

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 670 335**

51 Int. Cl.:

A61K 8/67 (2006.01)

A61K 8/97 (2007.01)

A61Q 19/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.10.2009** **PCT/BR2009/000359**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.05.2010** **WO10048686**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.10.2009** **E 09748691 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.02.2018** **EP 2344118**

54 Título: **Composición antioxidante**

30 Prioridad:

30.10.2008 FR 0857394

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

30.05.2018

73 Titular/es:

NATURA COSMÉTICOS S.A. (100.0%)
Rodovia Régis Bittencourt, Km 293 Itapecerica da
Serra
São Paulo- SP, Cep: 06882-700, BR

72 Inventor/es:

DA LUZ MOREIRA, PATRÍCIA;
ARROTEIA, KELEN FABIOLA;
FERRARI, CINTIA ROSA;
SIQUEIRA JORGE, ADRIANOTADEU;
CARVALHÃES LAGO, JULIANA y
GESZTESI, JEAN LUC

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 670 335 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

Composición antioxidante

La presente invención se refiere a un complejo antioxidante para ayudar a evitar y proteger contra el deterioro de células y la piel resultante de la acción de radicales libres.

- 5 La presente invención se refiere además a composiciones cosméticas y farmacéuticas que comprenden dicho complejo antioxidante.

Descripción de la técnica anterior

- 10 El procedimiento para producir energía en células tiene lugar en orgánulos citoplásmicos especializados, los mitocondrios. Este procedimiento es de hecho una reacción redox gradual, en la que las moléculas de glucosa ($C_6H_{12}O_6$) se oxidan, originando dióxido de carbono (CO_2) y las moléculas de oxígeno se reducen, originando moléculas de agua (H_2O).

La oxidación completa de oxígeno en agua se produce por etapas, y se forman intermedios altamente energéticos.

- 15 Estos intermedios se denominan especies reactivas de oxígeno (ROS) y su característica principal es una elevada reactividad. La mayoría de estas moléculas se pueden clasificar también como radicales libres, que son moléculas capaces de existir independientemente y que tienen uno o más electrones no apareados. Esta característica es el factor principal responsable de la reactividad de estos radicales, ya que como tienen electrones no apareados, estas moléculas son capaces de tomar estos electrones de otras moléculas, oxidándolas.

Las especies reactivas de oxígeno principal generadas en las células son las siguientes:

- 20 Radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$): formado justo después de la primera reducción de oxígeno, se produce en casi todas las células eucarióticas y desempeña una función importante en deterioros biológicos secundarios.

Radical hidropéroxilo ($HO_2^{\cdot-}$): forma protonada del anión superóxido, es más reactivo que el primero; sin embargo, a menudo no está presente a pH fisiológico.

- 25 Radical hidroxilo ($OH^{\cdot-}$): Esta ROS es más reactiva en sistemas biológicos y se forma a partir de peróxido de hidrógeno - H_2O_2 , que no es un radical libre, pero es altamente tóxico para las células, además de ser importante en reacciones de oxidación, ya que es el sustrato que origina el radical hidroxilo. Es altamente capaz de oxidar macromoléculas celulares como lípidos de membrana, proteínas y DNA.

Singlete de oxígeno ($1O_2$): forma excitada de oxígeno molecular, sin electrones no apareados, formada en reacciones de sensibilización.

- 30 Como estas moléculas son altamente reactivas y dañinas para las células, pero son formadas en grandes cantidades en el procedimiento de respiración celular para la producción de energía, el organismo tiene sus propios mecanismos de defensa para reducir la cantidad de estos radicales libres. El sistema de defensa enzimático comprende las enzimas que catalizan la reducción de oxígeno y sus intermedios: SOD (puperóxido dismutasa), catalasa, glutatión peroxidasa, además de peroxiredoxinas. El sistema no enzimático comprende básicamente el ácido ascórbico (vitamina C) y tocoferol (vitamina E).

- 35 Incluso aunque el organismo tiene su propio sistema de defensa, en muchos casos el nivel de radicales libres formados puede sobrepasar una capacidad de neutralización natural, dando lugar a un exceso de radicales libres denominado tensión oxidativa.

- 40 En la piel, este estado puede resultar de una exposición a radiación UV, a partir de procedimientos inflamatorios o a partir del procedimiento de envejecimiento, cuando las defensas antioxidantes disminuyen y la generación de radicales aumenta.

- 45 Oxidación de lípidos (lipoperoxidación): La oxidación de lípidos o lipoperoxidación es una reacción en cadena dividida en tres fases: inicio, propagación y terminación. En la fase de inicio, un radical libre toma un electrón de un lípido, oxidándolo y transformándolo en un radical lípido. En la fase de propagación, este radical lípido, en presencia de oxígeno, genera el radical peróxido, que origina los hidropéroxidos de lípidos y finalmente los radicales alcoxilo. En esta fase, los radicales intermedios formados atacan nuevas moléculas de lípidos, dando lugar a una propagación muy rápida de los deterioros. La reacción de peroxidación de lípidos termina cuando un radical interacciona con otro, formando los peróxidos cíclicos. Esta reacción puede provocar la muerte de la célula, ya que la membrana celular es responsable de la selectividad en la permeabilidad celular.

- 50 Oxidación de DNA: las bases de DNA pueden ser oxidadas también por el ataque de radicales libres. Estas modificaciones son normalmente reparadas mediante mecanismos celulares específicos; sin embargo, dependiendo del alcance del deterioro y las modificaciones moleculares, pueden evolucionar en forma de mutaciones y contribuir al desarrollo de cáncer de piel, por ejemplo.

Oxidación de proteínas: las proteínas son también dianas de los ataques oxidativos de radicales libres. En este caso, los aminoácidos son modificados, lo que provoca alteraciones estructurales (descomposición de la cadena de polipéptido y modificación de la cadena de aminoácidos) y a menudo alteraciones funcionales de estas proteínas. Estas alteraciones convierten las proteínas en derivados que son mucho más sensibles a la degradación proteolítica.

- 5 Como es ampliamente conocido por los expertos en la técnica, está disponible una gran diversidad de combinaciones de ingredientes antioxidantes para un uso cosmético y/o farmacéutico.

10 El documento coreano KR 20010002411 describe una composición cosmética que tiene efectos antioxidantes, basada en la combinación de extracto de cacao, extracto de hoja de té verde y extracto de granos de café, composición que es eficaz en la conservación de artículos que contienen vitamina C, además de provocar una irritación muy baja a la piel del usuario.

El documento japonés JP 2264720 divulga una preparación supresora que es eficaz para regular e inhibir los deterioros provocados por la formación de oxígeno activo en las células. Esta preparación está basada en una mezcla que comprende una "sustancia" + vitamina, ambas resistentes a la oxidación. Se mencionan té en polvo (no especificado) y polvo de cacao como opciones de "sustancias" resistentes a óxidos.

- 15 El documento de EE.UU. 2005/048143 se refiere a una composición antioxidante que comprende un flavonoide, como quercetina, en combinación con al menos una mezcla de derivados de vitamina E. Adicionalmente, dicha composición puede comprender extracto de té verde.

20 El documento de EE.UU. 2007/116838 describe una composición edulcorante funcional que comprende, entre sus ingredientes, al menos un antioxidante que se puede seleccionar entre un grupo especificado compuesto por: extracto de cacao, extracto de té verde, compuestos derivados de tocoferol, derivados de xantina y resveratrol, entre otros. Este compuesto no describe los antioxidantes o sus combinaciones en detalle.

El documento de EE.UU. 2008/089941 describe una composición para el suministro de fucoidano parcialmente hidrolizado y/o sulfonado, que comprende entre sus ingredientes un antioxidante seleccionado entre un grupo especificado compuesto por vitamina E, rutina, cacao y resveratrol.

- 25 El documento de EE.UU. 2004/208902 describe una composición cosmética y/o farmacéutica que comprende entre sus ingredientes una zeolita y al menos un ingrediente activo que favorece beneficios tópicos y que requiere un sistema de liberación controlada. Esta composición comprende antioxidantes que se pueden seleccionar entre un grupo especificado compuesto por vitamina E, tocotrienol, extracto de té verde, polifenoles y ácido de romero, entre otros.

- 30 El documento de EE.UU. 2004/023894 se refiere a una composición antioxidante basada en la combinación de tocoles [delta], como delta-tocoferol y polifenoles a partir de *Citrus sp*, preferentemente. Esta composición es útil para tratar o prevenir trastornos relativos a la generación de radicales libres.

35 El documento de EE.UU. 2004/161435 describe una composición de máscara cosmética para tratar celulitis y reducir grasa corporal, entre otras cosas. La composición de máscara comprende entre sus ingredientes al menos un agente que favorece beneficios tópicos como, por ejemplo, un agente antioxidante.

El documento de EE.UU. 2007/014876 se refiere a una composición para potenciar actividades antioxidantes, que comprende la menos un componente antiácido en una dosis suficiente para elevar el pH en el estómago; al menos un componente antioxidante que disminuye la generación de radicales libre, entre otros.

- 40 El documento de EE.UU. 2006/251608 describe un método para tratar el envejecimiento de la piel, las arrugas y otros indicios de deterioro de la piel aplicando una formulación tópica y usando una formulación oral que comprenden uno o más antioxidantes.

45 El documento brasileño PI 0000018-3 describe una mezcla blanqueante de la piel basada en la combinación de gayuba y un antioxidante que se puede seleccionar entre: tetrahidrocurcumina, preferentemente, tocoferol y extracto de romero, entre otros. El documento WO 02/100329 divulga métodos y composiciones para ayudar al cuerpo a resistir los efectos del procedimiento de envejecimiento. Basándose en la información que antecede, se puede observar que la mayoría de los productos cosméticos usados durante la exposición al sol o para tratar y proteger frente al envejecimiento de la piel contienen sustancias antioxidantes en sus composiciones para ayudar a combatir el exceso de radicales libres.

50 A partir de la descripción de la presente invención proporcionada a continuación, se puede concluir que ninguna enseñanza de la técnica anterior describe o sugiere un complejo antioxidante que tenga una combinación sinérgica de tres ingredientes activos, a saber, vitamina E y/o sus derivados; extracto de té verde y/o sus derivados; y extracto de cacao que contiene una mezcla de xantinas + catequinas, a una concentración que varía en un intervalo que potencia el efecto antioxidante, ni tampoco expone dicha técnica anterior ventajas con respecto a los costes financieros, para la estabilidad de la composición cosmética y para el potencial antioxidante bastante elevado, que dan como resultado una protección mejorada de la piel frente al deterioro celular y de la piel.

55

Por tanto, se concluye que no han sido desarrollados todavía complejos antioxidantes que tenga una combinación sinérgica de la menos 3 de sus ingredientes activos, así como su uso cosmético y/o dermatológico.

Objetos de la invención

5 El objeto de la presente invención es proporcionar un complejo que tiene una actividad antioxidante eficaz, que puede ser usado en aislamiento o aplicado en composiciones cosméticas y/o farmacéuticas con el fin de proporcionarles beneficios funcionales. Este complejo antioxidante proporciona protección contra la lipoperoxidación, oxidación de DNA y oxidación de proteínas.

Otro objeto de esta invención es proporcionar una composición cosmética y una composición farmacéutica que comprenden dicho complejo antioxidante.

10 Breve descripción de la invención

La materia objeto de la invención es un complejo antioxidante que tiene un efecto sinérgico entre los siguientes ingredientes: vitamina E y/o sus derivados; extracto de té verde (*Camellia sinensis*) y/o sus derivados y extracto de cacao (*Theobroma cacao*) y/o sus derivados. Dicho complejo antioxidante, tanto si es aplicado a composiciones cosméticas y/o farmacéuticas como si no, proporciona los beneficios funcionales de combatir los deterioros provocados a las células y, consecuentemente, a la piel, debido a tensiones oxidativas. Algunos de los deterioros anteriormente mencionados se recogen a continuación:

- lipoperoxidación,
- oxidación de DNA, y
- oxidación de proteínas.

20 Otra materia objeto de esta invención consiste en una composición cosmética y farmacéutica que comprende de 0,003% a 3,000% en peso del complejo antioxidante, basado en el peso total de la composición, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Preferentemente, dicha composición comprende:

- un complejo antioxidante compuesto por:

- a) de 1 µg/ml a 20000 µg/ml de vitamina E;
- 25 b) de 10 µg/ml a 1000 µg/ml de extracto de té verde;
- c) de 10 µg/ml a 1000 µg/ml de extracto de cacao, basado en el peso total del complejo antioxidante; y

- un vehículo fisiológicamente aceptable.

Breve descripción de los dibujos

30 La Figura 1 ilustra un gráfico que muestra los niveles de protección contra la lipoperoxidación de los componentes de las mezclas combinadas 2 por 2 frente a la mezcla de los tres;

La Figura 2 ilustra un gráfico que muestra el porcentaje de protección contra la lipoperoxidación frente a la concentración total de ingredientes activos de las mezclas más eficaces;

35 La Figura 3 ilustra un gráfico que muestra el porcentaje de protección contra la lipoperoxidación obtenido con la concentración de ingredientes activos en aislamiento frente al obtenido con la concentración de ingredientes activos en la mezcla;

La Figura 4 ilustra un gráfico que muestra el resultado de la valoración de la descomposición oxidativa de DNA de plásmidos;

La Figura 5 ilustra un gráfico que muestra la formación de hidroperóxidos: reacciones de testigos y de muestras;

La Figura 5A ilustra un gráfico que muestra la curva de xilenol-naranja con H₂O₂;

40 La Figura 5B ilustra un gráfico que muestra la formación de hidroperóxido: testigos y muestras (reacción);

La Figura 6 ilustra un gráfico que muestra la DPPH (neutralización por radicales libres) conseguida con la presente invención;

La Figura 7 ilustra un gráfico que muestra la intensidad del deterioro para DNA de tipo CPD con o sin complejo antioxidante;

45 La Figura 8 ilustra un gráfico que muestra la intensidad del deterioro para DNA de tipo CPD con o sin complejo

antioxidante;

La Figura 9 ilustra un gráfico que muestra la intensidad de la fluorescencia para la medición de la actividad antioxidante, en el que M1 representa la mezcla del nuevo complejo antioxidante y M2 del complejo antioxidante conocido;

- 5 La Figura 10 ilustra un gráfico que muestra la relación entre la concentración y la inhibición de la disminución de la fluorescencia para la mezcla de muestra 1 mediante el método lipófilo;

La Figura 11 ilustra un gráfico que muestra la relación entre la concentración y la inhibición de la disminución de la fluorescencia para la mezcla de la muestra 2 mediante el método hidrófilo;

- 10 La Figura 12 ilustra un gráfico que muestra la relación entre la concentración y la inhibición de la disminución de la fluorescencia para la mezcla de la muestra 2 mediante el método lipófilo.

Descripción detallada de la invención

La presente invención describe un complejo antioxidante que comprende al menos vitamina E, extracto de té verde y extracto de cacao. Este complejo ayuda a prevenir y proteger contra deterioros celulares de la piel que resultan de la acción de radicales libres.

- 15 Un complejo antioxidante se define en la presente memoria descriptiva como una composición que comprende al menos 3 componentes que tienen un potencial antioxidante y que, cuando se combinan, exhiben un efecto sinérgico inesperado, consiguiendo un potencial antioxidante mucho más elevado. Adicionalmente, dicho complejo antioxidante proporciona protección contra la acción de radicales libres, oxidación de DNA y oxidación de proteínas.

- 20 La presente invención describe además composiciones tópicas cosméticas y farmacéuticas para tratar y/o proteger la piel, formadas por una combinación de agentes antioxidantes solubles en agua y liposolubles en el mismo complejo, que hace posible una actividad apropiada en medios biológicos tanto hidrófilos como lipófilos.

El nuevo complejo antioxidante según la presente invención puede ser usado en formulaciones de productos para una exposición al sol, así como en productos anti-envejecimiento. Además, puede ser usado en productos específicos en los que es importante la protección antioxidante (por ejemplo, un producto anti-contaminación).

- 25 Los principales ejemplos de productos que pueden ser preparados con el complejo antioxidante de la presente invención o con composiciones cosméticas y farmacéuticas que comprenden dicho complejo son los siguientes:

- ❖ Leche corporal hidratante;
- ❖ Leche facial hidratante;
- ❖ Loción corporal hidratante;
- 30 ❖ Loción facial hidratante;
- ❖ Geles;
- ❖ Productos para la calvicie;
- ❖ Bloqueadores solares o protectores solares para adultos o niños, estén destinados o no a un uso simultáneo con la práctica de deportes;
- 35 ❖ Hidratantes corporales o faciales;
- ❖ Productos anti-manchas/envejecimiento corporales o faciales;
- ❖ Productos para la firmeza corporal o facial;
- ❖ Productos de auto-bronceado;
- ❖ Productos repelentes de insectos;
- 40 ❖ Hidratantes corporales o faciales para dar brillo a la piel;
- ❖ Preparaciones farmacéuticas tópicas;
- ❖ Preparaciones cosméticas corporales o faciales para niños;
- ❖ Preparaciones cosméticas para uso en sectores específicos, como en la zona periorcular, el contorno labial y los labios, anti-manchas cutáneas, círculos anti-oscuramientos, entre otras;

- ❖ Productos anti-acné;
- ❖ Productos para abrillantar la piel;
- ❖ Composiciones farmacéuticas para tratar dermatosis específicas;
- ❖ Barras de labios y bases de cera;

- 5 ❖ Coloretes y bases teñidas;
- ❖ Polvos faciales;
- ❖ Cualquier producto de maquillaje para ser usado en la zona de los ojos.

El complejo antioxidante de la presente invención, incorporado en composiciones cosméticas o farmacéuticas, exhibe un cierto número de ventajas y características que son deseables en un producto cosmético o farmacéutico para la piel, algunas de las cuales se recogen a continuación:

- 10 1. Proporciona una protección aumentada de la piel, combatiendo la acción de radicales libres que resultan de la radiación ultravioleta, que tiene en su longitud de onda del espectro intervalos que se conoce que favorecen la formación de estas especies. Por tanto, es útil para formular productos protectores solares y para después de tomar el sol que protegen a la piel más eficazmente contra los deterioros provocados por la exposición al sol;
- 15 2. Proporciona una protección aumentada de la piel contra la formación de radicales libres que resultan de la exposición a diferentes agentes contaminantes, entre ellos el humo de cigarrillos. Por tanto, es útil para preparar formulaciones de productos que protegen a la piel contra estos agentes;
3. Ayuda a mantener el equilibrio entre la formación y el combate de radicales libres, minimizando la situación de tensión oxidativas, que es muy común en el procedimiento de envejecimiento natural de la piel. Por tanto, es útil para preparar formulaciones anti-manchas/envejecimiento más eficaces;
- 20 4. No requiere un almacenamiento refrigerado;
5. Los productos que comprenden el complejo antioxidante de la presente invención están exentos de alteraciones organolépticas, al contrario que algunos productos de la técnica anterior, como:
 - 25 a. Productos que contiene vitamina C o sus derivados, que exhiben habitualmente cambios significativos de aspecto, color y olor.
6. El complejo antioxidante de la presente invención puede ser incorporado en diversas formas galénicas, como: geles acuosos, geles alcohólicos, pomadas, ungüentos, fluidos acuosos o alcohólicos, emulsiones de agua en aceite, emulsiones de aceite en agua, emulsiones de agua en silicona, comercializadas bajo las denominaciones de geles de crema, cremas, lociones, bases de cera, polvos teñidos, bases teñidas, entre otras posibilidades de formas galénicas, que mantienen la estabilidad de estas composiciones;
- 30 7. El complejo antioxidante, combinado o no con un protector solar, protege frente a los deterioros oxidativos al DNA resultante del aumento en la formación de radicales libres en situaciones como la exposición al sol y el envejecimiento de la piel;
8. El complejo antioxidante de la presente invención protege también contra la oxidación de proteínas;
- 35 9. El complejo antioxidante de la presente invención protege también contra la oxidación de membranas lípidas;
10. El complejo antioxidante de la presente invención exhibe también una actividad altamente eficaz en la neutralización de radicales libres;
11. El complejo antioxidante de la presente invención puede ser añadido a formulaciones con agentes fotoprotectores que contienen protectores solares físicos y/o químicos en combinación;
- 40 12. El complejo antioxidante de la presente invención comprende una combinación de agentes antioxidantes solubles en agua y liposolubles. Por tanto, es adecuado para ser usado en medios biológicos tanto hidrófilos como lipófilos, al contrario que la mayoría de los productos de la técnica anterior de este tipo.

Complejo antioxidante

El complejo antioxidante de la presente invención exhibe un efecto sinérgico y comprende:

- 45 a) de 1 µg/ml a 20000 µg/ml de vitamina E;
- b) de 10 µg/ml a 1000 µg/ml de extracto de té verde;

c) de 10 µg/ml a 1000 µg/ml de extracto de cacao,

todas las cantidades están basadas en el peso total del complejo antioxidante.

Además de estos componentes, el complejo antioxidante puede comprender además agentes antioxidantes opcionales.

5 En realizaciones preferidas, el complejo antioxidante de la presente invención exhibe un efecto sinérgico y comprende:

a) de 10 µg/ml a 200 µg/ml de vitamina E,

b) de 10 µg/ml a 100 µg/ml de extracto de té verde;

c) de 10 µg/ml a 100 µg/ml de extracto de cacao,

10 todas las cantidades están basadas en el peso total del complejo antioxidante.

En una realización preferida, el complejo antioxidante de la presente invención exhibe un efecto sinérgico y comprende:

a) 10 µg/ml de acetato de tocoferol;

b) 10 µg/ml de extracto de té verde que comprende una mezcla de polifenoles, entre ellos catequinas; y

15 c) 10 µg/ml de extracto Thebromoa cacao con elevado contenido de catequinas y xantinas,

todas las cantidades están basadas en el peso total del complejo antioxidante.

Por otra parte, las composiciones cosméticas y farmacéuticas que comprende el complejo antioxidante de la presente invención pueden contener además diversos componentes como agentes fotoprotectores (protectores solares) y otros agentes que tienen funciones específicas necesarias para cada composición destinada a cada situación, como agentes secuestrantes, agentes espesantes, agentes de ajuste del pH, agentes conservantes, humectantes, emolientes, colorantes, agentes adsorbentes sin aceites, ingredientes activos como agentes anti-envejecimiento, entre otros.

20 Los componentes presentes en el complejo antioxidante de la presente invención se describirán más en detalle a continuación:

Los componentes presentes en el complejo antioxidante de la presente invención se describirán más en detalle a continuación:

25 Vitamina E

Puede ser añadida a las formaciones cosméticas en su forma libre (tocoferol) o en su forma esterificada (acetato de tocoferol).

La primera forma tiene un mejor rendimiento como antioxidante, pero como es altamente inestable cuando es expuesta a la luz y el calor, a menudo es sustituida con la segunda forma, que exhibe una mejor estabilidad.

30 El tocoferol es un antioxidante lipófilo activo que tiene una elevada afinidad por las membranas celulares y ayuda a proteger contra la lipoperoxidación. La forma de acetato de tocoferol, que es más estable y es habitualmente aplicada a las formulaciones, necesita ser hidrolizada por enzimas específicas de la piel (esterasas).

La vitamina E actúa como un antioxidante (neutralizando la acción de los radicales libres), exhibe actividad antiinflamatoria y reduce la cantidad de células deterioradas por la radiación UV.

35 En la realización preferida, la vitamina E, preferentemente un derivado de tocoferol, más preferentemente acetato de tocoferilo, es añadida en una cantidad que varía de 1 µg/ml a 20000 µg/ml, preferentemente de 10 µg/ml a 200 µg/ml, basada en el peso total del complejo antioxidante.

Té verde

Extracto de té verde seco (*Camellia sinensis*): Este ingrediente activo está compuesto por polifenoles (mayoritariamente catequinas). Es un ingrediente activo hidrófilo y comprende catequinas.

40 El extracto de té verde actúa como un antioxidante (neutralizando la acción de radicales libres), además de tener actividad antiinflamatoria e inmunoprotectora.

El extracto de té verde actúa como un antioxidante (neutralizando la acción de radicales libres), además de tener actividad antiinflamatoria e inmunoprotectora.

En las realizaciones preferidas, el extracto de té verde, preferentemente extracto de té verde (*Camellia sinensis*) compuesto mayoritariamente por catequinas, es añadido en una cantidad que varía de 10 µg/ml a 1000 µg/ml, preferentemente de 10 µg/ml a 100 µg/ml en peso, basado en el peso total de complejo antioxidante

45

Extracto de cacao

Extracto de cacao seco (*Theobroma cacao*): Ingrediente activo que tiene un contenido elevado de catequinas y xantinas. Es un ingrediente activo hidrófilo, que se conoce también que tiene actividad antioxidante. Preferentemente, el extracto de cacao usado tiene un elevado contenido de metilxantinas, como cafeína y teobromina y de catequinas/epicatequinas.

Los granos de cacao tienen un elevado contenido de sustancias químicas activas, entre ellas polifenoles, catequinas, xantinas, etc. Estas sustancias confieren importantes características terapéuticas a esta planta, como: actividad antioxidante, lipólisis aumentada, protección celular, etc. Como contienen estas sustancias y exhiben estas actividades, los extractos de cacao pueden ser usado en productos para el tratamiento de la piel, protección solar, contra la celulitis, entre otros.

En un modo preferido, el extracto de cacao usado tiene un elevado contenido de catequina y es obtenido a partir de granos no fermentados. Con el fin de obtener este tipo de extracto, el grano de cacao tiene que ser tratado para inactivar la enzima que provoca la degradación de catequinas, lo que se puede hacer de una de las siguientes maneras:

- los granos son calentados a una temperatura elevado y seguidamente se secan;
- el fruto se rompe después de 7 días desde el día de la recolección, seguidamente se seca directamente, sin pasar a través del procedimiento de fermentación convencional;
- el fruto se rompe en el día de la recolección, seguidamente se seca directamente, sin pasar a través del procedimiento de fermentación convencional; o
- los frutos se reúnen, se rompen, se lavan con agua corriente para separar la pulpa y seguidamente se secan.

Este último procedimiento ha mostrado ser más ventajoso para obtener un extracto que tenga un elevado contenido de los compuestos responsables de la actividad esperada para la presente invención.

En las realizaciones preferidas de la presente invención, el extracto de cacao, preferentemente extracto de cacao (*Theobroma cacao*) compuesto mayoritariamente por catequinas y xantinas, es añadido en una cantidad que varía de 10 µg/ml a 1000 µg/ml, preferentemente de 10 µg/ml a 100 µg/ml en peso, basado en el peso total del complejo antioxidante.

Agente antioxidante opcional

Pueden ser añadidos también otros agentes antioxidantes opcionales al complejo antioxidante.

algunos ejemplos de los compuestos que tienen propiedades antioxidantes que pueden ser añadidos a las composiciones de la presente invención son: sustancias lipófilas como hidroxitolueno butilado (BHT), hidroxianisol butilado (BHA), terc-butilhidroquinona (TBHQ), licopeno, extractos vegetales, entre otros.

Composiciones cosméticas y farmacéuticas

Las composiciones cosméticas y farmacéuticas que comprenden el complejo antioxidante de la presente invención pueden comprender también algunos componentes ya conocidos en la técnica.

Las composiciones cosméticas y farmacéuticas comprenden de 0,003% a 3,000% en peso del complejo antioxidante de la presente invención, basado en el peso total de dichas composiciones, y un vehículo.

En realizaciones preferidas, las composiciones cosméticas y farmacéuticas comprenden

- un complejo antioxidante compuesto por:
 - a) de 10 µg/ml a 200 µg/ml de vitamina E;
 - b) de 10 µg/ml a 100 µg/ml de extracto de té verde;
 - c) de 10 µg/ml a 100 µg/ml de extracto de cacao,

en que todas las cantidades se refieren al peso total de la composición, y

- un vehículo cosméticamente y farmacéuticamente aceptable.

Emoliente

Los emolientes realizan diferentes funciones en las composiciones cosméticas, entre ellas: añadir o sustituir lípidos y aceites naturales para la piel, solubilizar protectores solares, conferir una capacidad de extensión mejorada para

aplicar el producto, modificar el mapa sensorial, etc.

Los lípidos convencionales, como aceites, ceras, lípidos y otros componentes insolubles en agua y lípidos polares, que son los lípidos modificados con el fin de aumentar su solubilidad en agua mediante la esterificación de un lípido a una unidad hidrófila como, por ejemplo, grupos hidroxilo, grupos carbonilo, entre otros, pueden ser usados como emolientes para ser añadidos a la composición de la presente invención. Algunos compuestos que pueden ser usados como emolientes son aceites naturales y derivados vegetales, ésteres, aceites de silicona, ácidos grasos poliinsaturados, lanolina y sus derivados. Algunos aceites naturales que pueden ser usados son derivados de semilla de albaricoque, sésamo, soja, cacahuete, coco, oliva, manteca de cacao, almendra, aguacate, carnaúba, semilla de algodón, salvado de arroz, semilla de melocotón, semilla de mango, jojoba, nuez de macademia, cavé, semilla de uva, semilla de calabaza, entre otros, y sus mezclas

Algunos éteres y ésteres pueden ser usados también como emolientes como, por ejemplo, ésteres alquílicos de C₈-C₃₀ de ácidos carboxílicos de C₈-C₃₀, monoésteres de dioles de C₁-C₆ y diésteres de ácidos carboxílicos de C₈-C₃₀, monoésteres de sacarosa alcohólica C₁₀-C₂₀ y sus combinaciones. Ejemplos de estos compuestos son ácido cicaprílico, lactato de cetilo, palmitato de isopropilo, carbonato de dicaprílico, benzoato de alquilo C₁₂₋₁₅, miristato de isopropilo, isononato de isopropilo, palmitato de sacarosa, oleato de sacarosa, lactato de isoestearilo, behenato de glicerilo, isoestearato de triglicerol-4, ácido pirrolidon-lauril-carboxílico, triacetato de pantenilo y sus combinaciones.

Las siliconas actúan también como emolientes en las composiciones cosméticas y farmacéuticas de la presente invención. Algunos ejemplos de siliconas que pueden ser añadidas a dichas composiciones son: aceites de siliconas volátiles y no volátiles como, por ejemplo, ciclometicona, alquildimeticonas, copolios de dimeticona, dimeticonoles, fenil-trimeticonas, capril-trimeticonas, siliconas aminofuncionales, siliconas modificadas con fenilo, fenil-trimeticonas, siliconas modificadas con alquilo, dimetil- y dietil-polisiloxano, alquil C₁-C₃₀-polisiloxano, dimetil-siloxanos, polimetilsiloxano, α -metil- ω -metoxipolimetilsiloxano, polioxidimetilsilileno, aceite de polidimetil-silicona y sus combinaciones o elastómeros de silicona, como polímero cruzado de ciclometicona y dimeticona, polímero cruzado vinílico de dimeticona y dimeticona, polímero cruzado de dimeticona y dimeticona y polímero cruzado de ciclopentasiloxano y dimeticona.

Pueden ser usados también otros alcoholes grasos, mono-, di- o tri-glicéridos que tienen una naturaleza lipófila, como ácido dicaprílico, además de hidrocarburos sintéticos y naturales, carbonatos orgánicos como carbonato dicaprílico, algunos tipos de siliconas como ciclometicona y sus mezclas.

Adicionalmente, pueden ser usados diversos compuestos naturales como emolientes, como cera microcristalina, cera de carnaúba, manteca de karité, cera de abejas o cera de ozokerita, entre otras.

Protectores solares

Con el fin de filtrar la radiación ultravioleta, pueden ser añadidos agentes de protección solar solubles en agua o liposolubles.

Algunos ejemplos de protectores solares que absorben los rayos ultravioletas que son adecuados para ser añadidos a la composición cosmética de la presente solicitud son los siguientes: bencilceno-canfor y sus derivados, isoftalideno-canfor y tereftalideno-canfor y sus derivados, ácido cinámico y sus ésteres, ácido salicílico y sus ésteres, ácido benzoico y sus ésteres, ácido p-aminobenzoico y sus derivados, como sus ésteres, hidroxibenzofenonas sustituidas, di-benzoilmetano sustituido, benzotriazol y algunos derivados como 2-arilbenzotriazol, 2-aril-bencimidazol, 2-arilbenzofuranos, 2-arilbenzoxazol, 2-arilindol, mono-fenilcianoacrilatos, difenilcianoacrilatos, entre otros filtros de rayos ultravioletas conocidos en la técnica.

Algunos ejemplos de protectores solares que son adecuados para la presente invención son compuestos orgánicos, que tienen a menudo una baja solubilidad en agua, como derivados de triazinas (por ejemplo, compuestos de hidroxifeniltriario o derivados de benzotriazol), algunas amidas, como las que contienen un grupo vinilo, derivados de ácido cinámico, bencimidazoles sulfonados, defenilmalonitrilos, oxilamidas, derivados de alcanfor, derivados de ácido salicílico, como salicilatos de 2-etilhexilo, homosalatos y salicilatos de isopropilo, difenilacrilatos, derivados de benzofenona como benzofenona-2, benzofenona-3 y benzofenona-4, PABA como 4-dimetilaminobenzoato de 2-etilhexilo y otros protectores solares comúnmente añadidos a composiciones de productos de protección solar.

Además de los ejemplos anteriormente proporcionados, hay otros componentes preferidos para realizar esta función, como: N,N,N-trimetil-4-(2-oxoborn-3-ilidenometil)-anilino-metil-sulfato; ácido 3,3'-(1,4-fenilenodimetileno)bis(7,7-dimetil-2-oxo-biciclo-(2.2.1)-1-heptilmetanosulfónico y sus derivados; 1-(4-tert-butilfenil)-3-(4-metoxifenil)propano-1,3-diona; ácido α -(2-oxoborn-3-ilideno)tolueno-4-sulfónico y sus sales de potasio, sodio y trietanolamina; 2-ciano-3,3'-difetilacrilato de 2-etilhexilo; 4-metoxicinamato de 2-etoxietilo; 2,2'-dihidroxi-4-metoxibenzofenona; antranilato de metilo; salicilato de trietanolamina; 2,2',4,4'-tetrahidroxibenzofenona; ácido 2-fenilbencimidazol-5-sulfónico y sus sales de sodio, potasio y trietanolamina; 4-metoxicinamato de 2-etilhexilo; 2-hidroxi-4-metoxibenzofenona (oxibenzona); 2-hidroxi-4-metoxibenzofenona; ácido 5-sulfónico y su sal de sodio (sulisobenzona y sulisobenzona de sodio); ácido 4-aminobenzoico (PABA); salicilato de homomentilo; polímero de N-((2 y 4)[(2 oxoborn-3-ilideno)metil]bencil)acrilamida; dióxido de titanio (con o sin revestimiento lipófilo); N-etoxi-4-aminobenzoato de etilo; 2-etilhexil 4-dimetilaminobenzoato de 2-etilhexilo; salicilato de 2-etilhexilo; 4-metoxicinamato

de isopentilo; 3-(4'-metilbencilideno)-d-1-alcanfor; 3-bencilideno-alcanfor; 2,4,6-trianilin-(p-carbo-2'-etil-hexil-1'-oxi)-1,3,5-octil-triazina; óxido de zinc (con o sin revestimiento lipófilo); 2-(2H-benzotriazol-2-il)-4-metil-6-{2-metil-3-(1,3,3,3-tetrametil-1-((trimetilsilil)oxi)disiloxanil)propil}fenol; ácido benzoico; 4,4'-[[6-[[4-[[[(1,1-dimetil-etil)amino]carbonil]fenil]amino]-1,3,5-triazino-2,4-diil]diimino]bis,bis(2-etilhexilo); 2,2'-metileno-bis-6-(2H-benzotriazol-2-il)-4-(tetrametil butil)-1,1,3,3-fenol; metileno-bis-benzotriazolil-tetraetil-butil-fenol; sal de monosodio de ácido 2,2'-bis-(1,4-fenileno)-1H-bencimidazol-4,6-disulfónico; (1,3,5)-triazino-2,4-bis[[4-(2-etilhexiloxi)-2-hidroxil]-fenil]-6-(4-metoxifenilo); bis-etilhexiloxifenol-metoxifenil-triazina; metileno-bis-benzotriazolil-tetrametilbutilfenol; butil-metoxidibenzoilmetano, p-metoxicinamato de 2-etilhexilo, metileno-bis-benzotriazolil-tetrametilbutilfenol, 4-butil-4-metoxidibenzoilmetano, benzofenona 3, bis-etilhexiloxifenol-metoxifenil-triazina, octil-triazona, dióxido de titanio, cloruro de cinamidopropiltrimonio, tosilato de dimetilpabamidopropil-laurdimonio.

Hay todavía otros protectores solares que pueden ser usados también para proteger la piel, como óxido de hierro, dióxido de titanio combinado con dimeticona, óxido de zinc, compuestos de mono- o poli-carbonilo como isatina, aloxano, ninhidrina, gliceraldehído, aldehído mesotartárico, glutaraldehído, pirrazolin-4,5-diona o derivados de 4,4-dihidroxipirrazolin-5-ona, metilglioxal, dialdehído 2,3-dihidroxisuccínico, dialdehído 2-amino-3-hidroxisuccínico y dialdehído 2-bencilamino-3-hidroxisuccínico.

Vehículo

El agua es la base de varias posibles composiciones cosméticas preparadas con el complejo antioxidante ya descrito, que actúa como un vehículo para los demás componentes. Las composiciones de la presente invención comprenden agua, preferentemente desmineralizada o destilada, y el porcentaje necesario (c.s.p.) para alcanzar un 100% de la fórmula, basada en el peso total de la presente composición. Naturalmente, pueden ser usados otros vehículos aceptables en cosmética en la presente invención. En los ejemplos de composiciones que se describen a continuación, se usan también como vehículo alcohol etílico 96 GL, vehículos aceitosos (aceites en general, ceras y mantecas) o vehículos de silicona.

Otros componentes opcionales

Con el fin de proporcionar las composiciones cosméticas y farmacéuticas de la presente invención con una característica deseable no obtenida con los componentes ya mencionados, pueden ser añadidos además componentes opcionales que sean compatibles con las propiedades de dichas composiciones. Algunos de los compuestos que pueden ser añadidos a dichas composiciones pueden ser como sigue:

- Ingredientes activos (encapsulados o no): estos pueden ser lipófilos o hidrófilos, como extractos de algas marinas, extractos vegetales, una combinación de palmimtoil-hidroxipropiltrimonio-aminopectina, polímero cruzado de glicerina, lecitina y extracto de semillas de uvas, alfa-bisabolol (ingrediente activo antiinflamatorio), D-pantenol (ingrediente activo acondicionador), goma de biosacárido 2 y goma de biosacárido 3 y otros ingredientes activos comúnmente añadidos a composiciones tópicas;
- Bacteriostatos, bactericidas y antimicrobianos;
- Un emulsionante como cetil-fosfato de potasio, entre otros;
- Estabilizadores, como cloruro de sodio, entre otros;
- Un agente secuestrante, como ácido etilendodiaminotetraacético (EDTA) y sus sales, entre otros;
- Un agente para ajustar el pH como trietanolamina o hidróxido de sodio, entre otros;
- Un conservante, como fenoxietanol, cocoato de PEG-5 y dicocoato de PEG-8, butilcarbamato de yodopropinilo y PEG-4, entre otros;
- Colorantes naturales o sintéticos;
- Agentes espesantes como goma de xantano y carbómero, entre otros;
- Extractos vegetales: camomila, romero, tomillo, caléndula, extracto de zanahorias, extracto de enebro, extracto de genciana, extracto de pepino, entre otros;
- Agentes acondicionadores de la piel; y
- Otros componentes aceptables en cosmética que sean compatibles con el complejo antioxidante de la presente invención.

Ejemplos de composición

Los ejemplos siguientes son realizaciones preferidas de composiciones que comprenden el complejo antioxidante de la presente invención y no deben ser considerados como limitaciones de la misma. En este sentido, debe

entenderse que el alcance de la presente invención abarca otras posibles realizaciones es está limitado solamente por el contenido de las reivindicaciones anejas, que incluyen en las mismas posibles equivalentes.

Ejemplo 1 - Emulsión sin protectores solares

Componente	Función	Cantidad en peso (%)
Agua	Vehículo	csp 100
Benzoato de alquilo C12-15	Emoliente	5,00
Glicerina	Humectante	5,00
Carbonato de dicaprililo	Emoliente	2,00
Cetil-fosfato de potasio	Emulsionante	2,00
Ciclometicona	Emoliente	2,00
Fenoxietanol	Conservante	1,00
Dimeticona-copoliol-metil-éter	Emoliente	0,50
Acetato de vitamina E	Antioxidante	2
Cocoato de PEG-5 y dicocoato de PEG-8 y butilcarbamato de yodopropinilo y PEG-4	Conservante	0,20
EDTA de disodio	Agente secuestrante	0,10
BHT	Antioxidante	0,05
Extracto de cacao	Antioxidante	0,1
Extracto de té verde	Antioxidante	0,1
Goma de xantano	Agente espesante	0,20
Carbómero	Agentes espesante	0,35
Trietanolamina	Ajustador de pH	0,50

Ejemplo 2 - Emulsión con protectores solares

Componente	Función	Cantidad en peso (%)
Agua	Vehículo	csp 100
p-metoxicinamato de 2-etilhexilo	Protector solar	7,50
Benzoato de alquilo C12-15	Emoliente	6,00
Glicerina	Humectante	5,00
Benzofenona 3	Protector solar	5,00
Carbonato de dicaprililo	Emoliente	4,00
Ciclometicona	Emoliente	3,00
Dióxido de titanio y dimeticona	Protector solar	3,00
Bis-etilhexiloxifenol y metoxifenil-triazina	Protector solar	2,00
Almidón-octenilsuccinato de aluminio		1,50
Cetil-fosfato de potasio	Emulsionante	2,00
Ciclometicona y dimeticona-copoliol	Emulsionante	1,00
Fenoxietanol	Antioxidante	1,00
Acetato de vitamina E	Antioxidante	2
Cocoato de PEG-5 y dicocoato de PEG-8 y butilcarbamato de yodopropinilo y PEG-4	Conservante	0,20

Componente	Función	Cantidad en peso (%)
EDTA de disodio	Agente secuestrante	0,10
BHT	Antioxidante	0,05
Extracto de cacao	Antioxidante	0,1
Extracto de té verde	Antioxidante	0,1
Goma de xantano	Agente espesante	0,20
Carbómero	Agentes espesante	0,40
Trietanolamina	Ajustador de pH	0,50

Ejemplos de ensayo

Descripción de las metodologías

Las metodologías seleccionadas para planificar y llevar al cabo los ensayos para la eficacia antioxidante del complejo de la presente invención destinadas a reproducir el efecto protector de las membranas (lípidos), DNA y proteínas y fueron metodologías de selección rápida, como:

- DPPH: el ensayo está basado en la reacción de reducción del radical libre difenil-picril-hidrazilo (DPPH) en medio etanólico, con las materias primas o sustancias que van a ser analizadas, en que el radical DPPH es reducido por dichas sustancias, alterando el tono y haciendo posible la protección antioxidante que va a ser medida. Este es un ensayo sencillo, comúnmente usado para sustancias protectoras solares, ya que mide uno de los mecanismos principales de acción antioxidante - donación de protones para la estabilización del radical DPPH.
- Lipoperoxidación: en este ensayo, los liposomas de fosfatidilcolina, cuya estructura se parece a la membrana celular, ya que la fosfatidilcolina es uno de los componente lípidos de las membranas celulares, son incubadas con el radical AAPH, que es capaz de favorecer la oxidación de estas membranas, formando hidroperóxidos de lípidos. Estos hidroperóxidos favorecen la oxidación de Fe^{2+} a Fe^{3+} , que reacciona con naranja de xilenol, formando un compuesto amarillento. Los ingredientes activos incubados con los liposomas disminuyen la oxidación de la membrana, disminuyendo consecuentemente la reacción con naranja de xilenol y la formación del color. Este ensayo proporciona un resultado para el % de protección contra la lipoperoxidación y es más cercano a la situación fisiológica, ya que emula el ataque a membranas celulares.
- Oxidación de proteínas: este experimento usa BSA (albúmina de suero bovino) como un sustrato y un sistema de generación de radicales hidroxilo (reacción de Fenton: H_2O_2 + hierro), que puede generar hidroperóxidos e presencia de la proteína, debido a la oxidación de la cadena lateral de aminoácido. Estos hidroperóxidos favorecen la oxidación de Fe^{2+} en Fe^{3+} , que reacciona con naranja de xilenol, formando un compuesto amarillento. Los ingredientes activos son incubados con BSA y con el sistema de generación de radicales libres, que se espera que protejan a la proteína del ataque oxidativo de los radicales hidroxilo.
- Oxidación de DNA del plásmido: en este ensayo, el DNA del plásmido de bacterias es expuesto a radiación UVA en presencia un fotosensibilizador: riboflavina. Esta reacción aumenta la formación de ROS y consecuentemente da lugar a la descomposición de DNA del plásmido. Esta descomposición es captada en el corrimiento del gel de agarosa, en el que solamente se observa una banda para muestras no radiadas y más de una para muestras radiadas. Los ingredientes activos que proporcionan protección contra la descomposición oxidativa de DNA del plásmido debe provocar que las muestras de DNA radiadas que contienen el ingrediente activo mantengan el mismo perfil que las muestras no radiadas.

Ensayos para valorar la actividad antioxidante individual de los ingredientes activos seleccionados para la mezcla:

Se comenzó la valoración individual de cada ingrediente activo. En esta etapa, se seleccionó la metodología de lipoperoxidación que emula la oxidación de membranas celulares para la decisión final relativa a los ingredientes activos que se van a preparar. Sin embargo, se usó también DPPH, ya que es una metodología de selección muy útil para comparar la potencia de los ingredientes activos.

- DPPH:

Esta metodología se usa para valorar el valor de IC-50, es decir, la cantidad de ingrediente activo necesaria para neutralizar un 50% de los radicales formados en el medio de reacción. Cuanto más bajo es el valor, más potente es el ingrediente activo.

La Tabla 1 siguiente recoge los valores de IC-50 (%; mg/ml; μ g/ml) para los ingredientes activos seleccionados:

Tabla 1:

Ingrediente activo	IC-50 (%)	IC-50 (mg/ml)	IC-50 (µg/ml)
Extracto de té verde 1 * (Cognis)	2,6E-04	0,0026	2,6
Extracto de té verde Ayalla	3,3E-04	0,0033	3,3
Extracto de cacao	7,0E-04	0,007	7
Tocoferol	1,9E-03	0,019	19
Extracto de té verde CF	7,1E-04	0,0071	7,1
Palma Açai 30	9,0E-04	0,009	9
Café de Unichem	1,1E-03	0,011	11
Romero de Ayalla	1,3E-03	0,013	13
Café CF	2,3E-03	0,023	23
Romero de Provital	5,2E-03	0,052	52
Planta pariparoba	7,0E-03	0,07	70
Palma Açai	1,0E-02	0,1	100
Licopeno	2,1E-02	0,208	208
Palma Açai de lino	5,7E-02	0,574	574

Los valores obtenidos en los dos ensayos previos se compararon y se verificó que los ingredientes activos que proporcionaban mayor protección para DPPH, no ofrecieron necesariamente la mejor protección contra la lipoperoxidación. Esto es debido principalmente a las características diferentes de los ingredientes activos y los ensayos. Por esta razón, se establecieron algunos criterios específicos para cada metodología con el fin de determinar qué ingredientes activos tendrían que seguir siendo ensayados.

DPPH: considerando las características del ensayo, se estimaron algunos intervalos para clasificar los ingredientes activos en relación con la potencia antioxidante:

Potencia antioxidante SUPERIOR: sustancias que proporcionan una elevada protección a concentraciones bajas - IC-50 (%) en la amplitud de 10^{-4} . El té verde y el cacao están clasificados aquí.

Potencia antioxidante ELEVADA: sustancias que proporcionan una protección elevada a bajas concentraciones - IC-50 (%) en la amplitud de 10^{-3} . Pariparoba, romero, tocoferol y café están clasificados aquí.

Potencia antioxidante MEDIA: sustancias que proporcionan una protección elevada a concentraciones muy bajas - IC-50 (%) en la amplitud de 10^{-2} . Palma Açai y licopeno están clasificados aquí.

Como en ensayo de DPPH evalúa un radical específico para un mecanismo de reducción específico, es importante que el ingrediente activo sea capaz de neutralizar el radical a concentraciones muy bajas. Por tanto, se estableció como criterio continuar trabajando con los ingredientes activos que proporcionan la protección antioxidante ELEVADA o SUPERIOR.

- Lipoperoxidación:

Esta metodología es usada para valorar el porcentaje de protección de los ingredientes activos contra la lipoperoxidación en 3 horas de reacción. La concentración de los ingredientes activos se ajustó a 100 µg/ml (0,01%) para los fines de comparar la potencia protectora de cada uno de ellos.

Se proporciona a continuación una lista de los resultados obtenidos en la valoración de la lipoperoxidación:

- Licopeno: 25,30%

- Extracto de cacao (*Theobroma cacao*): 51,60%

- Romero (Provital): 52,09%

- Extracto de té verde (*Camellia sinensis*): 64,89%

- Café (Unichen): 72,49%

- Tocoferol: 95,53%

Como todos los ingredientes activos fueron ensayados a una concentración baja (0,01%), se determinó que los ingredientes activos que fueron capaces de proporcionar una protección de al menos 50% contra la lipoperoxidación incluso a concentraciones bajas, serían activos con una potencia elevada y, por lo tanto, seguirían siendo ensayados, a saber: cacao, romero, té verde, café y tocoferol. El romero, sin embargo, ya no fue ensayado debido a su posible efecto abortivo. Por lo tanto, se llevaron a cabo estudios adicionales para cacao, té verde, café y tocoferol.

- Selección del complejo:

Los cuatro componentes fueron ensayados como sigue:

- Ingredientes activos 2x2: cacao + té verde; cacao + café; café + té verde;

- Ingredientes activos + TOCOFEROL: (3) cacao + tocoferol; (2) té verde + tocoferol; café + tocoferol;

- Ingredientes activos + TOCOFEROL: (4) cacao + té verde + tocoferol; cacao + café + tocoferol; té verde + café + tocoferol.

Las concentraciones en µg/ml de las mezclas ensayadas y los porcentajes de resultados para la protección contra la lipoperoxidación (3 h) se resumen a continuación en la tabla 2 de este informe.

Tabla 2

	Cacao	Café	Té verde	Tocoferol	Ingredientes activos totales	Protección %
Mezcla 1	100	10	-	-	110	47,3
	50	5	-	-	55	46,7
	10	25	-	-	35	37,2
Mezcla 2	-	10	10	-	20	52,7
	-	5	5	-	10	20,0
Mezcla 3	10	-	10	-	20	35,3
	10	-	25	-	35	35,3
	10		5	-	15	26,4
Mezcla 4	-	10	-	10	20	5,2
Mezcla 5	-		7	10	17	32,6
Mezcla 6	25	-	-	10	35	38,1
Mezcla 7	-	10	10	200	220	53,1
	-	10	10	100	120	60,3
	-	10	10	25	45	58,9
	-	3	3	33	39	66,3
Mezcla 8	100	10	-	200	310	57,7
	100	10	-	50	160	55,1
	100	10	-	25	135	54,3
	30	3	-	30	63	65,2
Mezcla 9	10	-	10	10	30	69,4
	10	-	10	25	45	68,4

El valor más elevado de la protección mediante mezcla (alcanzado con mezcla 9) se muestra en el gráfico ilustrado en la figura 1 de la presente memoria descriptiva.

La valoración de la cantidad de ingredientes activos necesarios para alcanzar el porcentaje de protección superior, basado en la mezcla que proporción una protección máxima a la dosis más pequeña, mostró que la mezcla de

extracto de cacao + extracto de té verde + tocoferol es la más eficaz. Por tanto, se obtuvo un complejo antioxidante eficaz que tenía una concentración baja de ingredientes activos, un grado elevado de "vegetalización" (uso de material renovable de origen vegetal) y resultados por encima de lo esperado.

5 Las mezclas más eficaces se muestran en la Figura 2, en la que se demuestra el porcentaje de protección contra lipoperoxidación frente a la concentración total de ingredientes activos.

Como se puede concluir a partir de la tabla anterior, la mezcla de 10 µg/ml de té verde, 10 µg/ml de cacao y 10 µg/ml de tocoferol, que totaliza 30 µg/ml de ingredientes activos, proporciona un porcentaje elevado de protección contra la lipoperoxidación en 3 horas, 69,44%.

10 Se valoró la cantidad de cada ingrediente activo necesario para proporcionar un grado de protección similar al obtenido con la mezcla (entre 60 y 70% de protección). Los datos usados para los fines de este análisis fueron la concentración ensayada, que proporcionó el resultado de protección más próximo a 69,44%. Sin embargo, como se puede observar a partir de la tabla anterior, otras concentraciones combinadas proporcionan también el efecto optimizado y positivo de protección contra la oxidación.

15 El gráfico relativo a la concentración de ingredientes activos en aislamiento frente a concentración de ingredientes activos en la mezcla se ilustra en la figura 3 de esta memoria descriptiva. La línea representa el porcentaje de protección frente a lipoperoxidación de cada mezcla y/o ingrediente activo y las columnas representan la concentración de ingredientes activos para cada muestra valorada.

20 Debe apreciarse que se necesitaría una concentración de tocoferol al menos 5 veces mayor, una concentración de extracto de té verde al menos 10 veces mayor y una concentración de extracto de cacao al menos 25 veces mayor que las concentraciones usadas en la mezcla para alcanzar un grado de protección similar al proporcionado por la mezcla de antioxidantes. Por tanto, se concluye que la interacción de estos ingredientes activos es positiva para la actividad antioxidante. Estos datos muestran claramente que dicho resultado no podría ser esperado. El resultado final alcanzado sobrepasa al que se habría obtenido basado en el análisis de los ingredientes activos en aislamiento.

Evaluación de la eficacia de nuevo complejo antioxidante x complejo antioxidante actual

25 Después de definir cuál fue la mezcla antioxidante más eficaz según la presente invención (complejo antioxidante "nuevo"), se llevaron a cabo otros ensayos de eficacia antioxidante para una comparación de la actividad entre la mezcla de la presente invención y un complejo antioxidante convencional, como sigue:

Lipoperoxidación:

30 Un complejo antioxidante que comprende licopeno (20 µg/ml), extracto de café (20 µg/ml) y acetato de tocoferol (equivalente a 100 µg/ml), que totaliza 140 µg/ml, proporciona una protección de 70,41% frente a la lipoperoxidación (3 h) que es un resultado que puede ser considerado igual al resultado para la nueva mezcla (69,44%).

35 Sin embargo, en la nueva mezcla propuesta, se usa una concentración de ingredientes activos totales de 30 µg/ml, es decir, 4,7 veces menor que la concentración usada en la mezcla del complejo antioxidante conocido. Por tanto, se puede concluir mediante este ensayo que la nueva mezcla propuesta tiene una potencia 4,7 veces mayor que la mezcla actualmente usada.

DPPH:

40 En el ensayo de DPPH la mezcla de la presente invención proporcionó un 96% de protección. Tras comparar la cantidad de ingredientes activos necesarios para neutralizar un 50% de los radicales (IC-50) en la nueva mezcla con la del complejo antioxidante conocido, se observó que la primera tiene una mayor potencia de actividad (valor inferior de IC-50), como ya se había observado a través del protocolo de lipoperoxidación:

- Ensayo para valorar la protección contra la oxidación de DNA de plásmido:

Este ensayo se llevó a cabo con las muestras detalladas en la tabla 3 siguiente:

Tabla 3

	Muestra	Tratamiento
1	Testigo sin riboflavina	Radiada
2	Testigo sin riboflavina	No radiada
3	Té verde + Cacao + TOC (complejo antioxidante (730A))	Radiada
4	Té verde + Cacao + TOC (complejo antioxidante (730A))	No radiada
5	Té verde + Cacao + TOC (10x) (Nuevo complejo antioxidante +10)	Radiada

	Muestra	Tratamiento
6	Té verde + Cacao + TOC (10x) (Nuevo complejo antioxidante +10)	No radiada
7	Té verde + Cacao + TOC (1/10) (Nuevo complejo antioxidante -10)	Radiada
8	Té verde + Cacao + TOC (1/10) (Nuevo complejo antioxidante -10)	No radiada
9	Complejo antioxidante de lino (729A)	Radiada
10	Nuevo complejo antioxidante (729A)	No radiada

La Figura 4 ilustra el resultado de la valoración de la descomposición de DNA de plásmido.

Nuevo complejo antioxidante + 10 significa que se usó una concentración de complejo antioxidante 10x superior a la inicialmente propuesta y el nuevo complejo antioxidante -10, 10x inferior a la concentración indicada. Se llevaron a cabo testigos no radiados para cada muestra y se ensayó también un testigo sin riboflavina (la reacción no se produce). Los resultados se pueden observar en la Figura 4.

Basándose en este gráfico, se puede concluir que la muestra no radiada de la mezcla (4) tiene el mismo perfil que la muestra radiada (3), lo que significa que esta mezcla protege al DNA frente al ataque oxidativo. Se obtuvo el mismo resultado con la mezcla concentrada 10x. Se puede concluir que en la muestra diluida 10x, el DNA no está protegido (en la muestra 7, que ha sido radiada, se observan bandas representativas de descomposición de DNA, al contrario que en el testigo no radiado, muestra 8). Finalmente, es posible también concluir que el complejo antioxidante conocido no es capaz de proteger la descomposición oxidativa de DNA (la muestra 9 - radiada - presenta bandas representativas de descomposición de DNA, diferentes de las del testigo no radiado, muestra 10).

- Ensayo para valorar la protección contra la oxidación de proteínas:

Este ensayo se usó para valorar la capacidad de la mezcla en cuestión (M1: té verde + cacao + tocoferol) y del complejo antioxidante conocido (M2: licopeno + café + tocoferol) para proteger contra la oxidación de proteínas (en este caso, BSA). Los resultados obtenidos se muestran en las figuras 5, 5A y 5B.

Este ensayo valora la formación de hidroperóxidos de proteínas mediante naranja de xilenol y, por lo tanto, se requiere la construcción de una curva de xilenol con peróxido de hidrógeno.

Se aprecia que los testigos M2 (complejo antioxidante conocido) presentaron un nivel de oxidación superior al observado en el testigo sin ingredientes activos o en el testigo con M2. Esto posiblemente sucedió debido a la presencia de metales pesados en los extractos de componente de la mezcla que podrían acelerar la oxidación del BSA.

La valoración del resultado obtenido para el mejor estado de oxidación establecido (reacción), muestra que las dos mezclas son capaces de proteger BSA frente a la oxidación generada por radicales hidroxilo, sin embargo, M1 (nuevo complejo antioxidante) proporciona un 65% de protección, mientras que la mezcla 2 proporciona un 32% de protección. Este ensayo demostró también que la mezcla en cuestión es más potente que la mezcla de referencia.

- Ensayo para valorar la capacidad para neutralizar radicales libres:

Este ensayo se usa para valorar la capacidad del ingrediente activo para disminuir la formación de radicales libres. Un radical específico (DPPH) produce una coloración púrpura en solución etanólica. Los ingredientes activos antioxidantes capaces de donar protones (H⁺) disminuyen la formación de radicales, disminuyendo consecuentemente la coloración púrpura.

La mezcla en cuestión (té verde + cacao + tocoferol) se valoró a diferentes concentraciones (desde 0,3 µg/ml hasta 300 µg/ml) y los resultados indican que a una concentración de 15 µg/ml de la mezcla se obtiene ya una protección por encima de 90%.

Los resultados de este ensayo se muestran en el gráfico de la figura 6. Por tanto, se ha concluido que se obtiene un grado elevado de protección contra la acción de radicales libres usando pequeñas cantidades de los antioxidantes de la composición de la presente invención.

Formación de CPD (dímeros de pirimidina)

En este ensayo se evaluó si la mezcla según la presente invención sería capaz de proteger el DNA de los deterioros directos de la radiación UVB, media a través de la cuantificación de CPD (dímeros de pirimidina - mutación comúnmente formada cuando las células son expuestas a UVB). Como las sustancias evaluadas son antioxidantes, se espera que actúen protegiendo el DNA de una forma indirecta, es decir, a través de la neutralización de radicales libres que atacarían las bases de DNA (como se demuestra con el protocolo de DNA plasmidial). Este ensayo se llevó a cabo para investigar si los mismos ingredientes activos podrían tener alguna actividad de protección y/o reparar el DNA contra los deterioros directos (mutaciones) provocados por la radiación UVB. Los resultados

obtenidos se muestran en la Figura 7.

Se puede concluir a partir de los resultados que la mezcla propuesta no es capaz de proteger el DNA de los deterioros directos provocados por la radiación UVB. Sin embargo, se puede decir mediante el resultado del ensayo de DNA plasmidial que protege el DNA de los deterioros indirectos de la radiación (en este caso, ataque oxidativo).+

5 Actividad antioxidante en fibroblastos

En este ensayo se evaluó la actividad antioxidante de las mezclas de ingredientes activos (complejo antioxidante nuevo y conocido). En este ensayo, se exponen fibroblastos humanos a LPS con el fin de conducir a la generación de especies reactivas de oxígeno, principalmente peróxido de hidrógeno. El peróxido así formado oxida diclorofluoresceína (DCFH-DA) que se hace fluorescente. La medición de la fluorescencia se lleva a cabo a través de un citómetro de flujo y el resultado es la comparación de células testigo con las células tratadas con la mezcla de ingredientes activos.

Los resultados obtenidos demuestran que los complejos antioxidantes tanto nuevos como conocidos son capaces de reducir significativamente la tensión oxidativa formada en un cultivo celular expuesto al LPS, como se muestra en la Figura 8, en la que las dos mezclas fueron valoradas en sus concentraciones originales, diluidas 10 veces (0,1x) y concentradas 10 veces (10X).

Envejecimiento celular (compuesto antioxidante nuevo)

El envejecimiento celular es un procedimiento multifactorial y la tensión oxidativa es una de las vías responsables para comenzar este procedimiento. Por esta razón, se investigó la actividad del complejo antioxidante según la presente invención para reducir el estado de envejecimiento celular. En este ensayo, las células son expuestas a radiación UV durante 04 días y después de este período uno de los marcadores de envejecimiento - enzima beta-galactosidasa - es medido para evaluar el estado de las células. El grupo tratado con el nuevo complejo antioxidante presentó menos células envejecidas en comparación con el patrón. Este resultado está representado por la menor cantidad de células marcadas con el beta-gal, como se muestra a continuación en la tabla 5:

Tabla 5

Muestra	UB V - (% células positivas)	UVB + (% células positivas)
Testigo	11,67 ± 0,60	51,67 ± 1,36
Nuevo complejo antioxidante	14,58 ± 0,92	38,81 ± 0,91

Los resultados demuestran que la radiación UV (UVB-) de células no expuestas no mantiene un nivel basal de envejecimiento. Cuando se exponen a radiación UV (UVB+), el número de células marcadas para el envejecimiento, sin embargo, al comparar el testigo con el grupo tratado con el nuevo complejo antioxidante, se aprecia a al menos uno es capaz de reducir significativamente el número de células beta-gal positivas y, por lo tanto, el estado de envejecimiento celular.

30 Evaluación del potencial antioxidante in vitro mediante el método ORAC hidrófilo y lipófilo

El método ORAC proporciona una fuente controlada de radicales peroxilo que estimula las reacciones oxidativas con lípidos en alimentos, cosméticos y sistemas fisiológicos.

El sistema comprende una sustancia generadora de radicales libres, el AAPH (dihidrocloreto de 2,2-azobis(2-amidinopropano)) y un marcador fluorescente, fluoresceína. La presencia de sustancia antioxidante en el medio de reacción inhibe el declive de la fluorescencia inducida por el radical libre.

El valor final se calcula mediante la ecuación de regresión entre la concentración de la muestra y el área bajo la curva de declive de la fluorescencia (AUC). Se expresa el resultado en micromoles equivalentes de Trolox®/g de la muestra.

$$AUC = 1 + f_1 / f_0 + f_2 / f_0 + f_3 / f_0 + \dots + f_n / f_0$$

-f₀: fluorescencia inicial t = 0 minutos

-f_n: fluorescencia en cada muestr en t = n minutos

$$\frac{(AUC_{\text{muestra}} - AUC_{\text{testigo}})}{(AUC_{\text{Trolox}}^{\text{®}} - AUC_{\text{testigo}})} \times \frac{\text{molaridad Trolox}^{\text{®}}}{\text{concentración muestra}}$$

Considerando AUC neta = AUC_{muestra de Trolox} - AUC_{testigo}

Objetivo

Para evaluar la actividad antioxidante mediante el método ORAC lipófilo e hidrófilo de las siguientes mezclas:

mezcla 1 (que consiste en las muestras 9617, 6714 y T3251 en la relación 1:1:1)

- 5 mezcla 2 (que consiste en las muestras 2705, 940 y T3251 en la relación 1:1:5).

Materiales

AAPH y Trolox son de la empresa Sigma GmbH (Steinheim, Alemania) y la fluoresceína de sodio de Riedel-of-Haën (Sellze, Alemania) y los demás son reactivos analíticos estándar.

Metodología

- 10 Se añadió hexano (1 mg/ml) a las muestras individuales, las muestras se agitaron durante 3 minutos en un agitador y se centrifugaron durante dos minutos en 700 g. La materia sobrenadante se separó, se evaporó bajo flujo de nitrógeno y se analizó como parte lipófila. La estructura del fondo se analizó como fracción hidrófila.

- Esta última se solubilizó en acetona:agua (50% v/v), se mezcló en la relación indicada para cada una de las mezclas y se diluyó apropiadamente en tampón de fosfato 75 mM a pH 7,0. Por tanto, se añadieron 25 µl de muestra de 150 µl de solución de fluoresceína 40 nM (en tampón de fosfato 75 mM, pH 7,0) en una placa de 96 pocillos. Después de incubarla a 37°C durante 30 minutos, se añadieron 25 µl de solución de AAPH 153 mM (en tampón de fosfato 75 mM, pH 7,0) y la placa se agitó a intensidad elevada durante 10 segundos. La lectura se hizo cada minuto durante una hora con una longitud de onda de excitación de 485/20 nm y emisión de 528/20 nm (lectura de placas - lector de microplacas Multi Detection, Synergy - BIOTEK). La muestra en blanco consistió en 200 µl de tampón de fosfato 75 mM, pH 7,0 y en el testigo la muestra se sustituyó con 25 µl de tampón de fosfato 75 mM, pH 7,0.

La parte lipófila se solubilizó, se mezcló en la relación anteriormente indicada para cada mezcla y se diluyó en acetona:agua (50% v/v) que tenía 7% de β-ciclodextrina aleatoriamente, metilada (RMCD). El análisis se realizó como en la parte hidrófila, usando la solución de RMCD como muestra en blanco y controlada.

Como nota adicional, la mezcla 2 se solubilizó solamente en acetona y se diluyó en RMCD.

- 25 Resultados:

Las Figuras 9 a 12 representan las correlaciones entre la diferencia de área en la curva de las muestras en relación con el testigo (AUC neto) y la concentración de las mezclas para una evaluación hidrófila y lipófila.

Los valores de las actividades antioxidantes de las muestras se presentan a continuación.

Tabla 6: Actividad antioxidante de las muestras

Muestra	Actividad (µmol eq Trolox/g de la muestra)
Mezcla 1 hidrófila	507 ± 53
Mezcla 1 lipófila	428 ± 7
Mezcla 2 hidrófila	190 ± 14
Mezcla 2 lipófila	1087 ± 89

- 30 Las muestras analizadas presentaron una actividad antioxidante total comparativa considerable en comparación con Trolox® (400 µmol/g), siendo la parte lipófila en la mezcla 2 el componente mayoritario de la actividad.

Estudios de aplicación y estabilidad

La aplicación de los ingredientes activos se llevó a cabo sobre bases de Chronos (BDP. 581.9870.2 y 581.9869.3) y Fotoequilibrio FPS 30 (581.9868.2) en la primera fase. En esta fase de evaluación individual de los ingredientes

activos, la estabilidad se llevó a cabo según el protocolo REVE para té verde y cacao, ya que los demás ingredientes activos ya tenían un historial de aplicación el producto final. Se observó una modificación más significativa del color en condiciones de temperaturas de 37°C y 45°C para FPS 30 con té verde. Sin embargo, se indica que esta materia prima fue aplicada en una concentración de 0,1%, 100x superior a la concentración final indicada (0,001%). Las demás características en los otros productos y condiciones son sufrieron alteraciones significativas.

En la segunda fase, ya con la mezcla definida (de acuerdo con los ensayos anteriormente presentados), se realizó la aplicación de las mezclas de té verde (0,001%), tocoferol (0,001%) y cacao (0,001%) en las bases de Fotoequilibrio FPS 30 y Chronos FPS 15, según el protocolo de REVE. Durante 30 días no se detectó un cambio significativo.

Datos

Tabla 7: Códigos y estado (GSP/CMP)

Nuevo complejo antioxidante			
Materia prima	BDP	GSP	CMP
Extracto de cacao	6714	Definitivo	Aprobado
Extracto de té verde	9617	Definitivo	Definitivo
Acetato de tocoferol	1213	Definitivo	Definitivo

Tocoferol

Todos los ensayos presentados se llevaron a cabo con el alfa-tocoferol. Los productos finales propuestos, sin embargo, usaron acetato de tocoferol, que no puede ser evaluado in vitro ya que depende de la presencia de enzimas específicas (estearasas) que están presentes en la piel.

Teniendo esto en cuenta, se realizó una búsqueda extensiva en la bibliografía sobre datos de conversión de acetato de tocoferol en tocoferol. En esta búsqueda se encontraron diversos datos de bioconversión que varían en el intervalo de 5% a 100%. Entonces se decidió, para los fines de esta evaluación, usar el peor caso descrito en la bibliografía (velocidad de conversión de 5%) para garantizar que el acetato añadido estará disponible en la concentración a la que se llevaron a cabo los ensayos. Por tanto, la regla de conversión de la cantidad de tocoferol en acetato se estableció que era una concentración 20x mayor de la posterior que debe ser añadida a la formulación final.

REIVINDICACIONES

1. Un complejo antioxidante, caracterizado por tener un efecto sinérgico y que comprende:

- a) de 1 µg/ml a 20000 µg/ml de vitamina E;
- b) de 10 µg/ml a 1000 µg/ml de extracto de té verde;
- 5 c) de 10 µg/ml a 1000 µg/ml de extracto de cacao,

todas las cantidades están basadas en el peso total del complejo antioxidante.

2. El complejo antioxidante según la reivindicación 1, caracterizado por comprender:

- a) de 10 µg/ml a 200 µg/ml de vitamina E,
- b) de 10 µg/ml a 100 µg/ml de extracto de té verde;
- 10 c) de 10 µg/ml a 100 µg/ml de extracto de cacao,

todas las cantidades están basadas en el peso total del complejo antioxidante.

3. El complejo antioxidante según una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, caracterizado porque dicha vitamina E se selecciona entre: tocoferol y acetato de tocoferol

4. El complejo antioxidante según una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, caracterizado porque dicho extracto de té verde comprende una mezcla de polifenoles, entre los cuales están catequinas.

5. El complejo antioxidante según una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, caracterizado porque dicho extracto de cacao es extracto de cacao Theobroma con elevado contenido de catequinas y xantinas.

6. El complejo antioxidante según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado por tener un efecto sinérgico y que comprende:

- 20 a) 10 µg/ml de acetato de tocoferol;
- b) 10 µg/ml de extracto de té verde que comprende una mezcla de polifenoles, entre ellos catequinas; y
- c) 10 µg/ml de extracto de cacao Theobroma con elevado contenido de catequinas y xantinas,

todas las cantidades están basadas en el peso total del complejo antioxidante.

7. El complejo antioxidante según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque comprende además al menos un antioxidante adicional seleccionado entre BHT, BHA, TBHQ y extractos vegetales.

8. Una composición cosmética, caracterizada porque comprende:

- a) un complejo antioxidante como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7; y
- b) un vehículo aceptable en cosmética.

9. La composición cosmética según la reivindicación 8, caracterizada porque la cantidad de complejo antioxidante presente varía en el intervalo de 0,003% a 3,000% en peso, basado en el peso total de la composición.

10. Una composición farmacéutica, caracterizada por comprender:

- a) un complejo antioxidante como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7; y
- b) un vehículo farmacéuticamente aceptable.

11. La composición farmacéutica según la reivindicación 10, caracterizada porque la cantidad de complejo antioxidante presente varía en el intervalo de 0,003% a 3,000% en peso, basado en el peso total de la composición.

12. Uso del complejo antioxidante como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para la fabricación de un medicamento para combatir el deterioro de la piel provocado por el sol y la contaminación, el estrés, el viento y otras condiciones adversas.

13. Un complejo antioxidante como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o una composición como se define en la reivindicación 10 o 11, para ser usado para combatir el deterioro de la piel provocado por el sol y la contaminación, el estrés, el viento y otras condiciones adversas.

14. Un complejo antioxidante como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o una composición como se define en la reivindicación 8 o 9, para ser usado en un método para combatir el envejecimiento de la piel provocado por el son y por la contaminación, el estrés, el viento y otras condiciones adversas.

- 5 15. El complejo antioxidante como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para un uso terapéutico para combatir deterioros moleculares y morfológicos derivados de la lipoperoxidación, oxidación de DNA y reacciones de oxidación de proteínas.

Figura 1

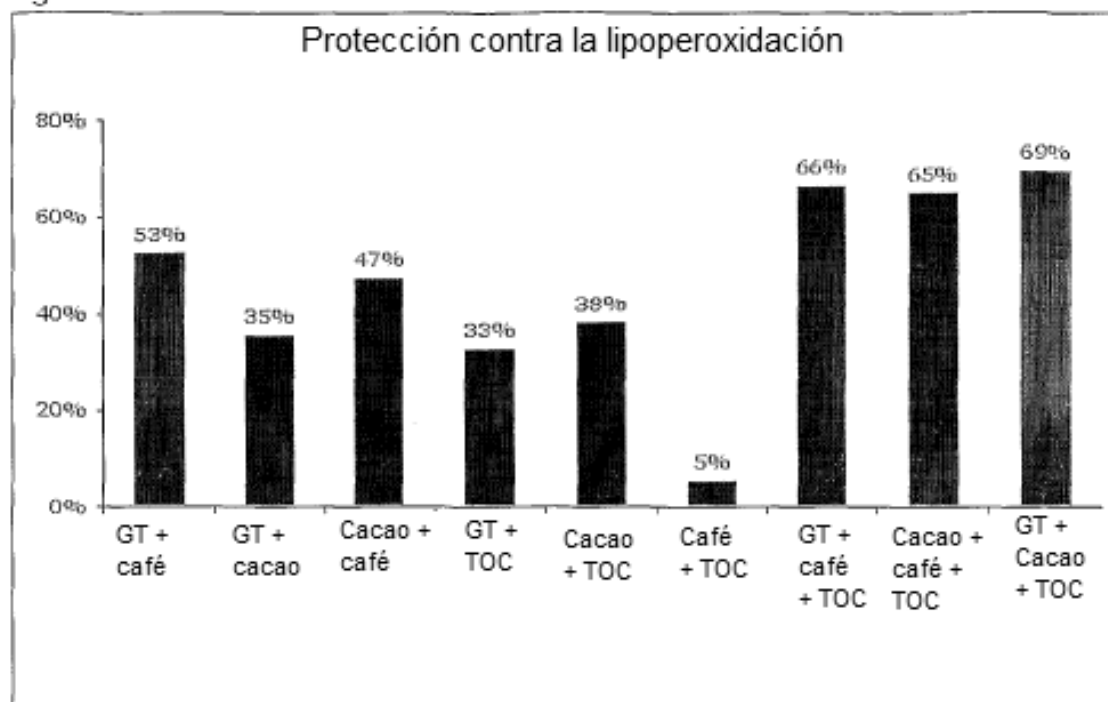


Figura 2

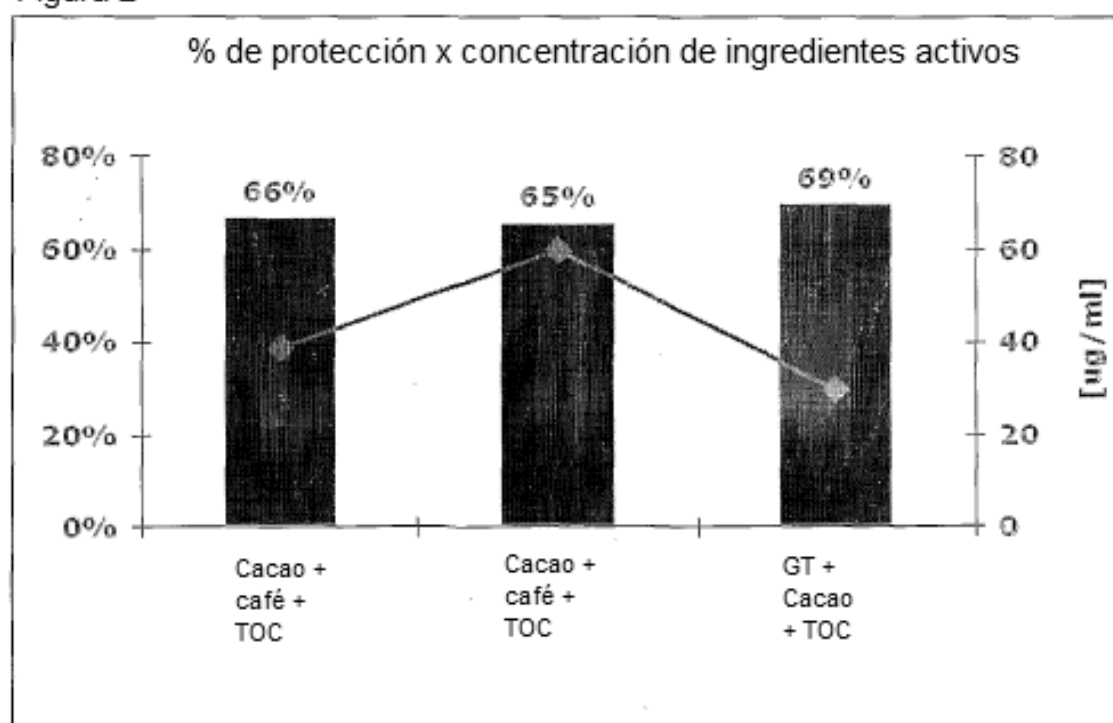


Figura 3

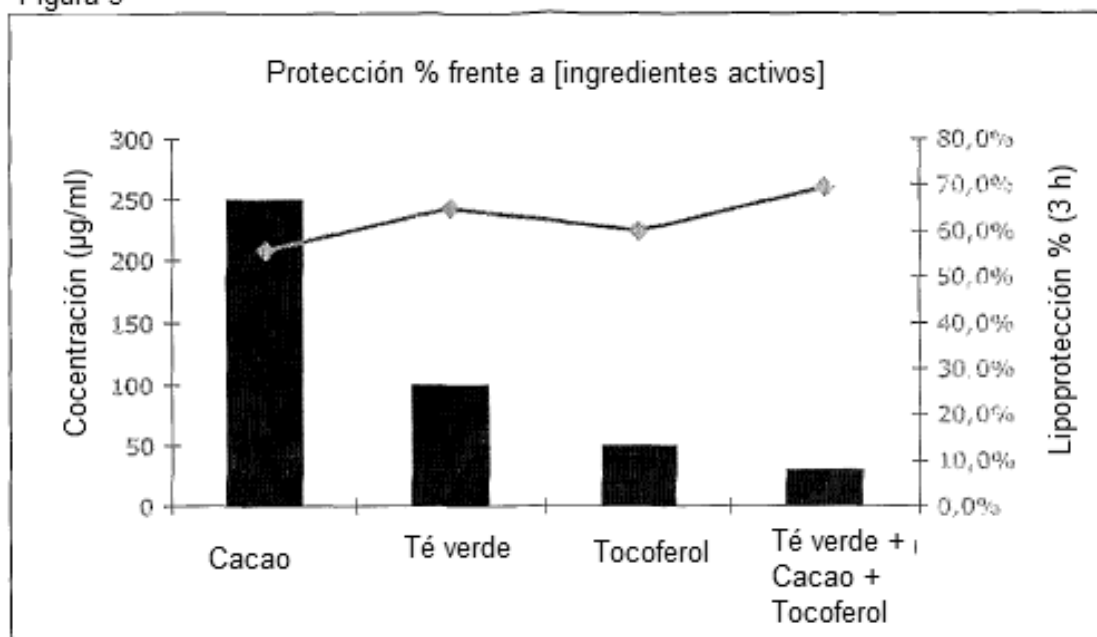


Figura 4

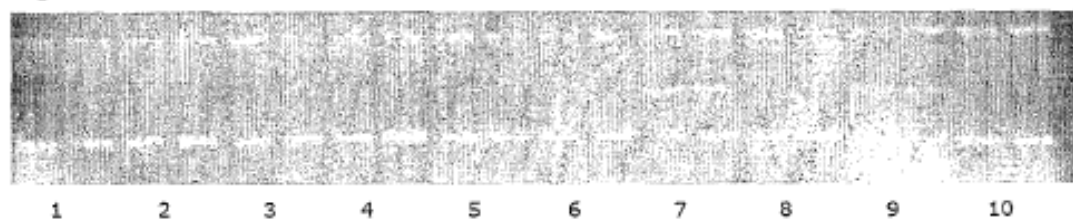


Figura 5

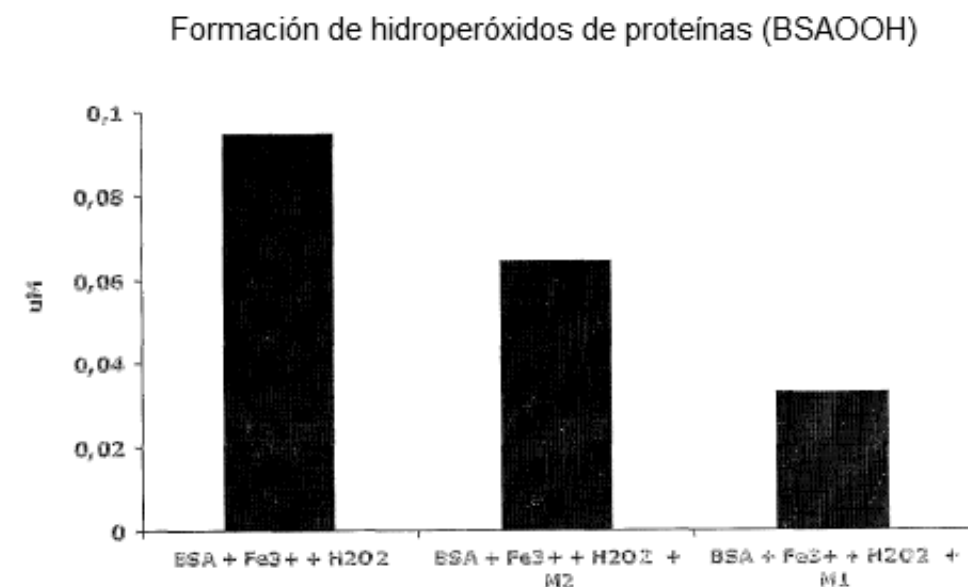


Figura 5A

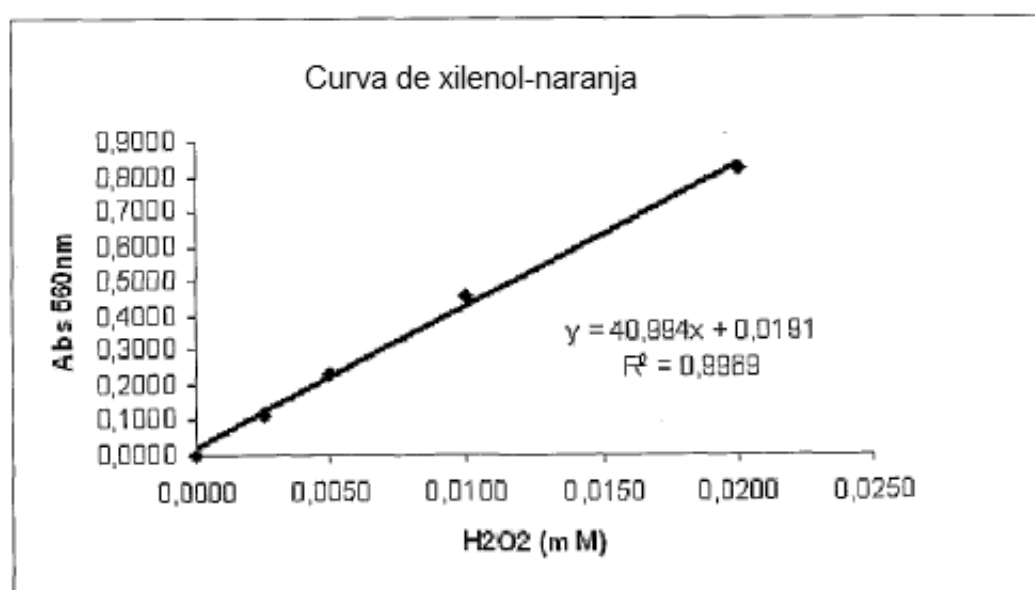


Figura 5B

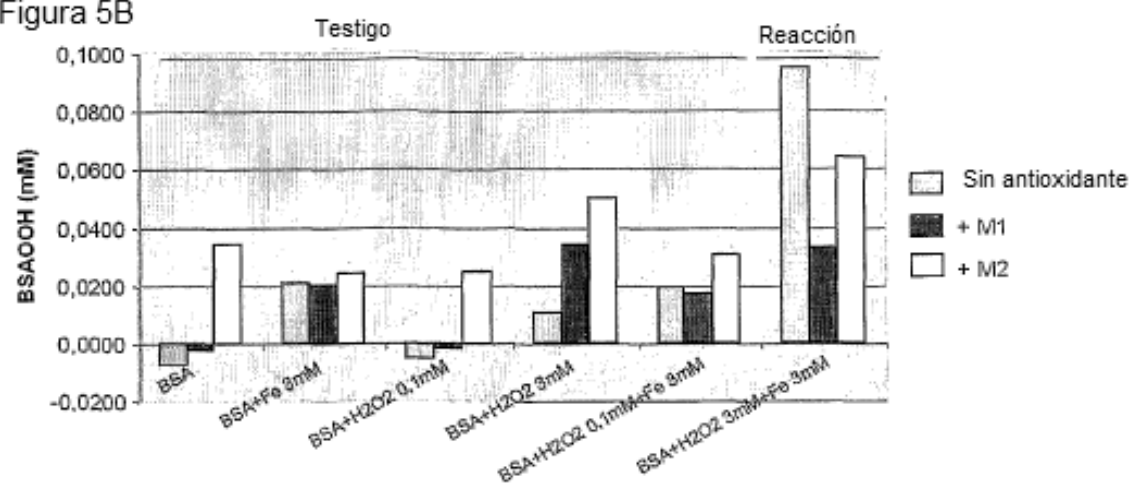


Figura 6

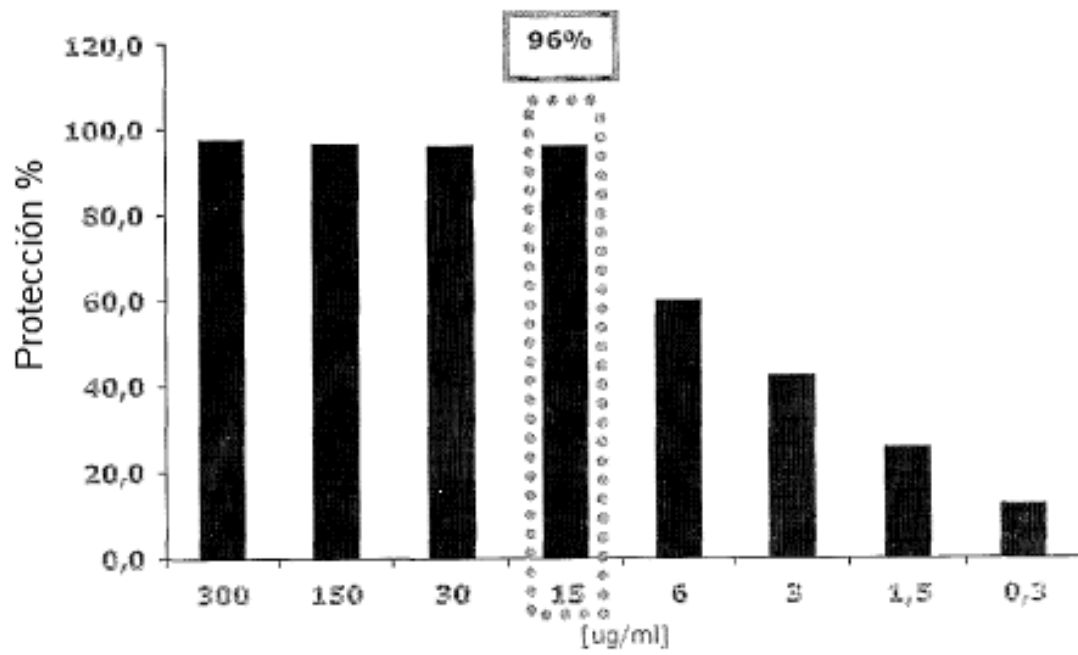


Figura 7

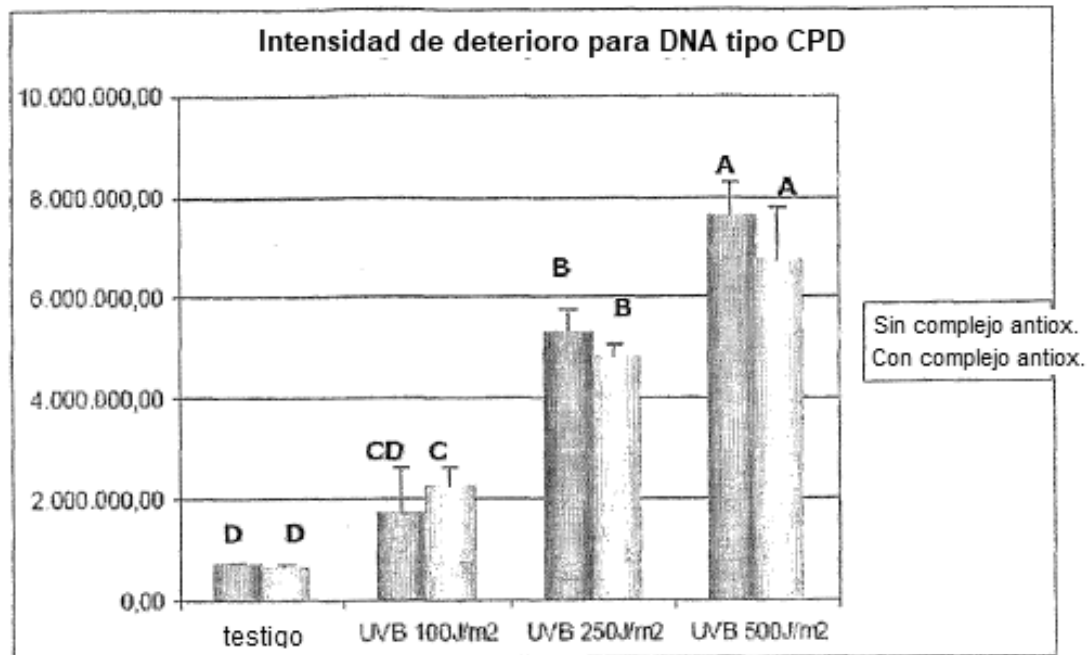


Figura 8

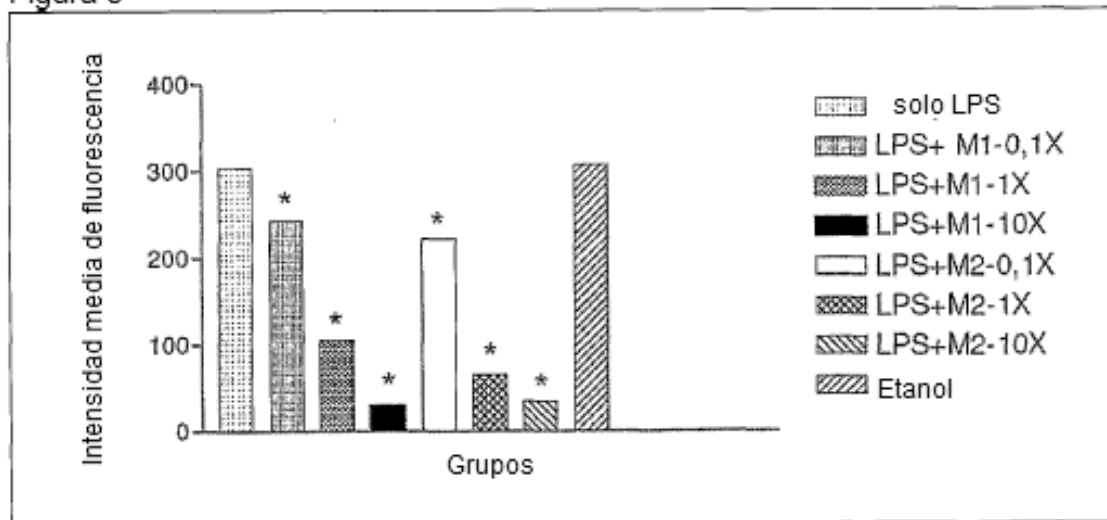


Figura 9

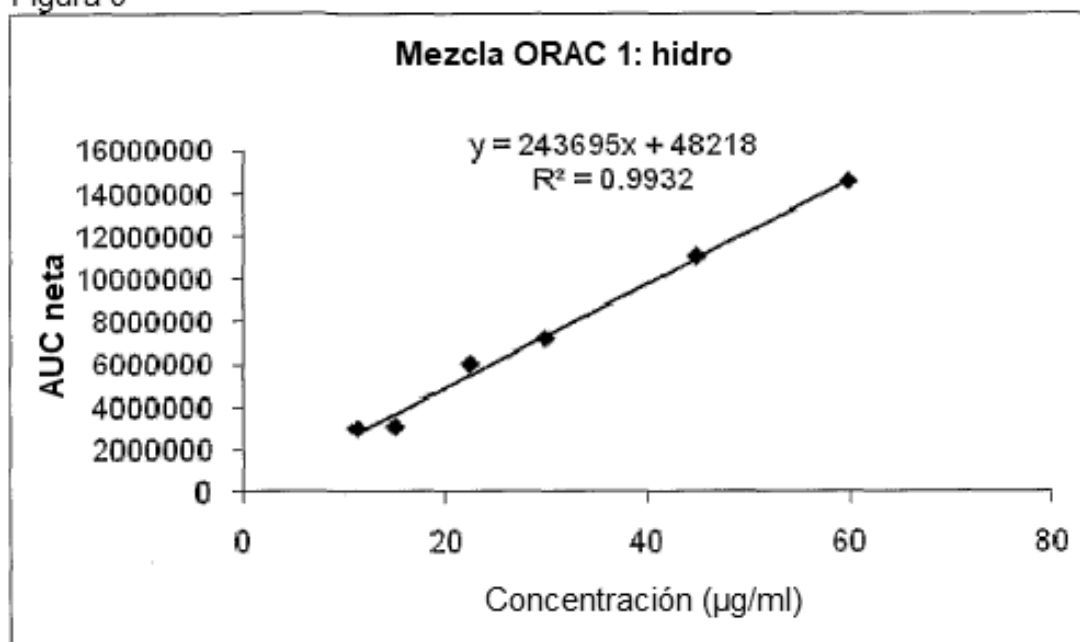


Figura 10

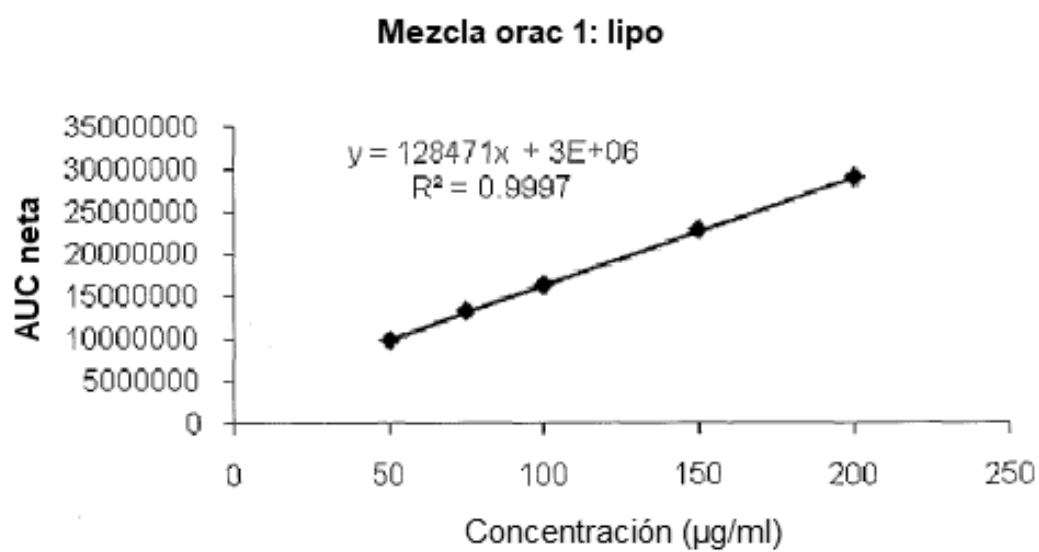


Figura 11

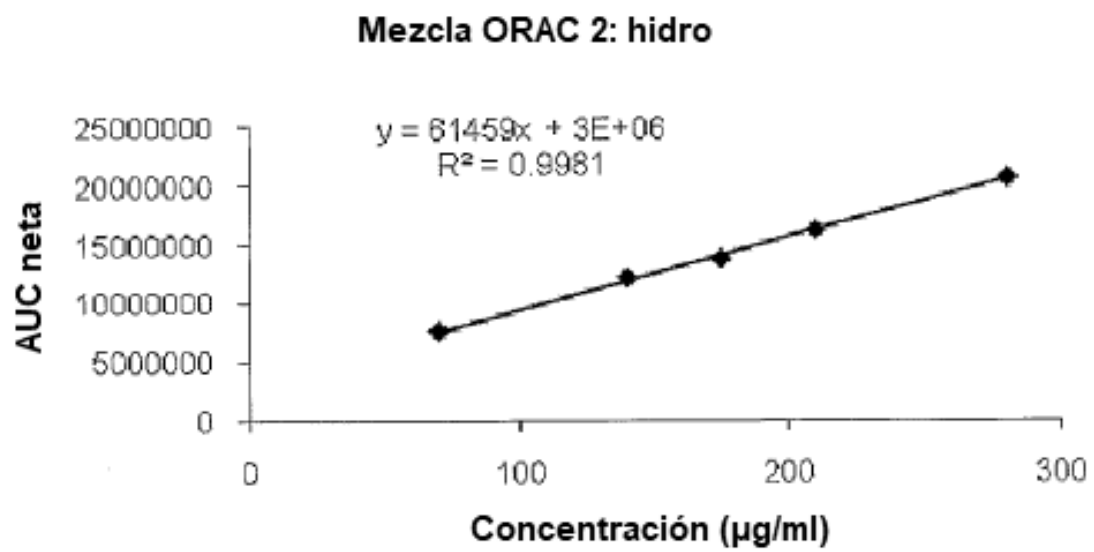


Figura 12

