de 0,001 a 5% *Schinus terebinthifolius*, de 0,001 a 5% de *Hymenaea courbaril* e de 0,001 a 2% *Lactobacillus* em peso da composição.

10 3. Composição cosmética, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que compreende de 0,001 a 0,2% de *Casearia sylvestris*, de 0,001 a 1% *Schinus terebinthifolius*, de 0,001 a 1% de *Hymenaea courbaril* e de 0,001 a 1% *Lactobacillus* em peso da composição.

15 4. Composição cosmética, de acordo com a reivindicação 2, caracterizada pelo fato de que compreende 0,1% de *Casearia sylvestris*, 0,025 % de *Schinus terebinthifolius*, 0,25% de *Hymenaea courbaril* e 0,5% de *Lactobacillus* em peso da composição.

5. Composição cosmética, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizada pelo fato de que está na forma de creme, gel, suspensão, emulsão, elixir, sérum, óleo, pomada.

20 6. Composição cosmética, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizada pelo fato de que *Casearia sylvestris* e *Schinus terebinthifolius*, estarem na forma de extrato e *Hymenaea courbaril* na forma de extrato, óleo ou manteiga.

25 7. Composição cosmética, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizada pelo fato de que o *Lactobacillus* é selecionado de *Lactobacillus plantarum*.

8. Composição cosmética, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizada pelo fato de que é para o uso na prevenção e/ou tratamento de sinais resultantes do envelhecimento da pele.

30 9. Uso de *Casearia sylvestris*, *Schinus terebinthifolius*, *Hymenaea courbaril* e *Lactobacillus*, caracterizado pelo fato de que é na preparação de uma composição cosmética como definida em qualquer uma das reivindicações 1 a

8, para prevenção e/ou tratamento de sinais resultantes do envelhecimento da pele.

10. Método de prevenção e/ou tratamento de sinais resultantes do envelhecimento da pele, caracterizado pelo fato de que compreende a aplicação
5 na pele de uma composição cosmética como definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 8.

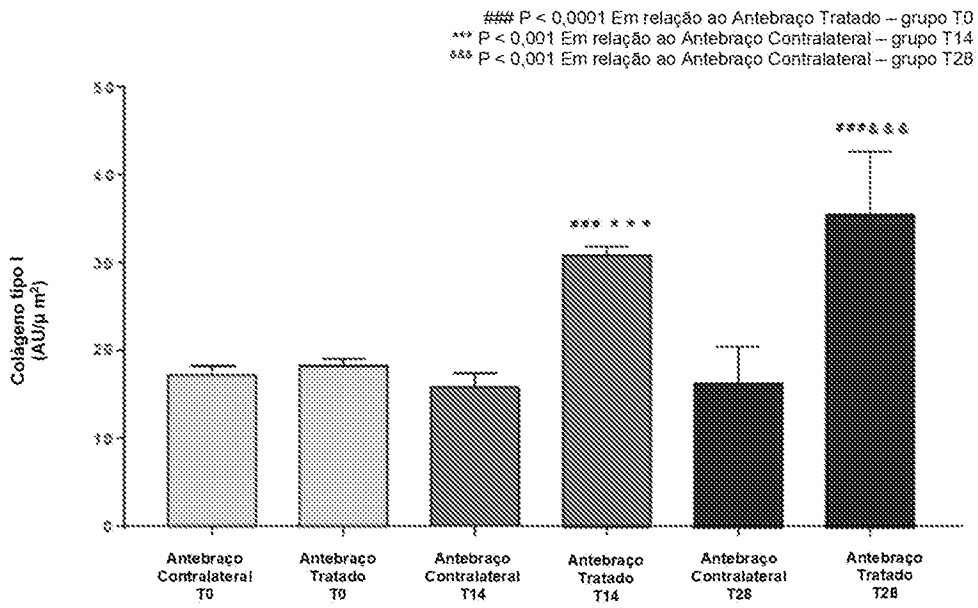


FIG. 1

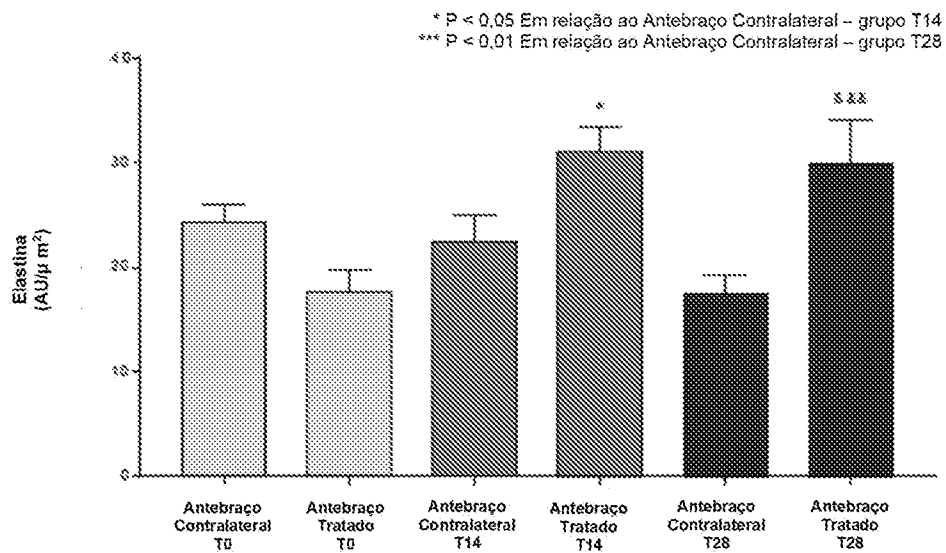


FIG. 2

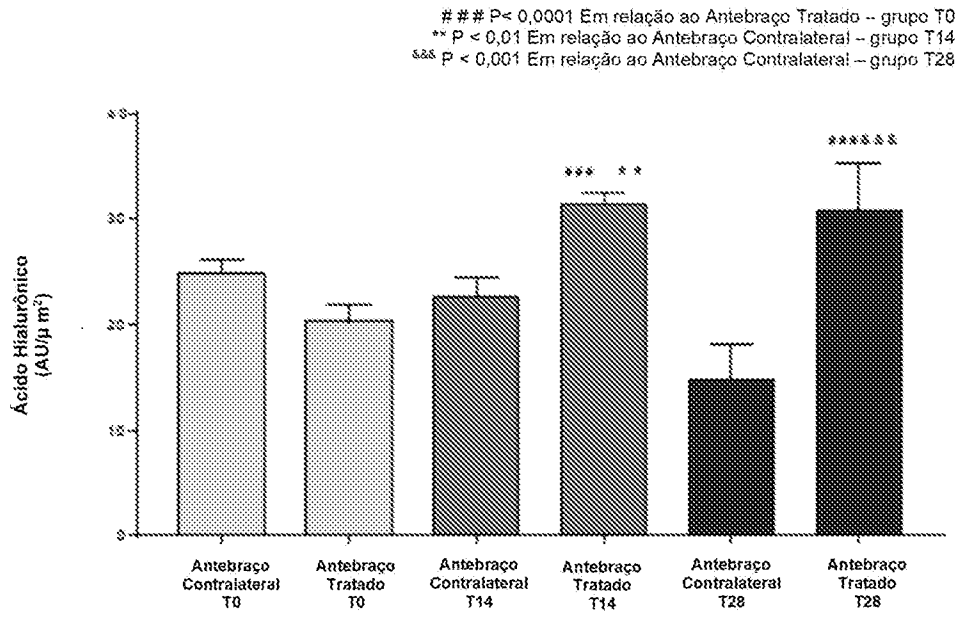


FIG. 3

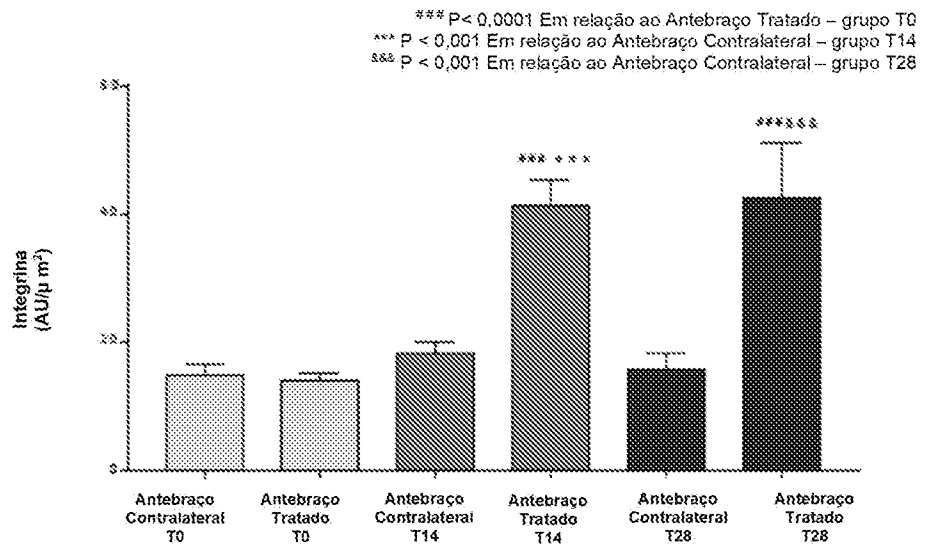


FIG. 4

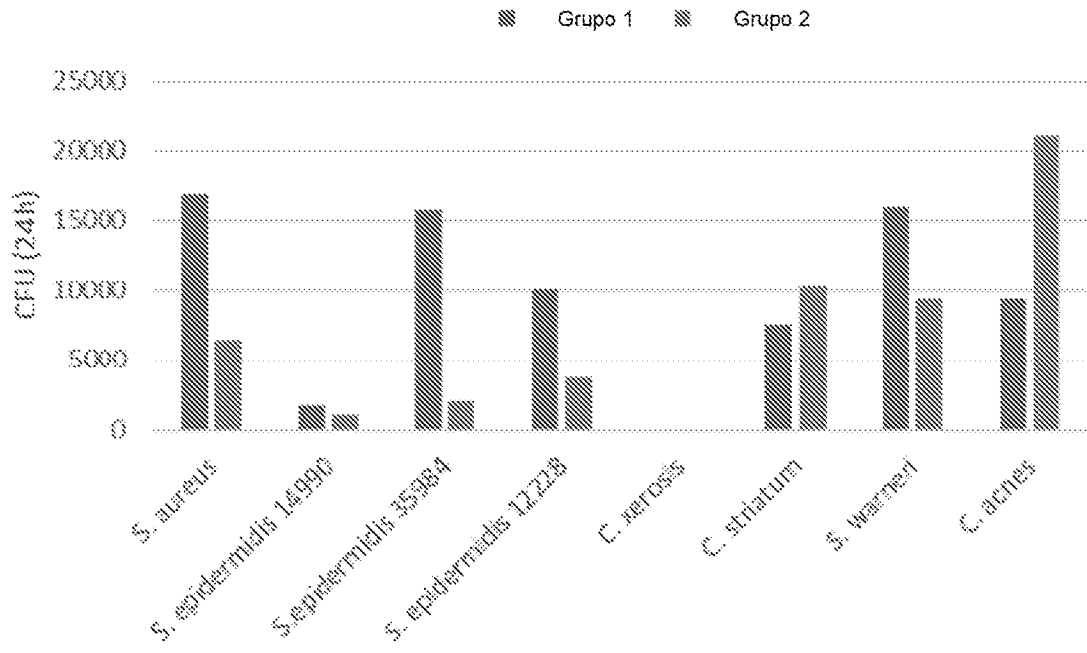


FIG. 5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/BR2021/050341

| | | |
|--|--|---|
| A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC: A61K8/97 (2017.01), A61K8/99 (2017.01), A61Q19/00 (2006.01), A61Q19/08 (2006.01) CPC: A61K8/97, A61K8/99, A61Q19/00, A61Q19/08 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) A61K8/97, A61K8/99, A61Q19/00, A61Q19/08 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched INPI - BR BANCO DE PATENTES Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) DERWENT, SPACENET, PORTAL CAPES | | |
| C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| Y | BR 112019009838 A2 (NATURA COSMÉTICOS SA [BR]) 31 May 2018 (2018-05-31) (page 2, claims 2 and 3) | 1 to 3, 5, 8 to 10 |
| Y | US 2020214969 AI (SHU AN ASHER [IL]) 09 July 2020 (2020-07-09) (pages 1 and 3) | 1 to 3, 5, 8 to 10 |
| Y X | WO 2020001747 AI (PROBI AB [SE]) 02 January 2020 (2020-01-02) (pages 6 to 10) | 1 to 3, 5, 8 to 10 7 |
| A | Campos, Evandro Pedro de; Trombini, Leticia Nava; Rodrigues, Rafaela; Portella, Décio Luis; Werner, Adriana Carolina; Ferraz, Miriele Cristina; Oliveira, Robson Vicente Machado de; Cogo, José Carlos; Oshima-Franco, Yoko; Aranha, Norberto; Gerenutti, Marli. Healing activity of <i>Casearia sylvestris</i> Sv. in second-degree scald burns in rodents. | --- |
| <input checked="" type="checkbox"/> | Further documents are listed in the continuation of Box C. | <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex. |
| * Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family | | |
| Date of the actual completion of the international search 12/04/2022 | | Date of mailing of the international search report 04/05/2022 |
| Name and mailing address of the ISA/ BR Facsimile No. | | Authorized officer Telephone No. |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/BR2021/050341

| C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
|---|--|-----------------------|
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| A | <p>BioMed Central, BMC Res Notes (2015) 8:269. DOI 10.1186/S13104-015-1251-4; 2015.</p> <p>Estevão, Lígia Reis Moura; Simões, Ricardo Santos; Cassini-Vieira, Puebla; Canesso, Maria Cecília Campos; Barcelos, Lucíola da Silva; Rachid, Milene Alvarenga; Câmara, Cláudio Augusto Gomes da; Evêncio-Neto, Joaquim. Schinus terebinthifolius Raddi (Aroeira) leaves oil attenuates inflammatory responses in cutaneous wound healing in mice. Acta Cir. Bras. 2017;32(9): 726-735. DOI: http://dx.doi.org/ 10. 1590/su 102-865020170090000005 ; 2017.</p> | --- |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/BR2021/050341

| | | | |
|--------------------|------------|--------------------|------------|
| BR 112019009838 A2 | 2019-08-20 | AR 110260 A1 | 2019-03-13 |
| | | CL 2019001417 A1 | 2019-08-09 |
| | | EP 3545946 A1 | 2019-10-02 |
| | | MX 2019005977 A | 2019-08-14 |
| | | US 2018147134 A1 | 2018-05-31 |
| | | WO 2018094495 A1 | 2018-05-31 |
| US 2020214969 A1 | 2020-07-09 | None | |
| WO 2020001747 A1 | 2020-01-02 | AU 2019295067 A1 | 2020-11-26 |
| | | BR 112020026167 A2 | 2021-03-23 |
| | | CA 3104589 A1 | 2020-01-02 |
| | | CN 112512541 A | 2021-03-16 |
| | | EP 3813859 A1 | 2021-05-05 |
| | | JP 2021529768 A | 2021-11-04 |
| | | KR 20210024580 A | 2021-03-05 |
| | | WO 2020002429 A1 | 2020-01-02 |

RELATÓRIO DE PESQUISA INTERNACIONAL

Depósito internacional Nº

PCT/BR2021/050341

A. CLASSIFICAÇÃO DO OBJETO

IPC: A61K8/97 (2017.01), A61K8/99 (2017.01), A61Q19/00 (2006.01), A61Q19/08 (2006.01)

CPC: A61K8/97, A61K8/99, A61Q19/00, A61Q19/08

De acordo com a Classificação Internacional de Patentes (IPC) ou conforme a classificação nacional e IPC

B. DOMÍNIOS ABRANGIDOS PELA PESQUISA

Documentação mínima pesquisada (sistema de classificação seguido pelo símbolo da classificação)

A61K8/97, A61K8/99, A61Q19/00, A61Q19/08

Documentação adicional pesquisada, além da mínima, na medida em que tais documentos estão incluídos nos domínios pesquisados

INPI - BR BANCO DE PATENTES

Base de dados eletrônica consultada durante a pesquisa internacional (nome da base de dados e, se necessário, termos usados na pesquisa)

DERWENT, SPACENET, PORTAL CAPES

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

| Categoria* | Documentos citados, com indicação de partes relevantes, se apropriado | Relevante para as reivindicações Nº |
|------------|--|-------------------------------------|
| Y | BR 112019009838 A2 (NATURA COSMETICOS SA [BR]) 31 de maio de 2018 (2018-05-31) (página 2, reivindicações 2 e 3) | 1 a 3, 5, 8 a 10 |
| Y | US 2020214969 A1 (SHUAN ASHER [IL]) 09 julho 2020 (2020-07-09) (páginas 1 e 3) | 1 a 3, 5, 8 a 10 |
| Y X | WO 2020001747 A1 (PROBI AB [SE]) 02 janeiro 2020 (2020-01-02) (páginas 6 e 10) | 1 a 3, 5, 8 a 10 7 |
| A | Campos, Evandro Pedro de; Trombini, Leticia Nava; Rodrigues, Rafaela; Portella, Décio Luis; Werner, Adriana Carolina; Ferraz, Miriele Cristina; Oliveira, Robson Vicente Machado de; Cogo, José Carlos; Oshima-Franco, Yoko; Aranha, Norberto; Gerenutti, Marli. Healing activity of <i>Casearia sylvestris</i> Sw. in second-degree scald burns in rodents. | --- |

 Documentos adicionais estão listados na continuação do quadro C Ver o anexo de famílias das patentes

* Categorias especiais dos documentos citados:

"A" documento que define o estado geral da técnica, mas não é considerado de particular relevância.

"E" pedido ou patente anterior, mas publicada após ou na data do depósito internacional

"L" documento que pode lançar dúvida na(s) reivindicação(ões) de prioridade ou na qual é citado para determinar a data de outra citação ou por outra razão especial

"O" documento referente a uma divulgação oral, uso, exibição ou por outros meios.

"P" documento publicado antes do depósito internacional, porém posterior a data de prioridade reivindicada.

"T" documento publicado depois da data de depósito internacional, ou de prioridade e que não conflita com o depósito, porém citado para entender o princípio ou teoria na qual se baseia a invenção.

"X" documento de particular relevância; a invenção reivindicada não pode ser considerada nova e não pode ser considerada envolver uma atividade inventiva quando o documento é considerado isoladamente.

"Y" documento de particular relevância; a invenção reivindicada não pode ser considerada envolver atividade inventiva quando o documento é combinado com um outro documento ou mais de um, tal combinação sendo óbvia para um técnico no assunto.

"&" documento membro da mesma família de patentes.

Data da conclusão da pesquisa internacional

12/04/2022

Data do envio do relatório de pesquisa internacional:

04/05/2022

Nome e endereço postal da ISA/BR



INSTITUTO NACIONAL DA
PROPRIEDADE INDUSTRIAL
Rua Mayrink Veiga nº 9, 6º andar
+55 21 3037-3663

Nº de fax:

Funcionário autorizado

Renata Lourenço Engelhardt

Nº de telefone:

+55 21 3037-3493/3742

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

| Categoria* | Documentos citados, com indicação de partes relevantes, se apropriado | Relevante para as reivindicações Nº |
|------------|--|-------------------------------------|
| A | <p>BioMed Central, BMC Res Notes (2015) 8:269. DOI 10.1186/s13104-015-1251-4; 2015.</p> <p>-----</p> <p>Estevão, Lígia Reis Moura; Simões, Ricardo Santos; Cassini-Vieira, Puebla; Canesso, Maria Cecília Campos; Barcelos, Lucíola da Silva; Rachid, Milene Alvarenga; Câmara, Cláudio Augusto Gomes da; Evêncio-Neto, Joaquim. Schinus terebinthifolius Raddi (Aroeira) leaves oil attenuates inflammatory responses in cutaneous wound healing in mice. Acta Cir. Bras. 2017;32(9):726-735. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/s0102-865020170090000005; 2017.</p> | --- |

RELATÓRIO DE PESQUISA INTERNACIONAL

Informação relativa a membros da família de patentes

Depósito internacional Nº

PCT/BR2021/050341

| Documentos de patente citados no relatório de pesquisa | Data de publicação | Membro(s) da família de patentes | Data de publicação |
|--|--------------------|---|--|
| BR 112019009838 A2 | 2019-08-20 | AR 110260 A1 CL 2019001417 A1 EP 3545946 A1 MX 2019005977 A US 2018147134 A1 WO 2018094495 A1 | 2019-03-13 2019-08-09 2019-10-02 2019-08-14 2018-05-31 2018-05-31 |
| US 2020214969 A1 | 2020-07-09 | Nenhum | |
| WO 2020001747 A1 | 2020-01-02 | AU 2019295067 A1 BR 112020026167 A2 CA 3104589 A1 CN 112512541 A EP 3813859 A1 JP 2021529768 A KR 20210024580 A WO 2020002429 A1 | 2020-11-26 2021-03-23 2020-01-02 2021-03-16 2021-05-05 2021-11-04 2021-03-05 2020-01-02 |