

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 596 587**

51 Int. Cl.:

A61K 31/353 (2006.01)

A61K 31/366 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.04.2010 PCT/IB2010/051897**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.11.2010 WO10125541**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.04.2010 E 10724138 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.07.2016 EP 2424526**

54 Título: **Una composición farmacéutica, dermatológica, nutricional o cosmética para combatir la acción inmunosupresora de agentes agresivos sobre la piel**

30 Prioridad:

30.04.2009 IT MI20090747

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

10.01.2017

73 Titular/es:

**GIULIANI S.P.A. (100.0%)
Via P. Palagi 2
20129 Milano, IT**

72 Inventor/es:

**GIULIANI, GIAMMARIA y
BENEDUSI, ANNA**

74 Agente/Representante:

RUO , Alessandro

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 596 587 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Una composición farmacéutica, dermatológica, nutricional o cosmética para combatir la acción inmunosupresora de agentes agresivos sobre la piel

Campo de la invención

[0001] La piel proporciona una barrera eficaz frente a los efectos nocivos del entorno, protegiendo los órganos internos del cuerpo. Las capas principales de la piel incluyen la epidermis, la dermis y la hipodermis. La epidermis humana es bastante gruesa y comprende hasta 15 capas. Esta representa la primera barrera defensiva del cuerpo frente a agentes nocivos físicos, químicos y ambientales, incluyendo radiación ultravioleta, por ejemplo, choques térmicos y osmóticos, y las sustancias contaminantes transportadas por el aire que hoy en día cada vez están más generalizados en el ambiente. Se sabe que la supresión del sistema inmunológico de la piel es uno de los mecanismos por medio de los cuales los agentes nocivos pueden inducir, por ejemplo, la aparición de tumores en la piel, afectando principalmente a la capa epidérmica y a las células correspondientes.

[0002] Para proporcionar un ejemplo, la radiación ultravioleta induce cambios tanto inmediatos como posteriores en la piel, durante y después del periodo de exposición. Además de cambios visibles, tales como la formación de células inducidas por insolación (también conocidas como "células quemadas por sol"), la producción de melanina por los melanocitos y un engrosamiento de la capa corneal debido a la acción de citoqueratinas específicas, varios cambios que suceden a nivel molecular son responsables de un daño potencial a largo plazo, tal como: disminución de antioxidante endógeno, que sucede en las horas inmediatamente posteriores a la exposición a radiación e induce una cascada de reacciones degenerativas (conocidas como estrés oxidativo) que afecta a la estructura completa de la piel, epidermis y dermis; la reacción inmune en la que las protagonistas son las células de Langerhans, estando la reacción mediada por citocinas y otros factores solubles; daño molecular al ADN, particularmente a través de la formación de 8-oxi D guanosina.

Estado de la técnica

[0003] Como referencias en la bibliografía sobre este tema, referentes a los efectos inmunosupresores de la radiación ultravioleta, merece la pena mencionar las siguientes:

Katiyar S, Elmetts CA, Katiyar SK. Green tea and skin cancer: photoimmunology, angiogenesis and DNA repair. J Nutr Biochem. mayo de 2007;18(5):287-96.

Skiba B, Neill B, Piva TJ. Gene expression profiles of TNF-alpha, TACE, furin, IL-1 beta and matrilysin in UVA- and UVB-irradiated HaCat cells. Photodermatol Photoimmunol Photomed. agosto de 2005;21(4):173-82.

Yawalkar N, Limat A, Brand CU, Braathen LR. Constitutive expression of both subunits of interleukin-12 in human keratinocytes. J Invest Dermatol. 106(1):80-3, 1996.

Curiel-Lewandrowski C, Venna SS, Eller MS, Cruikshank W, Dougherty I, Cruz PD Jr, Gilchrist BA. Inhibition of the elicitation phase of contact hypersensitivity by thymidine dinucleotides is in part mediated by increased expression of interleukin-10 in human keratinocytes. Exp Dermatol. abril 2003;12(2):145-52.

Schwarz T. Mechanisms of UV-induced immunosuppression. Keio J Med. diciembre 2005; 54(4):165-71.

[0004] El objeto de la presente invención es proporcionar un medio para combatir eficazmente la acción inmunosupresora sobre la piel de los agentes agresivos, por ejemplo sustancias contaminantes transportadas por el aire, agentes deshidratantes, radiación ultravioleta, choques térmico y osmótico, y otros.

[0005] La patente EP1328268, correspondiente a la patente WO0234262, y que es propiedad del mismo solicitante, describe la actividad antioxidante de una combinación de los flavonoides catequina y quercetina, basada particularmente en un estudio clínico que demostró una marcada actividad inhibidora de la agregación plaquetaria. Dicha patente también sugirió una actividad antioxidante que contrarrestaba el efecto de envejecimiento de la piel de la radiación ultravioleta.

[0006] El documento WO0149285 describe un medicamento para el tratamiento terapéutico, profiláctico y/o paliativo de cáncer, psoriasis, diabetes, reuma, enfermedades cardiovasculares, presión sanguínea elevada, niveles de colesterol elevados, caries, resfriados y estrés, que comprende una composición que contiene al menos un flavonoide como principio activo.

[0007] Hablando en general, sin embargo, es imposible decir si la actividad antioxidante de un compuesto dado, o combinación de compuestos, puede coincidir con una acción frente efectos inmunosupresores y en consecuencia con una actividad inmunoprotectora del tipo descrito anteriormente.

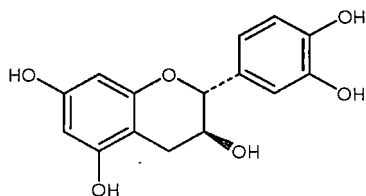
Sumario de la invención

[0008] De acuerdo con la presente invención, se ha descubierto sorprendentemente a partir del resultado de un estudio experimental que la catequina y la quercetina, combinadas entre sí en una proporción cuantitativa

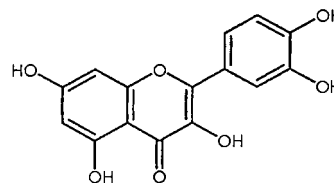
seleccionada, constituyen un principio activo eficaz para combatir la acción inmunosupresora sobre la piel de los agentes agresivos mencionados anteriormente.

Descripción detallada de la invención

[0009] Debajo se encuentran las fórmulas estructurales y pesos moleculares de catequina y quercetina:



Catequina (PM 290)



Quercetina (OM 302)

[0010] Por tanto, el objeto de la presente invención es el uso de dicha combinación como un principio activo en la preparación de una composición farmacéutica, dermatológica, nutricional o cosmética para combatir la acción inmunosupresora sobre la piel de los siguientes agentes agresivos: sustancias contaminantes transportadas por el aire, agentes deshidratantes, radiación ultravioleta, choques térmico y osmótico, y la composición correspondiente, caracterizada por que comprende, como principio activo, una combinación de catequina y quercetina en una proporción molar en el intervalo de 6:1 y 3:1, respectivamente.

[0011] La composición de acuerdo con la invención puede formularse para uso tópico sobre la piel o para uso sistémico, por ejemplo en una forma adecuada para administración oral.

[0012] A continuación están varias descripciones de composiciones de acuerdo con la presente invención, que no deben interpretarse como limitantes.

[0013] En los ejemplos 1-5, las cantidades de los componentes están expresadas en porcentajes peso a peso dentro de un intervalo dado, según se indica más adelante. Para quercetina, por otra parte, se indica una proporción molar de quercetina a catequina de 1:5, en relación a la cantidad de catequina seleccionada dentro de dicho intervalo indicado.

Ejemplo 1

[0014]

LECHE SOLAR

Componente (nombre INCI)	Cantidad %p/p
PEG-30 dipolihiidroxiestearato Poligliceril-4 diisostearato polihiidroxiestearato	2,00-5,00
Sebacato	2,00-6,00
Alcohol batílico	0,03- 0,080
Metoxicinamato de etilhexilo	5,00-11,00
Benzoato de dietilamino hidroxibenzoil hexilo	5,00-11,00
Butil metoxidibenzoilmetano	1,00-4,00
Salicilato de etilhexilo	1,00-5,000
Trigliceruro caprílico/cáprico	1,00-10,00
benzoato de alquilo C12-15	3,00-10,00
Dicaprilato/dicaprato de butilen glicol	4,00-10,00
Sebacato de diisopropilo	1,00-5,00
Manteca de Karité	0,40-3,00
Aceite de germen de maíz	0,50-1,00
Aceite de aguacate insaponificable	0,40-2,00
Calendula officinalis	1,00-5,00
Citrato de trietilo	0,20-0,80
Copolímero de Vp/eicoseno	0,30-2,00
Behenato/eicosadioato de glicerilo	1,00-3,00
Pentaeritritil tetra-di-t-butilo	
Hidroxihidrocinnamato	0,01- 0,050
Etilhexil triazona	1,00-4,00
Estearato de magnesio	0,10- 0,80
Beta-sitosterol	0,05-0,50

Componente (nombre INCI)	Cantidad %p/p
Ácido benzoico	0,20-0,50
Triclosan	0,02-0,70
Ácido glicirretínico	0,02-0,70
Nitrato de boro	0,20-0,50
Dióxido de titanio	0,50-5,00
Hidróxido de aluminio	0,50-5,00
Ácido esteárico	0,50-3,00
Glicerina	1,00-5,00
Sorbitil furfural	0,10-0,90
Catequina	0,005-0,05
Sulfato de magnesio	0,70
Ciclopentasiloxano	1,00-5,00
Caprilil glicol	0,10-0,80
Quercetina	1:5 (proporción molar de quercetina a catequina)
Glutamato de dicarboximetilo tetrasódico	0,10-0,05
Perfume	0,20
Hidroxidimetoxi bencilmalonato de bis-etilhexilo	0,01-0,50
Lecitina hidrogenada	0,05-1,00
Agua c.s.	100 g

Ejemplo 2**[0015]**

5

LECHE SOLAR

Componente (nombre INCI)	Cantidad p/p (%)
triglicéridos C10-18	1,00 - 10,00
benzoato de alquilo C12-15	3,00- 10,00
Dicaprilato/dicaprato de butilen glicol	4,00-10,00
Sebacato de diisopropilo	1,00-5,00
Docosanol	0,40-3,00
Escualano	0,40-2,00
PEG- 30 dipolihidroxiestearato	2,00-5,00
Poligliceril-4	2,00-6,00
diisostearato/Polihidroxiestearato/sebacato	2,00-6,00
Alcohol batílico	0,03- 0,08
Metoxicinamato de etilhexilo	5,00- 11,00
Benzoato de dietilamino hidroxibenzoíl hexilo	5,00-11,00
Butil metoxidibenzoilmetano	1,00-4,00
Salicilato de etilhexilo	1,00-5,00
Aceite de germen de maíz	0,50-1,00
Calendula officinalis	1,00-5,00
Citrato de trietilo	0,20-0,80
Copolímero de Vp/eicoseno	0,30-2,00
Behenato/ eicosadioato de glicerilo	1,00-3,00
hidroxihidrocinnamato de pentaeritritil tetra-di-t-butilo	0,01- 0.050
Etilhexil triazona	1,00-4.000
Estearato de magnesio	0,10- 0,80
Beta-sitosterol	0,05-0,50
Ácido benzoico	0,20-0,50
Triclosan	0,02-0,70
Ácido glicirretínico	0,02-0,70
Nitrato de boro	0,20-0,50
Dióxido de titanio	0,50-5,00
Hidróxido de aluminio	0,50-5,00
Ácido esteárico	0,50-3,00
Glicerina	1,00- 5,00
Catequina	0.005-0,05
Sulfato de magnesio	0,10-0,80
Ciclopentasiloxano	1,00-5,00
Caprilil glicol	0,50-0.800
Sorbitil furfural	0,10-0,90
Quercetina	1:5 (proporción molar de quercetina a catequina)
Glutamato de dicarboximetilo tetrasódico	0,10-0,05

Componente (nombre INCI)	Cantidad p/p (%)
Perfume	0.200
Extracto de raíz de Coleus Forskohlii	0,01-0,10
Hidroxidimetoxi bencilmalonato de bis-etilhexilo	0,01-0,50
Lecitina hidrogenada	0,05-1,00
Agua c.s.	100 g

Ejemplo 3**[0016]**

5

CREMA SOLAR

Componente (nombre INCI)	Cantidad p/p (%)
PEG- 30 dipolihiidroxiestearato	1,00-5,00
Poligliceril-4 diisostearato polihidroxiestearato sebacato	1,00-5,00
Alcohol batílico	0,03-0,08
Metoxicinamato de etilhexilo	5,00-11,00
Butil metoxidibenzoilmetano	0,50-1,00
Benzoato de dietilamino hidroxibenzoíl hexilo	5,00-11,00
Salicilato de etilhexilo	2,00-7,00
Triglicérido caprílico/cáprico	3,00-8,00
Benzoato de alquilo C12-15	3,00-8,00
Dicaprilato/dicaprato de butilen glicol	3,00-8,00
Sebacato de diisopropilo	1,00-6,00
Manteca de Karité	0,40-3,00
Aceite de aguacate insaponificable	0,40-3,00
Olea europea	0,40-3,00
Extracto de Calendula Officinalis	0,40-3,00
Copolímero de Vp/eicoseno	0,50-1,20
Behenato/ eicosadioato de glicerilo	2,00-3,50
Citrato de trietilo	0,10-0,60
hidroxihidrocinnamato de pentaeritritil tetra-di-t-butilo	0,025-0,050
Etilhexil triazona	1,00-2,500
Beta-sitosterol	0,05-0,300
Ácido benzoico	0,20-0,30
Triclosan	0,20-0,500
Ácido glicirretínico	0,020-0,500
Nitruro de boro	0,020-0,500
Sorbitil furfural	0,10-0,90
Glicerina	1,00-5,00
Sulfato de magnesio	0,02-0,90
Goma Xantana	0,20-0,40
Ciclopentasiloxano	1,00-3,50
Catequina	0,005-0,05
Quercetina	1:5 (proporción molar de quercetina a catequina)
Caprilil glicol	0,50-0,800
Dimetil sililato de sílice	1,00-3,00
Octenilsuccinato de almidón y aluminio	1,00-3,00
Glutamato de dicarboximetilo tetrasódico	0,10-0,50
Extracto de raíz de Coleus Forskohlii	0,005-0,05
Hidroxidimetoxi bencilmalonato de bis-etilhexilo	0,10-0,50
Lecitina hidrogenada	0,05-0,150
Perfume	0,20
Agua c.s.	100 g

Ejemplo 4**[0017]**

10

LECHE CORPORAL PARA DESPUÉS DEL SOL

Componente (nombre INCI)	Cantidad p/p (%)
Glicerina	1,00-6,00
Cetil hidroxietilcelulosa	0,10-0,40
Goma Xantana	0,10-0,40
Alantoína	0,10-0,35
Almidón de tapioca	1,00-4,00
Hialuronato sódico	0.025-0,35

Componente (nombre INCI)	Cantidad p/p (%)
EDTA disódico	0,025-0,20
Catequina	0,005-0,05
Quercetina	1:5 (proporción molar de quercetina a catequina)
Estearato de sorbitán	2,00-5,00
Cocoato de sacarosa	0,10-1,00
Ácido glicirretínico	0,30-0,70
Escualano	2,00-5,00
Beta-sitosterol	0,10-0,50
Triglicérido caprílico/cápricos	1,00-5,00
Manteca de karité	1,00-5,00
Calendula officinalis	1,00-3,00
Dimeticona	1,00-3,00
Hidroximetilglicinato sódico	0,25-0,50
Perfume	0,30
Delta tocoferol	0,02-0,25
Sorbitil furfural	0,10-0,90
Agua c.s.	100 g
Ácido láctico (corrector del pH)	cs.

Ejemplo 5

[0018]

5

CREMA FACIAL PARA DESPUÉS DEL SOL

Componente (nombre INCI)	Cantidad p/p (%)
Glicerina	2,0-5,0
Almidón de tapioca	1,00-2,00
Cetil hidroxietilcelulosa	0,10-0,50
Hialuronato sódico	0,05-0,5
EDTA tetrasódico	0,10-0,50
Catequina	0,005-0,05
Quercetina	1:5 (proporción molar de quercetina a catequina)
Ácido glicirretínico	0,10-0,70
Olivato de cetearilo	1,00-4,00
Olivato de sorbitán	0,50-3,00
Manteca de karité	1,0-8,00
Alcohol cetostearílico	0,50-2,00
Beta sitosterol	0,10-0,50
Delta tocoferol	0,05-0,20
Dimeticona	0,50-1,50
Polímero reticulado de dimeticona	0,20-1,50
Sorbitil furfural	0,5-1,00
Calendula officinalis	0,50-5,00
Hidroximetilglicinato sódico	0,25-0,50
Perfume	c.s.
Agua c.s.	100,00

Ejemplo 6

PRODUCTO DIETÉTICO PARA PREVENIR DAÑO DEBIDO A INMUNOSUPRESIÓN DE LA PIEL INDUCIDA

10

[0019] Cada cápsula de gelatina blanda (perla) contiene:

Catequina	80 mg
Quercetina	20 mg
Vitamina E (dl-alfa tocoferol)	5 mg
Aceite de soja	290 mg
Lecitina de soja	5 mg
Mono- y diglicéridos de ácidos grasos	30 mg
Ingredientes de la cápsula:	
Gelatina	145 mg
Glicerol	67 mg

Ejemplo 7

PRODUCTO DIETÉTICO EN FORMA DE COMPRIMIDO PARA PREVENIR DAÑO DEBIDO A INMUNOSUPRESIÓN DE LA PIEL INDUCIDA

5

[0020]

Cada comprimido contiene clorhidrato de L-arginina	200-250 mg
Celulosa microcristalina	100-250 mg
Fosfato cálcico dibásico dihidrato	100-200 mg
Hidroxipropilmetilcelulosa	30-100 mg
Cinc (como quelato de aminoácido)	7,5 mg
Cobre (como quelato de aminoácido)	1,2 mg
Catequina	4,03 mg
Quercetina	0,84 mg
Mono- y diglicéridos de ácidos grasos (E471)	5-10 mg
Dióxido de silicio (sílice coloideo)	5-10 mg
Rojo de óxido de hierro (Agente colorante E172)	0,44 mg
Biotina	0,17 mg

Ejemplo 8

10 PRODUCTO DIETÉTICO EN CÁPSULAS DE GELATINA FIRMES PARA PREVENIR DAÑO DEBIDO A INMUNOSUPRESIÓN DE LA PIEL INDUCIDA

[0021] Cada cápsula de gelatina firme contiene:

Quercetina	10,4 mg
Catequina	40 mg
Monoclorhidrato de lisina	110 mg
Fosfato cálcico dibásico dihidrato	50-100 mg
Celulosa microcristalina	50-100 mg
Estearato de magnesio	5-10 mg
Dióxido de silicio	3-6 mg
Gelatina natural	cápsula

15

Ejemplo 9

PRODUCTO DIETÉTICO PARA PREVENIR DAÑO DEBIDO A INMUNOSUPRESIÓN DE LA PIEL INDUCIDA - cápsula de gelatina blanda (perla)

20

[0022] Cada cápsula de gelatina blanda (perla) contiene:

Quercetina	17 mg
Catequina	83 mg
Vitamina E (dl-alfa tocoferol)	5 mg
Aceite de borraja	50 mg
Aceite de soja	350 mg
Lecitina de soja	5 mg
Mono- y di-glicéridos de ácidos grasos	30 mg
Ingredientes de la cápsula:	
Gelatina	145 mg
Glicerol	67 mg

Ejemplo 10

25

PRODUCTO DIETÉTICO EN FORMA DE COMPRIMIDO PARA PREVENIR DAÑO DEBIDO A INMUNOSUPRESIÓN DE LA PIEL INDUCIDA

[0023] Cada comprimido contiene:

30

d-Biotina	0,23 mg
Ubidecarenona	10 mg
Vitamina C	60 mg
Vitamina E (dl-alfa tocoferol)	15 mg
Extracto seco de Vitis Vinifera de semillas y hojas (conteniendo catequina y quercetina en una proporción molar de 5:1)	60 mg

Clorhidrato de piridoxina	3,6 mg
Luteína	2 mg
Cinc (como quelato de aminoácido)	7,5 mg
Cobre (como quelato de aminoácido)	1,2 mg
Manganeso (como quelato de aminoácido)	1,75 mg
Hidroxipropilmetilcelulosa	30-50 mg
Fosfato cálcico dibásico dihidrato	50-100 mg
Celulosa microcristalina	50-100 mg
Estearato de magnesio 5-10 mg	3-6 mg
Dióxido de silicio	

Ejemplo 11

5 PRODUCTO DIETÉTICO PARA PREVENIR DAÑO DEBIDO A INMUNOSUPRESIÓN DE LA PIEL INDUCIDA - SOBRECITOS MONODOSIS

[0024] Cada sobrecito contiene:

Extracto seco de <i>Vitis Vinifera</i> de semillas y hojas (conteniendo catequina y quercetina en una proporción molar de 5:1)	60 mg
<i>Lactobacillus plantarum</i> liofilizado	1.000.000 UFC/dosis
Leucina	10-20 mg
Maltodextrina	500-1000 mg

10 **[0025]** La eficacia del principio activo de acuerdo con la invención se ensayó por medio de experimentos *in vitro*.

Breve descripción de las figuras

15 **[0026]** A continuación, el estudio experimental se describe con referencia a los gráficos en las figuras adjuntas.

La Fig. 1 muestra un gráfico que se refiere a la expresión de la citocina IL-10.

La Fig. 2 muestra un gráfico que se refiere a la expresión de la citocina IL-12.

La Fig. 3 muestra un gráfico que se refiere a la expresión de TNF- α de acuerdo con la descripción detallada dada más adelante.

20 La Fig. 4 muestra la inmunohistoquímica de los dímeros de timina en la muestra irradiada (1 MED), con y sin tratamiento con la combinación de catequina y quercetina 4 horas después de la irradiación.

ESTUDIO IN VITRO

25 INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO

[0027] Este estudio se realizó en epidermis humana reconstruida *in vitro* para asegurar la acción inmunosupresora y preventiva de la combinación de catequina y quercetina frente a daño del ADN inducido por radiación UVA y UVB a una dosis eritomatosa mínima (1 MED).

30 **[0028]** Se sabe que el daño del ADN inducido por UV es uno de los mediadores moleculares principales de foto-inmunosupresión (Schwarz et al., 2005).

35 **[0029]** Un estudio realizado por el grupo Kripke (1992) demostró claramente que el ADN es el objetivo preferencial de radiación UV en el proceso de provocar inmunosupresión sistémica, y que el suceso molecular primario que media este tipo de inmunosupresión inducida por UV es la formación de dímeros de pirimidina. En particular, los métodos específicamente activos frente a este tipo de lesión de ADN son herramientas eficaces para restaurar la función inmunológica.

40 **[0030]** En paralelo con el estudio sobre daño del ADN inducido por UV, también se analizaron las citocinas pro-inflamatorias TNF-alfa e IL-12, y la citocina anti-inflamatoria IL-10.

45 **[0031]** El enfoque experimental adoptado para el estudio como un todo nos posibilita identificar ya en una etapa temprana (y en consecuencia muy importante para su acción dermatológica en la prevención del daño fotoinducido) el grado de actividad de las moléculas consideradas para combatir los procesos de inmunosupresión inducidos por la radiación UV en una afección fisiológica de epidermis vital sometida a estrés inducido por UV; esto se realizó usando parámetros relevantes, dinámicos y altamente sensibles, tales como la expresión de mediadores y daño al ADN a nivel molecular.

50 **[0032]** Es bien conocido que determinadas citocinas, y la interleucina IL-12 en particular, tienen una actividad inmunomoduladora en relación a las células inmunocompetentes, es decir las células de Langerhans. Los inventores

han decidido en consecuencia usar este mecanismo temprano de respuesta inmune mediada por queratinocito epidérmico, seguido de radiación UV para evaluar la actividad de los compuestos considerados en el presente documento.

[0033] IL-10 es un factor crucial para conservar el equilibrio final entre resistencia a patógenos e inflamación sistémica dañina, y es un inhibidor potente de la producción de IL-12 (Haste-Amezaga et al., 1998, D'Andrea et al., 1993).

[0034] La expresión de IL-12 en las células de queratina epidérmicas después de la radiación UV se aseguró usando el método de RT-PCR.

[0035] El efecto protector frente a daño del ADN se juzgó a partir de la formación de dímeros con una base de pirimidina (timina) a nivel epidérmico basal y supra-basal, que ya se vuelve evidente 4 horas después de la exposición: estos dímeros son marcadores reconocidos de NMSC (cáncer de piel distinto de melanoma) y su formación se asegura mediante inmunohistoquímica. El examen inmunohistoquímico de los tejidos tratados con catequina y quercetina mostraron una inmunotinción más limitada, indicativa de una reducción de los dímeros de timina. La Figura 4 muestra imágenes de los portaobjetos inmunohistoquímicos de los dímeros de timina, con la muestra irradiada sin tratar (1 MED) a la izquierda y la muestra tratada con la mezcla de catequina y quercetina de acuerdo con la invención a la derecha, 4 horas después de la irradiación, mostrando la tinción celular más limitada en este último.

[0036] El mismo método se usó para asegurar la formación de 8-oxi D-guanosina, un marcador específico de daño de ADN inducido por UVA.

[0037] Para este experimento, se usaron una solución fisiológica al 0,9 % como sustancia de control inactiva y una mezcla que contenía catequina y quercetina, en una proporción peso/peso de 5:1, disueltas en una solución fisiológica como la composición de acuerdo con la invención.

[0038] Las Figuras 1-3 en los dibujos adjuntos muestran gráficos relativos a las expresiones de IL-10, IL-12 y TNF-alfa obtenidas para un control sin irradiar, un control irradiado sin tratar y una muestra irradiada tratada con la composición de acuerdo con la invención (catequina + quercetina).

[0039] Cada par de columnas adyacentes en los párrafos se refiere al caso de un tratamiento UV de 4 horas (columna más pálida a la izquierda, 4 h) y un tratamiento de 24 horas (columnas más oscuras a la derecha, 24 h), respectivamente, irradiadas como en 1 MED.

RESULTADOS

[0040] El resultado de una valoración histológica usando inmunofluorescencia demostró que:

- a) 8 oxi D-guanosina, un biomarcador de estrés oxidativo inducido por UVA: 4 horas después de la irradiación, la mezcla de catequina y quercetina demostró un efecto protector, puesto que la formación de 8 oxi se inhibió en comparación con el control irradiado;
- b) dímeros de timina: hubo evidencia de la inhibición de la formación de dímero de pirimidina 4 horas después de la exposición en la mezcla tratada con catequina y quercetina.

[0041] Los niveles de IL-10 aumentados en comparación con el control sin irradiar, después de radiación de UV con y sin tratamiento de catequina + quercetina, son una prueba de los cambios orientados a la inmunosupresión que suceden en el entorno cutáneo (Fig.1).

[0042] Por otro lado, la predominancia de IL-10 sobre IL-12 (Fig. 2) es esencial para favorecer la regresión de la respuesta inflamatoria después de la radiación UV. En particular, un dibujo de niveles de IL-10 más altos y niveles de IL-12 más bajos en la piel es coherente con el efecto inmunosupresor de la exposición a UV y la necesidad de la piel de restringir la respuesta inflamatoria (Kang et al., 1997).

[0043] IL-12 también se suprime por TNF-alfa, otra citocina estrechamente vinculada a IL-12 en la regulación de la respuesta inflamatoria y la producción de IFN-gamma (Ma y Trinchieri, 2001). TNF-alfa desempeña una función clave como un mediador de daño de la piel inducido por UV (Barr et al., 1999).

[0044] La exposición a UV provoca un incremento en los niveles de TNF-alfa, mientras que el tratamiento con catequina y quercetina conduce a una reducción de los niveles de TNF-alfa.

[0045] Este descubrimiento, según se ilustra en la Figura 3, está relacionado estrechamente con el aumento que el tratamiento de catequina + quercetina induce en los niveles de IL-10, puesto que IL-10 es un potente inhibidor de TNF-alfa (Bogdan et al., 1991).

CONCLUSIONES

5 **[0046]** Los resultados del estudio descrito anteriormente demostraron globalmente una acción protectora sorprendentemente de la mezcla de catequina y quercetina de acuerdo con la invención, asociada con una actividad anti-inflamatoria que surge de la prueba de la acción protectora frente a daño del ADN inducido por UVA y/o UVB, y de los niveles de expresión de IL-10 y TNF-alfa.

[0047] Así se demostró la eficaz consecución de los objetivos de la invención.

REIVINDICACIONES

- 5 **1.** Una mezcla de catequina y quercetina en una proporción molar en el intervalo de 6:1 a 3:1, respectivamente, para su uso en el tratamiento de inmunosupresión inducida en la piel por los siguientes agentes agresivos: sustancias contaminantes transportadas por el aire, agentes deshidratantes, rayos ultravioleta y choques térmicos y osmóticos.
- 2.** Una mezcla para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada por que** dicha mezcla de catequina y quercetina está en una proporción molar de 5:1, respectivamente.
- 10 **3.** Una mezcla para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicho tratamiento está asociado con una actividad anti-inflamatoria.
- 15 **4.** Una composición dermatológica farmacéutica para su uso en el tratamiento de la acción inmunosupresora inducida en la piel por agentes agresivos, incluyendo sustancias contaminantes transportadas por el aire, agentes deshidratantes, rayos ultravioleta y choques térmicos y osmóticos, **caracterizada por que** comprende como principio activo una mezcla de catequina y quercetina en una proporción molar en el intervalo de 6:1 a 3:1, respectivamente.
- 20 **5.** Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 4, **caracterizada por que** dicho principio activo consiste en una mezcla de catequina y quercetina en una proporción molar de 5:1.
- 6.** Una composición para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 4 y 5, **caracterizada por que** esta se formula para uso tópico.
- 25 **7.** Una composición para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 4 y 5, **caracterizada por que** esta se formula para uso oral.
- 8.** Una composición para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 4 y 5, **caracterizada por que** esta se formula para uso sistémico.

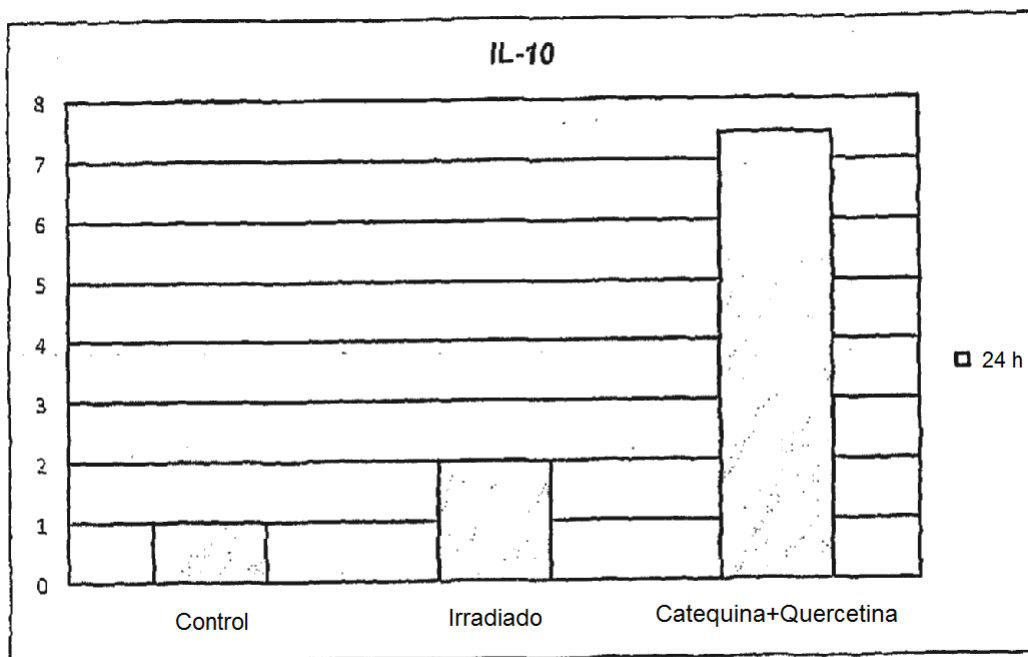


FIG. 1 Expresión de IL-10 (Control - Irradiado - Catequina + Quercetina)

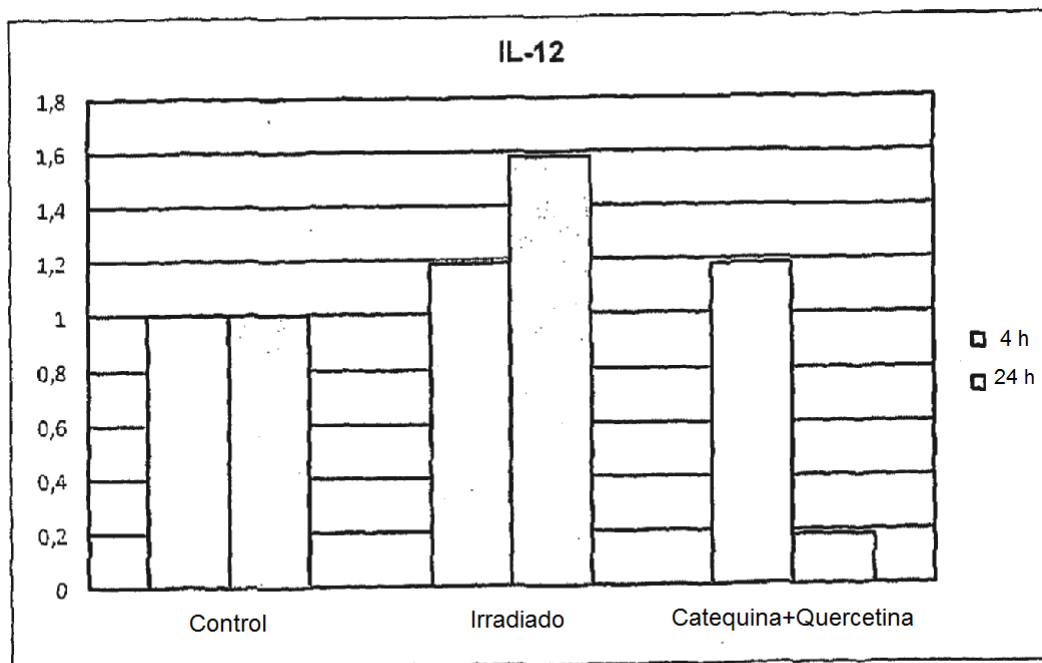


FIG. 2 Expresión de IL-12 (Control - Irradiado - Catequina + Quercetina)

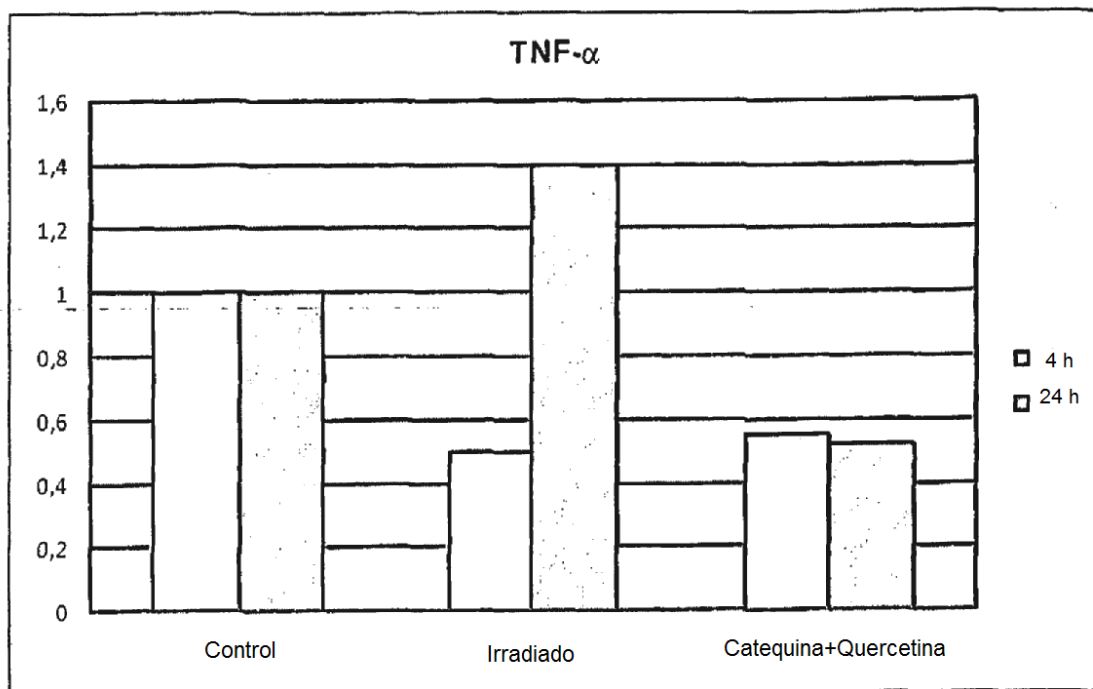
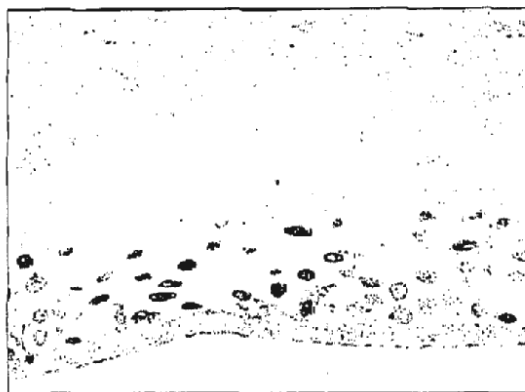
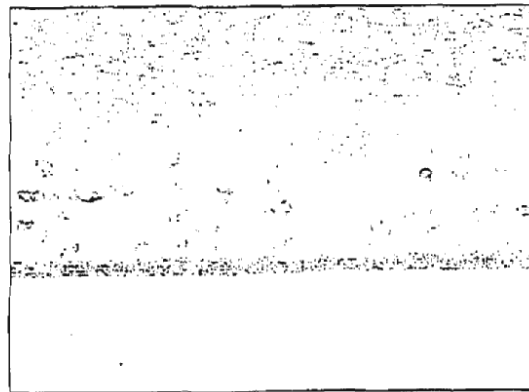


FIG. 3 Expresión de TNF- α (Control - Irradiado - Catequina + Quercetina)



4 horas después de radiación



Tratamiento de catequina y quercetina

4 horas después de radiación

FIG. 4 Inmunohistoquímica