

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 769 246**

51 Int. Cl.:

A61K 31/7004	(2006.01)	A61P 17/10	(2006.01)
A61K 36/48	(2006.01)	A61P 19/02	(2006.01)
A61K 8/60	(2006.01)		
A61K 8/97	(2007.01)		
A61Q 19/00	(2006.01)		
A61P 17/00	(2006.01)		
A61P 17/02	(2006.01)		
A61P 17/06	(2006.01)		
A61P 31/00	(2006.01)		
A61P 17/08	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.04.2005 PCT/FR2005/001075**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **08.12.2005 WO05115421**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.04.2005 E 05763732 (4)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.11.2019 EP 1763355**

54 Título: **Composición que comprende D-manoheptulosa y/o perseitol para el tratamiento o la prevención de enfermedades relacionadas con una modificación de la inmunidad innata y/o adquirida**

30 Prioridad:
30.04.2004 FR 0404635

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
25.06.2020

73 Titular/es:
**LABORATOIRES EXPANSCIENCE (100.0%)
1, Place des Saisons
92048 Paris La Défense Cedex, FR**

72 Inventor/es:
**PICCIRILLI, ANTOINE;
PICCARDI, NATHALIE;
MSIKA, PHILIPPE;
PAUL, FRANÇOIS y
BREDIF, STÉPHANIE**

74 Agente/Representante:
CURELL SUÑOL, S.L.P.

ES 2 769 246 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 que comprende D-manoheptulosa y/o perseitol para el tratamiento o la prevención de enfermedades relacionadas con una modificación de la inmunidad innata y/o adquirida.

5

La presente invención se refiere a la utilización de una composición que comprende D-manoheptulosa y/o perseitol para la fabricación de un medicamento destinado al tratamiento y/o a la prevención de enfermedades relacionadas con una modificación de la inmunidad innata.

10

Todas las especies animales se enfrentan de manera diaria a un gran número de microorganismos, tales como bacterias, hongos, parásitos o virus, que pueden afectar a su salud, incluso a su supervivencia. Dos sistemas de defensa se oponen a estos microorganismos: un sistema denominado inmunidad innata, que es común a todos los animales, incluyendo el hombre, y un sistema inmunitario denominado adaptativo o específico que se adquiere gracias a las células y a los mediadores de la inmunidad después del contacto con el agresor potencial.

15

Una diferencia entre las respuestas inmunitarias innatas o adaptativas se sitúa a nivel de los mecanismos de reconocimiento de microorganismos implicados. En la inmunidad innata, la especificidad de los receptores se determina genéticamente en el nacimiento y no es variable. Estos receptores se expresan sobre células tales como algunas células epiteliales y endoteliales, las células dendríticas, los monocitos y los macrófagos. Todas las estructuras reconocidas por los receptores de la inmunidad innata son comunes a un gran número de microorganismos. Contrariamente a la respuesta inmunitaria adaptativa, los mecanismos de la respuesta inmunitaria innata (fagocitosis, péptidos antimicrobianos, etc.) se activan a partir del inicio de la infección y controlan de manera casi inmediata la proliferación de los patógenos que invaden el hospedante. Después, la respuesta inmunitaria adaptativa toma el relevo.

20

Los péptidos antimicrobianos se han encontrado al mismo tiempo en el reino vegetal y animal, y se han descubierto más de 500 péptidos antimicrobianos diferentes desde los insectos hasta el hombre. Los péptidos antimicrobianos son unas moléculas de tamaño pequeño (10 a 50 aminoácidos) capaces de destruir una gran variedad de microorganismos (bacterias Gram+ y/o Gram-, hongos, virus, células transformadas), permeabilizando su membrana celular. Además, algunos de estos péptidos antimicrobianos, por medio de propiedades quimioatrayentes, son capaces de reclutar células que participan en la inmunidad adaptativa, tales como las células dendríticas o también los linfocitos T. Numerosos péptidos antimicrobianos se han puesto en evidencia en la *vernix caseosa* y en el fluido amniótico, así como en la piel de los recién nacidos, lo cual sugiere su papel clave en la defensa antimicrobiana durante el parto, pero también a partir del comienzo de la vida, mientras que la inmunidad adquirida está todavía inmadura.

25

La mayoría de los organismos sintetizan varios tipos de péptidos antimicrobianos a nivel de sus diferentes epitelios, con el fin de definir un amplio espectro de actividad. En los mamíferos, se han descrito dos grandes clases de péptidos antimicrobianos, cuya producción es inducida durante un contacto con un microorganismo: las catelicidinas y las defensinas.

30

La catelicidina humana (LL-37) ha sido aislada por primera vez a partir de células de la médula ósea. La LL-37 se expresa en particular en la piel humana, a nivel de las uñas, así como a nivel de la membrana sinovial sana e inflamatoria, en particular en pacientes que padecen artrosis. La LL-37 posee un amplio espectro de actividad, y parece actuar en sinergia con otros péptidos antimicrobianos, en particular las defensinas. La LL-37 posee también propiedades quimioatrayentes, lo cual le confiere la capacidad de poder reclutar células de la inmunidad adaptativa.

35

Las defensinas se dividen a su vez en dos familias, α y β , en base a su estructura secundaria. Las α -defensinas (6 conocidas en la actualidad) están localizadas principalmente en los gránulos de almacenamiento de las células especializadas, tales como los neutrófilos, o las células de Paneth intestinales, mientras que las β -defensinas son características de los tejidos epiteliales. Además de su papel en la inmunidad innata, las defensinas se conocen también por sus propiedades mitogénicas, lo cual sugiere su implicación potencial en los procesos de cicatrización.

40

En el hombre, 4 β -defensinas han sido identificadas hasta ahora (existirían más de 20 genes que codifican para péptidos antimicrobianos en nuestro genoma). La β -defensina 1 (hBD-1) humana se produce generalmente de manera constitutiva y se expresa en cantidad importante en los riñones y, en una menor proporción, a nivel del páncreas, de las glándulas salivares, de los epitelios de las vías respiratorias, en el sistema uro-genital de la mujer, en la membrana sinovial sana, así como en la placenta. La hBD-1 se expresa también en la piel. Las otras formas de β -defensinas, hBD-2, 3 y 4 son inducibles. La hBD-3 se induce a nivel de las membranas sinoviales inflamatorias como, por ejemplo, en las patologías artrósicas. La expresión de hBD-2 se ha documentado, hasta la fecha, en la piel, el tracto uro-genital, las glándulas sudoríficas, y a nivel de la unidad pilo-sebácea.

45

A nivel de la piel, otros péptidos o proteínas, tales como la adrenomedulina, la cistatina, el inhibidor específico de

50

55

60

65

la elastasa/SKALP/elafina, poseerían actividades antimicrobianas. Más recientemente, la dermicidina (amplio espectro de actividad) se ha caracterizado como un péptido antimicrobiano específico de la piel que se produciría a nivel de las glándulas sudoríparas ecrinas, y cuya secreción simultánea con el sudor constituiría una parte importante del sistema de defensa innato contra las infecciones locales y sistémicas. La hBD-2 se ha caracterizado por primera vez en las escamas de psoriasis. La expresión de la hBD-2 y -3, así como de LL-37, aumenta a nivel de las lesiones de psoriasis, lo cual explicaría la mayor resistencia a las infecciones de los pacientes que padecen esta patología. A la inversa, en la dermatitis atópica (lesiones crónicas y lesiones por brotes), la expresión de la LL-37 y de la hBD-2 disminuye bajo la influencia de la interleucina-4 (IL-4) y de la interleucina-13 (IL-13), mediadores de la atopia. Esta deficiencia podría explicar la susceptibilidad incrementada a las infecciones de los pacientes que padecen dermatitis atópica. En el acné, la expresión de las β -defensinas (hBD-1 y -2) aumenta por reacción a la proliferación de *P. acnes*. Además, se supone que los acnéicos sufrirían de un desequilibrio inicial en péptidos antimicrobianos, responsables de la proliferación bacteriana, bacterias que, en contrapartida, estimularían las defensas inmunitarias innatas.

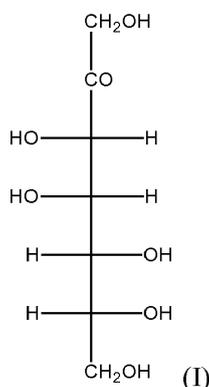
La inflamación parece por lo tanto ser un factor preponderante en la inducción de los péptidos antimicrobianos. Así, se ha demostrado también que la interleucina-1, el TNF- α (Tumor Necrosis alpha), y la irradiación ultravioleta estimulan la producción de hBD-2. La expresión de hBD-2 se ha relacionado también con el estado de diferenciación de los queratinocitos. Así, la estimulación de la producción de péptidos antimicrobianos, en particular de la familia de las defensinas, y más particularmente de hBD-2, permitiría promover y/o restablecer la inmunidad innata, en particular a nivel de los ojos y del epitelio (epidermis, mucosas vaginales, intestinales, nasales y auriculares, vías respiratorias).

La cavidad bucal está expuesta constantemente a una gran variedad de microbios (bacterias, virus, hongos). Entre otros, está bien establecido que unas bacterias tales como *actinobacillus actinomycetemcomitans*, *porfiromonas gingivalis* son unos factores clave que participan en el desarrollo de las enfermedades periodontales (gingivitis y periodontitis). El epitelio gingival constituye el primer escudo contra los diferentes patógenos presentes en la esfera bucal. Con este fin, los queratinocitos gingivales producen un amplio panel de péptidos antimicrobianos, hBD-1, -2, -3, LL37. Estos péptidos se producen también a nivel de la mucosa bucal, así como por las glándulas salivares.

Más particularmente, esta estimulación permitiría promover y/o restablecer la inmunidad innata a nivel de la piel sana o patológica de los lactantes y de los niños, cuya inmunidad es generalmente deficiente, y a nivel de la piel de los adultos o de las personas mayores con buena salud o enfermos (inmuno-deprimidos). Esta estimulación permitiría así complementar ventajosamente el sistema de defensa pasiva de la piel, que constituye el estrato córneo (corneocitos + cemento intercelular), y preparar la respuesta inmunitaria adaptativa en los lactantes, los niños, los adultos y las personas mayores, con buena salud o enfermos. Paralelamente, esta estimulación permitiría promover la cicatrización.

El documento FR 2 843 125 describe unos principios activos capaces de estimular la expresión de hBD-2 y hBD3. Puede tratarse de la raíz de artemisa, el Erigeron del Canadá, la corteza de sauco, la herniaria, el zumo de piña, la menta piperita, la Areca, el árbol de cacao, la quinoa, la árnica, el boldo, la zarzaparrilla, la hoja de nogal, la flor de hibisco, la calabaza, el girasol, la peonía, el hipérico, el castaño de India o uno de sus extractos; el ácido jasmónico o la vitamina A, sus derivados y sus precursores: la alfa-MSH o uno de los péptidos que constituye la alfa-MSH o una estructura química que imita uno de estos péptidos; los ésteres de la isoleucina; el calcio o todas las sales orgánicas o minerales de calcio.

La D-manoheptulosa, primera cetoheptosa identificada en 1916 por La Forge, de fórmula general (I)

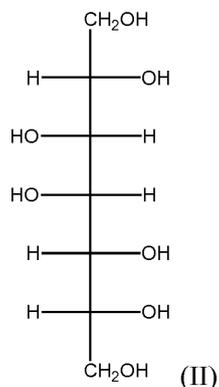


se encuentra en algunas plantas, en particular en la alfalfa (*Medicago sativa* L.), en el aguacate, en el higo (*Ficus officinalis* L.) y en la primula (*Primula officinalis* Jacq.). Sin embargo, es en el aguacate en el que se encuentran los contenidos más importantes de D-manoheptulosa. La D-manoheptulosa ya se ha utilizado en aplicaciones

terapéuticas. Por ejemplo, la solicitud de patente WO95/03809 describe la utilización de D-manoheptulosa como inhibidor de glucoquinasa, para inhibir el desarrollo de células tumorales, y la solicitud US2003/0092669 describe un complemento alimentario oral que comprende D-manoheptulosa, que permite disminuir el porcentaje de insulina y que permite así una pérdida de peso.

5

El perseitol, forma polioli de D-manoheptulosa, de fórmula general (II)



10 se encuentra también en el aguacate, en particular en el fruto o en el hueso del aguacate.

Según la publicación "Search for pharmacochemical leads from tropical rainforest plants", Hitotaka Shibuya *et al.* Pure Appl. Chem., vol. 71, n° 6, p. 1109-1113, 1999, el perseitol, asociado a un ion potasio, permite inhibir la incorporación de leucina-³H en células tumorales de ascitis sarcomatosa de Ehrlich.

15

De manera sorprendente, los inventores han descubierto que una composición que comprende D-manoheptulosa y/o perseitol permite el aumento de la producción de péptidos antimicrobianos, ventajosamente hBD-2, sin inducir reacciones inflamatorias, irritaciones o intolerancias en particular sin estimular de manera significativa la secreción de moléculas expresadas habitualmente en el caso de reacciones inflamatorias.

20

Así, la presente invención tiene por objeto la utilización de una composición que comprende D-manoheptulosa y/o perseitol y un excipiente apropiado farmacéuticamente aceptable, para la fabricación de un medicamento o de una composición veterinaria destinada al tratamiento y/o a la prevención de enfermedades relacionadas con una modificación de la inmunidad innata y/o adquirida por aumento de la producción de péptidos antimicrobianos, de la familia de las beta-defensinas, ventajosamente de la hBD-2. En el sentido de la presente invención, el término "modificación" puede significar aumento o disminución.

25

Se describe también la utilización de una composición que comprende D-manoheptulosa y/o perseitol y un excipiente apropiado farmacéuticamente aceptable, para la fabricación de un medicamento o de una composición veterinaria destinada al tratamiento y/o a la prevención de enfermedades relacionadas con una modificación de la inmunidad innata y/o adquirida por estimulación de los péptidos antimicrobianos like, tales como un inhibidor específico de la elastasa, particularmente la elafina (SKALP).

30

El medicamento o la composición veterinaria según la invención permiten ventajosamente estimular y/o complementar la inmunidad innata y/o la inmunidad adquirida.

35

De manera general, en el marco de la presente invención, dichas enfermedades pueden estar relacionadas con la presencia de microorganismos, en particular de bacterias Gram+ y/o Gram-, de hongos, de levaduras o de virus.

40

Más particularmente, dichas enfermedades pueden ser unas infecciones de los sistemas ocular y auditivo, de los epitelios no queratinizados (mucosa vaginal, intestinal, gingival, nasal, pulmonar, tracto respiratorio, anal y uretral, pulmonar) y queratinizados tales como la piel. Dichas enfermedades pueden ser también unas infecciones de los faneros, o anexos cutáneos (cabello, uñas, glándulas sudoríparas, glándulas sebáceas). Así, dichas enfermedades pueden ser unas patologías tales como la foliculitis, el furúnculo, el absceso, el impétigo o el panadizo.

45

Dichas enfermedades pueden ser unas patologías del cuero cabelludo tales como la caspa, y más ampliamente afecciones relacionadas con una hiperseborrea.

50

Dichas enfermedades pueden ser unas patologías relacionadas con una modificación del equilibrio Th1/Th2, tales como la dermatitis atópica.

Dichas enfermedades pueden ser unas patologías asociadas a una modificación de la síntesis de citoquinas, tales como IL-4 y/o IL-13, en particular en el marco de la dermatitis atópica.

5 Dichas enfermedades pueden ser también unas dermatosis inflamatorias, tales como la dermatitis atópica, el eczema atópico y/o de contacto, la psoriasis, el acné, y dermatitis irritativas.

Dichas enfermedades pueden ser también unas quemaduras, en particular quemaduras de primer o segundo grado.

10 Dichas enfermedades pueden ser también unas patologías relacionadas con una deficiencia de la barrera cutánea. Así, el medicamento según la invención se puede utilizar para el tratamiento de las pieles hiperreactivas (sensibles, irritadas, alérgicas), atópicas, secas o envejecidas. Dichas enfermedades pueden ser también unas patologías relacionadas con pieles fragilizadas por una agresión medioambiental, en particular debido al frío, a la contaminación, al estrés, al tabaco, a exposiciones solares.

15 En el marco de la presente invención, el medicamento también es apropiado para la protección de las pieles inmaduras, sanas o patológicas, de los lactantes y de los niños. En efecto, permite reforzar las defensas naturales de la epidermis del niño, cuya inmunidad es generalmente deficiente.

20 En el marco de la presente invención, el medicamento también es apropiado para la protección de las pieles sanas o patológicas de los adultos o de las personas mayores, en particular de los individuos inmuno-deprimidos.

El medicamento según la invención también es apropiado para favorecer la cicatrización en los procesos de cicatrización normales o patológicos, tales como las úlceras y las escaras.

25 En el marco de la presente invención, el medicamento está destinado también a tratar y/o prevenir las enfermedades periodontales, las patologías articulares inflamatorias tales como la artrosis, las infecciones de las mucosas, en particular de las mucosas vaginal, intestinal, respiratoria, nasal u auricular, o las infecciones del sistema ocular.

30 La composición según la invención comprende ventajosamente del 0,001 al 30% en peso seco de D-manoheptulosa, con respecto al peso total de dicha composición, también más ventajosamente el 0,01-20% en peso seco, aún más ventajosamente el 0,1-10% en peso seco, aún más ventajosamente el 0,5-5% en peso seco de D-manoheptulosa. La composición según la invención comprende ventajosamente del 0,001 al 30% en peso seco de perseitol con respecto al peso total de dicha composición, aún más ventajosamente el 0,01-20% en peso seco, aún más ventajosamente 0,1-10% en peso seco, aún más ventajosamente 0,5-5% en peso seco de perseitol.

40 La fuente de D-manoheptulosa y/o de perseitol puede ser un extracto hidrosoluble de azúcares de aguacate o de otra planta. De otra manera, la D-manoheptulosa y el perseitol están disponibles comercialmente (origen sintético). Según una variante ventajosa de la invención, la fuente de D-manoheptulosa y/o de perseitol es un extracto hidrosoluble de azúcares de aguacate.

45 El extracto hidrosoluble de azúcares de aguacate puede ser obtenido directamente a partir de cualquier parte del aguacate o del árbol de aguacate, tal como la fruta, la piel, el hueso, la hoja o las raíces del árbol de aguacate. Es posible asimismo obtener un extracto peptídico de aguacate a partir de los co-productos de la industria de transformación del aguacate, entre los cuales se puede citar, de manera no exhaustiva: la pulpa fresca de aguacate, la pulpa congelada, deshidratada, las tortas de aguacate procedentes de los procedimientos de extracción de aceite (extracción mecánica y/o por disolvente de la fruta previamente deshidratada), las materias sólidas desaceitadas procedentes de los procedimientos de extracción de aceite por vía húmeda (procedimiento denominado de centrifugación), las materias sólidas desaceitadas procedentes de los procedimientos de extracción de aceite de aguacate por vía enzimática, los purés de aguacate en bruto (guacamole), o los desechos sólidos procedentes de las unidades de producción de estos purés. El extracto se obtiene ventajosamente a partir del fruto fresco del árbol de aguacate. Los frutos se podrán seleccionar de entre las variedades *Hass*, *Fuerte*, *Ettinger*, *Bacon*, *Nabal*, *Anaheim*, *Lula*, *Reed*, *Zutano*, *Queen*, *Criola Selva*, *Mexicana Canta*, *Region Dschang*, *Hall*, *Booth*, *Peterson*, *Collinson Redn*, más ventajosamente entre las variedades *Hass*, *Fuerte* y *Reed*. Preferentemente, se escogerán las variedades *Hass*, *Fuerte*, *Ettinger* y *Bacon*, y más ventajosamente las variedades *Hass* y *Fuerte*.

60 La fruta del árbol del aguacate está constituida principalmente por agua, pulpa, aceite y el hueso. Las proporciones de estos constituyentes son, del mismo modo que cualquier materia natural y vegetal, extremadamente variables. Sin embargo, se admiten generalmente los datos de composición medios siguientes, expresados en porcentaje de fruta fresca, dados en la tabla 1 siguiente:

Tabla 1

Agua	70-85%
Proteínas	1,5-4,5%
Lípidos	12-23%
Azúcares	1,5-5%
Fibras	1,1-1,6%

5 De hecho, el aguacate no es particularmente rico en polisacáridos. Sin embargo, la naturaleza de los monosacáridos solubles es muy particular, tales que el perseitol o la D-manoheptulosa están constituidos por 7 átomos de carbono.

10 El extracto hidrosoluble de azúcares de aguacate es susceptible de ser obtenido mediante un procedimiento que comprende las etapas sucesivas siguientes:

- obtención de una torta de aguacate, ventajosamente del fruto del aguacate, por secado del aguacate y después extracción de los lípidos (aceite); a continuación
- criotrituración y deslipidación completa de dicha torta, y después decantación y centrifugación con el fin de recuperar una fracción soluble rica en azúcares de C7 (eliminación de la torta);
- desmineralización sobre resina iónica de dicha fracción soluble, obtenida en la etapa anterior; y después
- ultrafiltración a 10000 Daltons; y
- llegado el caso, concentración al vacío y acondicionamiento.

25 La primera etapa del procedimiento consiste en secar el fruto y después en desaceitarlo. Así, después del corte del fruto en finas láminas, su secado se puede realizar mediante el conjunto de las técnicas conocidas por el experto en la materia, entre las cuales se puede citar el secado con aire caliente, la liofilización o también el secado osmótico. De manera general, la temperatura durante esta etapa de secado se mantendrá ventajosamente, sea cual sea la técnica empleada, inferior o igual a 80°C. En el marco del presente procedimiento, por razones de facilidad de realización y por razones de coste, se prefiere el secado en secadores ventilados, en capa fina y bajo corriente de aire caliente, a una temperatura comprendida entre 70 y 75°C. La duración de la operación puede variar de 5 a 72 horas.

35 Los lípidos del fruto seco se extraen después por vía mecánica en una prensa de tornillo continuo, o también por vía química, con la ayuda de un disolvente tal como el hexano, en un extractor de tipo soxhlet o en un extractor continuo de banda, de tipo De Smet®, en particular según el procedimiento descrito en la solicitud FR 2 843 027, o por un procedimiento que utiliza el CO₂ supercrítico. Entre los intereses principales del procedimiento, el aceite co-producido constituye un producto evidentemente valorizable directamente. Por ello, se prefiere la extracción de los lípidos por vía mecánica. El fruto seco y desaceitado, o también denominado torta, puede sufrir después las etapas siguientes:

- criotrituración,
- deslipidación completa, en particular con acetona y/o etanol,
- decantación y después lavado de la torta con agua,
- centrifugación, recuperación de la fracción soluble (eliminación de la torta),
- desmineralización por intercambio de iones,
- ultrafiltración con un umbral de corte de 10 kD,
- concentración al vacío, adición de conservante y acondicionamiento.

50 De manera general, el extracto acuoso final puede contener en peso del 0,1 al 10% de materia seca, ventajosamente del 1 al 7% de materia seca, aún más ventajosamente del 3 al 5% de materia seca. El contenido en azúcares de C7, es decir de D-manoheptulosa y de perseitol, en la materia seca está ventajosamente comprendido entre el 65 y el 90%, en peso, con respecto al peso total de la materia seca. Los datos analíticos medios de una solución acuosa al 5% de extracto seco, obtenida mediante el procedimiento descrito anteriormente, se dan en la tabla 2 siguiente:

Tabla 2

pH (dilución ¼)		4,5 - 7,5
Absorbancia (dilución ½)	420 nm	Inferior al 0,2
	550 nm	Inferior al 0,05
Azúcares de C7/materia seca		65 - 90 %

55

ES 2 769 246 T3

La composición relativa de azúcares del extracto hidrosoluble, en peso con respecto al peso total de la materia seca del extracto, responde ventajosamente a los criterios siguientes (composición relativa determinada por HPLC; high performance liquid chromatography = cromatografía líquida de alto rendimiento):

- D-manoheptulosa	del 5 al 80%
- Perseitol	del 5 al 80%
- Sacarosa	inferior al 10%
- Glucosa	inferior al 10%
- Fructosa	inferior al 10%

5

El extracto hidrosoluble de azúcar de aguacate comprende ventajosamente, con respecto al peso total de la materia seca, del 10 al 80% en peso de D-manoheptulosa, más ventajosamente del 15 al 70% en peso de D-manoheptulosa. El extracto hidrosoluble de azúcar de aguacate comprende ventajosamente, con respecto al peso total de la materia seca, del 20 al 80% en peso de perseitol, más ventajosamente del 25 al 70% en peso de perseitol.

10

Preferentemente, la composición relativa de azúcares del extracto hidrosoluble, en peso con respecto al peso total de la materia seca del extracto, responde a los criterios siguientes (composición relativa determinada por HPLC):

15

- D-manoheptulosa	del 25 al 60%
- Perseitol	del 25 al 60%
- Sacarosa	inferior al 10%
- Glucosa	inferior al 10%
- Fructosa	inferior al 10%

De manera sorprendente, los inventores han constatado un efecto de sinergia entre la D-manoheptulosa y/o el perseitol y los azúcares minoritarios (fructosa, glucosa, sacarosa) presentes en el extracto de azúcares de aguacate.

20

El extracto obtenido podrá eventualmente ser liofilizado con el objetivo de obtener un polvo sólido (extracto seco), totalmente hidrosoluble.

Según una variante ventajosa de la invención, la composición comprende además un extracto peptídico de aguacate, ventajosamente en una proporción del 0,001 al 30% en peso seco, aún más ventajosamente del 0,01 al 20% en peso seco, aún más ventajosamente del 0,1 al 15% en peso seco, aún más ventajosamente del 0,5 al 10% en peso seco, aún más ventajosamente del 0,7 al 8% en peso seco, y aún más ventajosamente del 1 al 5% en peso seco, con respecto al peso total de la composición. Se observa entonces ventajosamente un efecto de sinergia.

30

El extracto peptídico de aguacate, añadido en la composición según la invención, comprende ventajosamente del 2 al 10% en peso de nitrógeno alfa-aminado, con respecto al peso de la materia seca del extracto peptídico. En el marco de la presente invención, se entiende por los términos "nitrógeno alfa-aminado" el contenido en nitrógeno de los péptidos en forma de grupos alfa-aminados libres. La medición del contenido en nitrógeno alfa-aminado de los péptidos permite evaluar el grado de hidrólisis de las proteínas, así como la masa molar media de los péptidos.

35

Más particularmente, el extracto peptídico de aguacate es susceptible de ser obtenido mediante un procedimiento que comprende las etapas siguientes:

40

- obtención de una torta de aguacate, ventajosamente del fruto del aguacate, mediante secado del aguacate y después extracción de los lípidos; a continuación

45

- criotrituración y deslipidación completa de dicha torta y después decantación, centrifugación y recuperación de la torta; y después

- primera hidrólisis en presencia de glucanasas, seguida de una centrifugación y de la eliminación de la fracción soluble;

50

- segunda hidrólisis en presencia de una o varias proteasas, seguida de una centrifugación y de la eliminación del residuo; y después

- concentración de la fase peptídica por nanofiltración;

55

- decoloración, en presencia de carbón activado por ejemplo, seguida de una filtración simple (10 μm) y

después, de una ultrafiltración (umbral de corte de 10 kD); y por último

- llegado el caso, realización de una microfiltración esterilizante final (0,2 μm), adición de un conservante y acondicionamiento.

5

La obtención de la torta de aguacate y la extracción de los lípidos se efectúan ventajosamente de manera idéntica para el extracto peptídico de aguacate y los azúcares de aguacate. El fruto seco y desaceitado, o también denominado torta, puede sufrir después las etapas siguientes:

- 10 - criotrituración
- deslipidación completa, en particular con etanol y/o acetona,
- decantación, y después lavado de la torta con agua,
- centrifugación, recuperación de la torta,
- 15 - primera hidrólisis en presencia de una o varias glucanasas,
- centrifugación, eliminación de la fracción soluble,
- segunda hidrólisis en presencia de una o varias proteasas,
- centrifugación, eliminación del residuo,
- concentración por nanofiltración,
- decoloración, en particular en presencia de carbón activado,
- 20 - realización de una filtración simple (10 μm) y después una ultrafiltración (umbral de corte de 10 kD),
- acondicionamiento y adición de un conservante,
- realización de una microfiltración esterilizante final (0,2 μm),
- adición de un conservante y acondicionamiento.

- 25 El extracto acuoso final puede contener en peso del 1 al 60% de materia seca, o también del 3 al 20% de materia seca, preferentemente del 5 al 6% de materia seca. El extracto obtenido podrá eventualmente ser liofilizado con el objetivo de obtener un polvo sólido (extracto seco), pero totalmente hidrosoluble con respecto a las proteínas originales del aguacate. Con respecto al peso de la materia seca, el contenido de nitrógeno alfa-aminado podrá estar comprendido entre el 2 y el 10% en peso, preferentemente entre el 5 y el 7% en peso. El pH de una solución acuosa al 1,2% en peso de extracto, con respecto al peso de la materia seca, estará generalmente comprendido entre 3 y 6, más ventajosamente entre 4 y 5.

- 30 Según una variante ventajosa de la invención, la composición comprende además un extracto peptídico de altramuz, ventajosamente en una cantidad másica, con respecto al peso total de la composición, del 0,001 al 30% en peso seco, aún más ventajosamente del 0,01 al 10% en peso seco. El extracto peptídico de altramuz, añadido en la composición según la invención, comprende por lo menos un 70%, ventajosamente por lo menos un 80%, en peso de péptidos, con respecto al peso de la materia seca del extracto peptídico. Se observa entonces ventajosamente un efecto de sinergia.

- 40 En particular, el extracto peptídico de altramuz es susceptible de ser obtenido mediante un procedimiento que comprende las etapas siguientes:

- preparación de una torta de altramuz triturado o de una harina de altramuz micronizada;
- 45 - y después deslipidación por extracción con un disolvente,
- extracción de las fracciones proteicas y osídicas solubles, o precipitación de las proteínas en el punto isoeléctrico;
- 50 - eventualmente, separación de la fracción proteica;
- hidrólisis enzimática de la fracción proteica, y recuperación, eventualmente después de la filtración, del extracto peptídico.

- 55 El procedimiento de preparación de un extracto peptídico se describe en la solicitud de patente FR 2 792 202, depositada por Laboratoires Expanscience.

- 60 La composición puede comprender además por lo menos un compuesto seleccionado de entre el grupo constituido por los emolientes, los activos hidratantes, los activadores de la síntesis de queratina, los queratorreguladores, los queratolíticos, los agentes reestructurantes de la barrera cutánea (activadores de la síntesis de los lípidos cutáneos, agonistas PPAR o Peroxysome Proliferator Activated Receptor), los activadores de la diferenciación de los queratinocitos (retinoides, Calcidone[®], calcio), los antibióticos, los agentes antibacterianos, los compuestos antifúngicos, los agentes antivirales, los seborreguladores, tales como los inhibidores de 5-alfa reductasa, en particular el principio activo 5-alfa Avocuta[®] comercializado por Laboratoires Expanscience, los inmunomoduladores, tales como el tacrolimus, el pimecrolimus, las oxazolininas, los

65

conservantes, los agentes antiirritantes, los agentes calmantes, los filtros y protectores solares, los agentes antioxidantes, los factores de crecimiento, los agentes cicatrizantes o las moléculas eutróficas, los medicamentos y los agentes antiinflamatorios, y los compuestos que contienen insaponificables de aceites vegetales.

5 Los activadores de la síntesis de queratina que se pueden utilizar en el marco de la presente invención en asociación con la D-manoheptulosa y/o el perseitol son, ventajosamente, los retinoides, los péptidos de altramuz (comercializados por la compañía Silab), unas proteínas claves del estrato córneo o granuloso (queratinas).

10 Los antibióticos que se pueden utilizar en el marco de la presente invención en asociación con la D-manoheptulosa y/o el perseitol son, ventajosamente, el ácido fucídico, la penicilina, las tetraciclinas, la pristinamicina, la eritromicina, la clindamicina, la mupirocina, la minociclina, la doxiciclina. Los agentes antivirales que se pueden utilizar en el marco de la presente invención en asociación con la D-manoheptulosa y/o el perseitol son, ventajosamente, el aciclovir y el valaciclovir. Los agentes antiirritantes que se pueden utilizar en el marco de la presente invención en asociación con la D-manoheptulosa y/o el perseitol son, ventajosamente, la glicina, los azúcares y/o péptidos de altramuz, la Cycloceramide® (derivado de oxazolina).

15 Los agentes calmantes que se pueden utilizar en el marco de la presente invención en asociación con la D-manoheptulosa y/o el perseitol son, ventajosamente, el alfa bisababol, los derivados de regaliz. Los queratorreguladores que se pueden utilizar en el marco de la presente invención en asociación con la D-manoheptulosa y/o el perseitol son, ventajosamente, los alfa hidroxí ácidos y sus derivados. Un queratolítico que se puede utilizar en el marco de la presente invención en asociación con la D-manoheptulosa y/o el perseitol es, en particular, el ácido salicílico y sus derivados. Los agentes antioxidantes que se pueden utilizar en el marco de la presente invención en asociación con la D-manoheptulosa y/o el perseitol son, ventajosamente, las vitaminas (C, E), los oligo-elementos (cobre, zinc, selenio). Los factores de crecimiento que se pueden utilizar en el marco de la presente invención en asociación con la D-manoheptulosa y/o el perseitol son, ventajosamente, la becaplemina y el TGF-beta (Transforming Growth Factor beta).

20 Los agentes cicatrizantes que se pueden utilizar en el marco de la presente invención en asociación con la D-manoheptulosa y/o el perseitol son, ventajosamente, la vitamina A, el pantenol, el Avocadofurane®, el óxido de zinc, el magnesio, el silicio, el ácido madecásico o asiático.

25 Los medicamentos que se pueden utilizar en el marco de la presente invención, en asociación con la D-manoheptulosa y/o el perseitol, son, ventajosamente, los medicamentos apropiados para una administración por vía tópica u oral, para la prevención y/o el tratamiento de la atopia (corticoides, emolientes), del acné (antibióticos, peróxido de benzoilo, retinoides, ácido azelaico, vitamina PP, zinc, ciclinas), del eczema (inmunomoduladores, emolientes, aceite de salmón, borraja, pre-bióticos), o de la psoriasis (corticoides, calcipotriol, tazaroteno, aceite de enebro, acitretina, terapia PUVA). Los agentes antiinflamatorios que se pueden utilizar en el marco de la presente invención en asociación con la D-manoheptulosa y/o el perseitol son, ventajosamente, unos agentes antiinflamatorios esteroideos (AIS), tales como los corticoides, o no esteroideos (AINS).

30 Los agentes reestructurantes de la barrera cutánea, que permiten estimular la síntesis de los lípidos claves de la epidermis, y que se pueden utilizar en el marco de la presente invención en asociación, ventajosamente con un efecto de sinergia, con la D-manoheptulosa y/o el perseitol son, ventajosamente, unos concentrados de girasol, aún más ventajosamente unos concentrados de girasol linoleicos, tales como el activo comercializado por Laboratoires Expanscience, Soline® (véase la solicitud internacional WO 01/21150), unos insaponificables de aceite vegetal, tal como el Avocadofurane® (véase la solicitud internacional WO 01/21150), unos agonistas PPAR (rosiglitazona, pioglitazona). Los agentes reestructurantes están presentes, ventajosamente, en una proporción que va del 0,001 al 30% en peso, con respecto al peso total de la composición o del medicamento. Los compuestos antifúngicos que se pueden utilizar en el marco de la presente invención en asociación con la D-manoheptulosa y/o el perseitol son, ventajosamente, el econazol y el ketoconazol.

35 Los conservantes antisépticos que se pueden utilizar en el marco de la presente invención en asociación con la D-manoheptulosa y/o el perseitol son, por ejemplo, el triclosán, la clorhexidina, los amonios cuaternarios. Los inmunomoduladores que se pueden utilizar en el marco de la presente invención en asociación, ventajosamente con un efecto de sinergia, con la D-manoheptulosa y/o el perseitol son, ventajosamente, el tacrolimus, el pimecrolimus y las oxazolinas.

40 Las oxazolinas que se pueden utilizar en el marco de la presente invención en asociación, ventajosamente con un efecto de sinergia, con la D-manoheptulosa y/o el perseitol son, ventajosamente, unas oxazolinas seleccionadas de entre el grupo constituido por la 2-undecil-4-hidroximetil-4-metil-1,3-oxazolina, la 2-undecil-4,4-dimetil-1,3-oxazolina, la (E)-4,4-dimetil-2-heptadec-8-enil-1,3-oxazolina, la 4-hidroximetil-4-metil-2-heptadecil-1,3-oxazolina, la (E)-4-hidroximetil-4-metil-2-heptadec-8-enil-1,3-oxazolina, la 2-undecil-4-etil-4-hidroximetil-1,3-oxazolina. De manera aún más ventajosa, dicha oxazolina es la 2-undecil-4,4-dimetil-1,3-oxazolina, denominada OX-100 o Cycloceramide®.

5 Los compuestos que contienen unos insaponificables de aceites vegetales que se pueden utilizar en el marco de la presente invención en asociación, ventajosamente con un efecto de sinergia, con la D-manoheptulosa y/o el perseitol se seleccionan, ventajosamente, de entre el grupo constituido por los lípidos furánicos de aguacate, los insaponificables de aguacate y de soja, los concentrados de aceite de altramuz, los concentrados de aceite de girasol y sus mezclas.

10 Los lípidos furánicos de aguacate que se pueden utilizar en el marco de la presente invención en asociación, ventajosamente con un efecto de sinergia, con la D-manoheptulosa y/o el perseitol son, ventajosamente, unos 2-
alquilfuranos naturales, en particular el principio activo Avocadofurane® comercializado por Laboratoires Expanscience, que se pueden obtener mediante el procedimiento descrito en la solicitud internacional WO 01/21605.

15 Los insaponificables de aguacate y de soja que se pueden utilizar en el marco de la presente invención en asociación, ventajosamente con un efecto de sinergia, con la D-manoheptulosa y/o el perseitol son, ventajosamente, una mezcla de insaponificables de aguacate furánico y de insaponificables de soja, en una relación respectiva de aproximadamente 1/3-2/3. Los insaponificables de aguacate y de soja son aún más ventajosamente el producto Piascledine®, comercializado por Laboratoires Expanscience.

20 Los concentrados de aceite de altramuz que se pueden utilizar en el marco de la presente invención en asociación, ventajosamente con un efecto de sinergia, con la D-manoheptulosa y/o el perseitol son, ventajosamente, unos concentrados obtenidos por destilación molecular de aceite de altramuz, ventajosamente de altramuz blanco suave, tales como los descritos en la solicitud internacional WO 98/47479. Contienen ventajosamente aproximadamente el 60% en peso de insaponificables.

25 Los concentrados de aceite de girasol que se pueden utilizar en el marco de la presente invención en asociación, ventajosamente con un efecto de sinergia, con la D-manoheptulosa y/o el perseitol son, ventajosamente, unos concentrados de girasol linoleicos, tales como el activo comercializado por Laboratoires Expanscience, Soline® (véase la solicitud internacional WO 01/21150).

30 La composición según la invención se puede formular en forma de diferentes preparaciones adecuadas para una administración tópica, para una administración oral, rectal, vaginal, nasal, auricular o bronquial, o para una administración parenteral. Preferentemente, las diferentes preparaciones son adecuadas para la administración
35 tópica e incluyen las cremas, las pomadas, las lociones, los aceites, los parches, los espráis o cualquier otro producto para aplicación externa. Los modos de administración, las posologías y las formas galénicas óptimas de los compuestos y composiciones según la invención se pueden determinar según los criterios tenidos en cuenta generalmente en el establecimiento de un tratamiento farmacéutico, en particular dermatológico, o veterinario adecuado para un paciente o para un animal, como por ejemplo la edad o el peso corporal del paciente o del animal, la gravedad de su estado general, la tolerancia al tratamiento, los efectos secundarios constatados, el tipo de piel. En función del tipo de administración deseada, la composición y/o los compuestos activos según la
40 invención pueden comprender, además, por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, en particular dermatológicamente aceptable. Preferentemente, se utiliza un excipiente adecuado para una administración por vía tópica externa. La composición según la presente invención puede comprender además por lo menos un adyuvante farmacéuticamente conocido por el experto en la materia, seleccionado de entre los espesantes, los conservantes, los perfumes, los colorantes, unos filtros químicos o minerales, los agentes hidratantes, las aguas
45 termales, etc.

50 El medicamento o la composición veterinaria según la invención puede comprender del 0,001 al 30% en peso de D-manoheptulosa y del 0,001 al 30% en peso de perseitol, con respecto al peso total de dicho medicamento, aún más ventajosamente del 0,01 al 10% en peso de D-manoheptulosa y del 0,01 al 10% en peso de perseitol, y un excipiente apropiado farmacéuticamente aceptable.

55 El medicamento o la composición veterinaria según la invención se pueden formular en forma de diferentes preparaciones adecuadas para una administración tópica, para una administración oral o rectal, vaginal, uretral, auricular, bronquial, nasal, o para una administración parenteral. Los modos de administración, las posologías y las formas galénicas óptimas del medicamento o de la composición veterinaria según la invención se pueden determinar según los criterios tenidos en cuenta generalmente en el establecimiento de un tratamiento farmacéutico, en particular dermatológico, adecuado para un paciente, o veterinario.

60 La presente invención se refiere asimismo a una composición cosmética que comprende del 0,001 al 30% en peso de D-manoheptulosa, con respecto al peso total de dicha composición, y del 0,001 al 30% en peso de perseitol, con respecto al peso total de dicha composición, aún más ventajosamente del 0,01 al 10% en peso de perseitol y del 0,01 al 10% en peso de D-manoheptulosa, para su utilización en el tratamiento de las pieles y/o de las mucosas sensibles, irritadas, secas, envejecidas, intolerantes, que presentan un trastorno de la barrera cutánea, fragilizadas por una agresión medioambiental, que presentan rojeces cutáneas o que presentan un
65 desequilibrio inmunológico no patológico, mediante aplicación de la composición sobre la piel y/o las mucosas.

Según una variante ventajosa de la invención, la fuente de D-manoheptulosa y/o de perseitol es un extracto hidrosoluble de azúcares de aguacate, que se puede obtener según un procedimiento tal como se ha descrito anteriormente. En efecto, existe una sinergia entre la D-manoheptulosa, el perseitol y los azúcares minoritarios del aguacate (fructosa, glucosa, sacarosa).

5 Según una variante ventajosa de la invención, la composición comprende además un extracto peptídico de aguacate, ventajosamente en una cantidad sinérgica. El extracto peptídico de aguacate está presente ventajosamente en una cantidad del 0,001 al 30%, más ventajosamente del 0,1 al 10%, en peso seco, con respecto al peso total de la composición. El extracto peptídico de aguacate, añadido en la composición según la
10 invención, comprende ventajosamente del 2 al 10% en peso de nitrógeno alfa-aminado, con respecto al peso de la materia seca del extracto peptídico. Se puede obtener según un procedimiento tal como se ha descrito anteriormente.

15 Según una variante ventajosa de la invención, la composición comprende además un extracto peptídico de altramuz, ventajosamente en una cantidad sinérgica. El extracto peptídico de altramuz está presente ventajosamente en una cantidad del 0,001 al 30%, más ventajosamente del 0,1 al 10%, en peso seco, con respecto al peso total de la composición. El extracto peptídico de altramuz, añadido en la composición según la invención, comprende por lo menos un 70%, ventajosamente por lo menos un 80% en peso de péptidos, con respecto al peso de la materia seca del extracto peptídico. Se puede obtener según un procedimiento tal como
20 se ha descrito anteriormente.

La composición puede comprender además por lo menos un compuesto seleccionado de entre el grupo constituido por los agentes reestructurantes de la barrera cutánea y los compuestos que contienen unos insaponificables de aceites vegetales, tales como se han definido anteriormente, ventajosamente en una
25 cantidad sinérgica. En particular, la composición cosmética puede comprender un principio activo seleccionado de entre el grupo constituido por Soline[®], Avocadofurane[®] y piascledine[®], comercializados por Laboratoires Expanscience. La composición cosmética según la invención comprende ventajosamente del 0,001 al 30% en peso, con respecto al peso total de la composición, de por lo menos un agente reestructurante de la barrera cutánea.

30 La composición cosmética según la invención se puede formular en forma de diferentes preparaciones adecuadas para una administración tópica, para una administración oral o rectal, vaginal, uretral, auricular, nasal, bronquial. Preferentemente, las diferentes preparaciones son adecuadas para la administración tópica e incluyen las cremas, las pomadas, las lociones, los aceites, los parches, los espráis, o cualquier otro producto para
35 aplicación externa. En función del tipo de administración deseada, la composición y/o los compuestos activos según la invención pueden comprender, además, por lo menos un excipiente cosméticamente aceptable. La composición cosmética según la presente invención puede comprender además por lo menos un adyuvante cosméticamente conocido por el experto en la materia, seleccionado de entre los espesantes, los conservantes, los perfumes, los colorantes, los filtros químicos o minerales, los agentes hidratantes, las aguas termales, etc.

40 Se describe también un método de tratamiento cosmético de las pieles y/o de las mucosas sensibles, irritadas, alérgicas, secas, envejecidas, intolerantes, que presentan un trastorno de la barrera cutánea, fragilizadas por una agresión medioambiental, que presenta unas rojeces cutáneas o que presentan un desequilibrio inmunológico no patológico, caracterizado por que consiste en aplicar sobre la piel y/o las mucosas una composición cosmética
45 según la invención.

Se describe una composición nutracéutica que comprende D-manoheptulosa y/o perseitol y un excipiente apropiado alimenticio aceptable. La composición nutracéutica comprende ventajosamente del 0,001 al 30% en peso de D-manoheptulosa, con respecto al peso total de dicha composición, aún más ventajosamente del 0,01 al 10% en peso de D-manoheptulosa. La composición nutracéutica comprende ventajosamente del 0,001 al 30% en peso de perseitol, con respecto al peso total de dicha composición, aún más ventajosamente del 0,01 al 10% en peso de perseitol. La composición nutracéutica comprende ventajosamente del 0,001 al 30% en peso de perseitol y del 0,001 al 30% en peso de D-manoheptulosa, con respecto al peso total de dicha composición, aún más ventajosamente del 0,01 al 10% en peso de perseitol y del 0,01 al 10% en peso de D-manoheptulosa.
50 Según una variante ventajosa, la fuente de D-manoheptulosa y/o de perseitol es un extracto hidrosoluble de azúcares de aguacate, que se puede obtener según un procedimiento tal como se ha descrito anteriormente.

La composición puede comprender además un extracto peptídico de aguacate, ventajosamente en una cantidad sinérgica, ventajosamente en una cantidad del 0,001 al 30% en peso seco, con respecto al peso total de la
60 composición. El extracto peptídico de aguacate, añadido en la composición comprende ventajosamente del 2 al 10% en peso de nitrógeno alfa-aminado, con respecto al peso de la materia seca del extracto peptídico. Se puede obtener según un procedimiento tal como se ha descrito anteriormente.

La composición puede comprender además un extracto peptídico de altramuz, ventajosamente en una cantidad sinérgica, ventajosamente en una cantidad del 0,001 al 30% en peso seco, con respecto al peso total de la
65 composición. El extracto peptídico de altramuz, añadido en la composición, comprende por lo menos un 70%,

ventajosamente por lo menos un 80%, en peso de péptidos, con respecto al peso de la materia seca del extracto peptídico. Se puede obtener según un procedimiento tal como se ha descrito anteriormente.

Los ejemplos siguientes permiten ilustrar la presente invención.

Ejemplo 1: preparación de un extracto hidrosoluble de azúcares de aguacate

Se cortan en finas láminas de 2 a 5 mm de grosor, hueso incluido, 50 kg de aguacates frescos, de la variedad Hass, con la ayuda de un laminador de disco. La herramienta de secado es una estufa termorregulada con corriente de aire caliente. Los aguacates laminados se reparten en un grosor de 4 a 5 cm sobre bandejas en niveles. La temperatura de secado se fija a 80°C, su duración es, por su parte, de 48 horas. Una vez secos, los frutos se someten a una presión en frío. Esta operación se realiza sobre una pequeña prensadora Komet® de laboratorio.

Los 4 kg de frutas deslpidadas (torta) se trituran entonces en frío y después se extraen a reflujo, en presencia de 25 litros de etanol. El polvo sin lípidos se recupera entonces por filtración sobre Büchner y se seca en estufa a 50°C, durante 5 horas.

La torta se lava entonces con agua desmineralizada (10 litros) y después se separa por centrifugación. La fracción soluble (líquido) se recoge para ser purificada y concentrada según el modo de de realización siguiente:

- *Desmineralización con la ayuda de resinas intercambiadoras de iones:* desmineralización de las heptulosas por paso sobre resinas OH⁻, y después sobre resina H⁺.
- *Ultrafiltración sobre 10000 Da:* la ultrafiltración se realiza con un sistema equipado con 4 membranas con umbral de corte de 10 kDa.
- *Concentración al vacío:* la concentración del extracto purificado se realiza con la ayuda de un evaporador al vacío hasta la obtención de una materia seca próxima al 4%.
- *Acondicionamiento:* la concentración del extracto se ajusta al 5% de materia seca y se añade un conservante, y después se filtra estérilmente con una membrana de 0,2 µm de umbral de corte y se acondiciona.

La tabla 3 siguiente da la composición del extracto de azúcares de aguacate de C7, con el 5% de materia seca, preparado según el procedimiento descrito anteriormente:

Tabla 3

Aspecto	Solución de color amarillo pálido
Criterios analíticos	
Materia seca	5%
pH (dilución ¼)	7,0
Absorbancia a 420 nm (dilución ¼)	0,013
Absorbancia a 550 nm (dilución ¼)	0,003
Composición (%/materia seca)	
Sacarosa	3,0
Glucosa	7,5
D-manoheptulosa	40,0
Fructosa	10,6
Perseitol	28,8

Según este mismo procedimiento, se han preparado otros extractos dos, cuyo valor del pH, la absorbancia y el contenido en azúcares de C7 se dan en la tabla 4 siguiente. El contenido de azúcares de C7 corresponde a la suma del perseitol y de la D-manoheptulosa analizada por HPLC.

Tabla 4

Lote	1	2	
Materia seca	5%	5%	
pH (dilución ¼)	5,9	5,4	
Absorbancia (dilución ¼)	420 nm	0,054	0,076
	550 nm	0,004	0,032
Azúcares en C7/materia seca	80,5	83,4	

Ejemplo 2: preparación de un extracto peptídico de aguacate

5 Se cortan en finas láminas de 2 a 5 mm de grosor, hueso incluido, 50 kg de aguacates frescos, de la variedad Hass, con la ayuda de un laminador de disco. La herramienta de secado es una estufa termorregulada con corriente de aire caliente. Los aguacates laminados se reparten sobre un grosor de 4 a 5 cm sobre bandejas en niveles. La temperatura de secado se fija a 80°C, su duración es, por su parte, de 48 horas. Una vez secos, los frutos se someten a una presión en frío. Esta operación se realiza sobre una pequeña prensadora Komet® de laboratorio. Los 4 kg de frutas deslipidadas (torta) se trituran entonces en frío y después se extraen a reflujo, en presencia de 25 litros de etanol. El polvo sin lípidos se recupera entonces por filtración sobre Büchner y se seca en estufa a 50°C, durante 5 horas.

15 La torta se lava entonces con agua desmineralizada (10 litros) y después se separa por centrifugación. La fracción sólida se recoge en una solución acuosa, acidificada por HCl (pH fijado a 5), y después se pone en presencia de un 2% de celulasas con respecto a la materia seca. La duración de la hidrólisis se fija en 6 horas.

20 La mezcla se centrifuga después a 2000 g en presencia de adyuvante (2,5% p/v). El residuo recuperado sufre entonces una segunda hidrólisis a pH 8,0, en presencia de un 0,5% de Alcalase® (enzima comercial de la clase de las proteasas), a una temperatura de 55°C, durante 2 horas. La hidrólisis se regula a pH constante por adición de sosa 2M. La proteasa se desnaturaliza por último por calentamiento durante 10 minutos, a 85°C.

La mezcla obtenida se centrifuga y el sobrenadante se filtra mediante el paso a través de una membrana de 7,5 µm. Se ultrafiltra después sobre unas membranas que presentan un umbral de corte de 10 kD.

25 El extracto peptídico bruto obtenido con el 20% de materia seca, se decolora en presencia de un 1% de carbón activado Norit®, después se filtra de nuevo a través de una membrana de 7,5 µm. El extracto decolorado se microfiltra entonces (0,2 µm), se ajusta en título a la altura del 5% de materia seca, y después se complementa con conservante (0,4% p/v de Phenonip®) y por último se acondiciona. Las características del extracto peptídico de aguacate hidrosoluble con el 5% de materia seca, obtenido mediante este procedimiento, se dan en la tabla 5 siguiente:

30

Tabla 5

Aspecto	Solución de color ligeramente anaranjado
Criterios analíticos	
Materia seca	5%
pH (dilución ¼)	4,5
Absorbancia a 420 nm (dilución ¼)	0,152
Absorbancia a 550 nm (dilución ¼)	0,035
Composición de la materia seca	
Nitrógeno alfa-aminado	6,7%
Proteínas	No detectadas
Conservante Phenonip	0,4%

35 Siguiendo este mismo procedimiento, se han preparado otros extractos, cuyos datos analíticos se dan en la tabla 6 siguiente.

Tabla 6

Lote		1	2	3	4
Nitrógeno α-aminado (método denominado "o-ftalaldehído" o "ninhidrina") (en porcentaje en masa en la materia seca)		4,0	6,7	8,6	6,3
Proteínas (en porcentaje en masa en la materia seca) (N*6,25) ¹		10,4	22,1	24,9	15,5
pH (dilución ¼)		4,7	4,5	5,7	5,3
Absorbancia (dilución ¼)	420 nm	0,315	0,150	0,982	0,499
	550 nm	0,062	0,033	0,264	0,075

40 ¹ N x 6,25 corresponde a la dosificación del nitrógeno total (N) de una muestra multiplicada por un coeficiente específico para la proteína analizada. Cuando no se conoce de manera precisa el coeficiente de las proteínas dosificadas, se utiliza por convención el coeficiente 6,25.

45 En el aminograma dado en la tabla 7 siguiente, los valores están expresados en porcentaje en peso con respecto al peso total de los aminoácidos dosificados.

Los valores para el ácido aspártico y el ácido glutámico incluyen asimismo los contenidos en asparagina y glutamina, respectivamente.

Tabla 7

Aminoácido	Resultados (media)
Alanina	7,1
Arginina	5,2
Ácido aspártico	11,5
Cistina	3,2
Ácido glutámico	14,5
Glicina	5,9
Histidina	2,4
Isoleucina	5,3
Leucina	8,5
Lisina	3,4
Metionina	1,4
Fenilalanina	5,2
Prolina	4,7
Serina	6,1
Treonina	5,1
Tirosina	4,0
Valina	6,5
TOTAL	100,0
Triptófano no dosificado	

- 5 En los ejemplos 3 a 7, salvo que se indique lo contrario, los porcentajes están expresados en peso con respecto al peso total de la materia seca.

Ejemplo 3: Inducción de la Beta Defensina-2 por los azúcares de aguacate

10 I. Inoculación de las células (D0):

Se inoculan unos queratinocitos humanos en placa de 96 pocillos (aproximadamente 20000 células/pocillo), en presencia de un medio específico enriquecido con calcio (concentración final 1,3 mM), tal como se ha descrito anteriormente en la publicación "Human β -Defensin-2 production in Keratinocytes is regulated by Interleukin-1, Bacteria, and the State of Differentiation", Alice Y. Liu *et al.*, The Society for Investigative Dermatology, vol. 118, N° 2, Feb. 2002, páginas 275 a 281.

II. Tratamiento de las células (D1):

20 Después de una incubación de 24h a 37°C, 5% CO₂:

- ⇒ 2 aclarados con 200 μ l/pocillo de PBS (tampón fosfato en solución salina)
- ⇒ estimulación de las células por 200 μ l/pocillo (en un medio suplementado en Ca⁺⁺):

- 25
- mediante el extracto hidrosoluble de azúcares de aguacate a unas concentraciones del 0,5, el 0,05 y el 0,005% p/p de materia seca
 - mediante IL-1 β a una concentración de 100 ng/ml (control positivo de inducción de hBD-2)

30 III. Fin del tratamiento (D2): ELISA

Después de 24h de incubación, la inducción de hBD-2 es evaluada por una técnica ELISA con un anticuerpo específico (*goat polyclonal to human BD2; Abcam; ab9871*). Los resultados obtenidos con el extracto hidrosoluble de azúcar de aguacate, lote A, que contiene un 40% de D-manoheptulosa y un 40% de perseitol, con respecto a la materia seca, se resumen en la tabla 9 siguiente:

Tabla 9

	Células controles	Control positivo (IL-1 β)	Lote A (0,005%)	Lote A (0,05%)	Lote A (0,5%)
hBD-2/MTT (DO)	0,144	0,273	0,185	0,223	0,177
hBD-2/MTT (DO)	0,121	0,322	0,154	0,271	0,249
hBD-2/MTT (DO)	0,1	0,223	0,156	0,237	0,225
hBD-2/MTT (DO)	0,136	0,324	0,21	0,297	0,271

	Células controles	Control positivo (IL-1 β)	Lote A (0,005%)	Lote A (0,05%)	Lote A (0,5%)
Media	0,125 +/-0,017	0,285* +/-0,041	0,176* +/-0,023	0,257* +/-0,029	0,231* +/-0,035
% de aumento frente al control	-	128	41	105	84

* Estadísticamente significativo con respecto a las células control ($p < 0,05$ Ensayo de Student) MTT: Metil Tiazolil Tetrazolio

Se observa que el extracto hidrosoluble de azúcares de aguacate, lote A, según la invención permite aumentar la cantidad de hBD-2 producida.

- 5 Los resultados obtenidos con el lote B, que contiene un 10% de D-manoheptulosa y un 70% de perseitol, con respecto a la materia seca, se resumen en la tabla 10 siguiente: DO = densidad óptica

Tabla 10

	Células control	Control positivo (IL-1 β)	lote B (0,005%)	lote B (0,05%)	lote B (0,5%)
hBD-2/MTT (DO)	0,144	0,273	0,162	0,331	0,569
hBD-2/MTT (DO)	0,121	0,322	0,163	0,344	0,536
hBD-2/MTT (DO)	0,100	0,223	0,196	0,343	0,536
hBD-2/MTT (DO)	0,136	0,324	0,192	0,353	0,556
Media	0,125 +/-0,017	0,285* +/-0,041	0,178* +/-0,016	0,343* +/-0,008	0,549* +/-0,014
% de aumento/control	-	128	42	174	338

* Estadísticamente significativo con respecto a las células control ($p < 0,05$ Ensayo de Student)

- 10 Se observa que, de una manera dependiente de la dosis, el extracto soluble de azúcares de aguacate, lote B, permite aumentar la producción de hBD-2.

Ejemplo 4: efecto de los azúcares de aguacate (lote A) sobre la expresión de hBD-2 en células epiteliales.

15 1. Células

Las células KB (ATCC CCL-17), línea de células epiteliales procedentes de un carcinoma oral humano, utilizadas habitualmente en los estudios sobre la cavidad bucal, se inocularon en placas de 96 pocillos y se cultivaron en RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute Medium) con Glutamax™ I a 10% SVF (suero de ternera fetal) + antibióticos.

2. Tratamiento

25 Después de 24 horas de incubación, se eliminó el medio de cultivo y se aclaró el tapiz celular dos veces con PBS.

Les células se trataron entonces en las condiciones definidas a continuación durante 24 y 48 horas:

- 30 → Células control: medio solo
 → TNF α (comercializado por Sigma) a 100 ng/ml
 → extracto hidrosoluble de azúcares de aguacate (40% manoheptulosa/40% perseitol) al 0,005-0,05 y el
 35 0,5% p/p (de materia seca) (lote A)

3. Fin del tratamiento

40 ↪ Análisis de los péptidos antimicrobianos por ELISA sobre células

Después de 48 horas de incubación en las diferentes condiciones de tratamiento, las β -defensinas 2 y 3 así como LL-37 presentes en las células KB se analizaron mediante una técnica de ELISA sobre células.

45 Con el fin de determinar el número de células totales en cada pocillo, se ha realizado un ensayo con MTT en paralelo sobre células tratadas en las mismas condiciones.

↪ Utilización de los resultados

Para cada condición de tratamiento, la DO_{450} PAM (Péptidos antimicrobianos) se dividió por la DO_{570} MTT para obtener la cantidad de PAM producida por célula viva.

5

Los medios y desviaciones estándares se calcularon para cada condición y la inducción de los diferentes PAM se calculó como el porcentaje de aumento con respecto a las células control.

4. Resultados

10

Inducción de hBD-2

El TNF- α utilizado en este caso como control positivo de la inducción de PAM provoca un aumento significativo de la producción de hBD-2 por las células KB del 239% a las 48h. Este ensayo valida el modelo.

15

El extracto hidrosoluble de azúcares de aguacate induce también un aumento estadísticamente significativo de la producción de hBD-2 en las células KB (véanse los resultados en la tabla 11).

Tabla 11

48 horas	DO hBD2/DO MTT						Inducción de HBD-2			
	pocillo 1	pocillo 2	pocillo 3	pocillo 4	pocillo 5	pocillo 6	Media	Desviación estándar	% de aumento	Significatividad (ensayo de Student)
Control negativo	0,000	0,000	0,000	0,019	0,047	0,000	0,011	0,017		
TNF α 100 ng/ml	0,048	0,036	0,027	0,047	0,046	0,018	0,037	0,011	239	p<0,05
Lote A 0,005%	0,052	0,004	0,031	0,058	0,038	0,012	0,032	0,020	198	
Lote A 0,05%	0,052	0,058	0,071	0,071	0,026	0,022	0,050	0,019	358	p<0,05
Lote A 0,5%	0,174	0,200	0,147	0,176	0,142	0,135	0,162	0,023	1387	p<0,01

Inducción de HBD-3

5 El TNF- α utilizado en este caso como control positivo de la inducción de PAM provoca un aumento significativo de la producción de hBD-3 por las células KB del 30% a las 48h. Este ensayo valida el modelo. El extracto hidrosoluble de azúcares de aguacate induce también un aumento estadísticamente significativo de la producción de hBD-3 en las células KB (véanse los resultados en la tabla 12).

Tabla 12

48 horas	DO hBD3/DO MTT						Inducción de HBD-3			
	pocillo 1	pocillo 2	pocillo 3	pocillo 4	pocillo 5	pocillo 6	Media	Desviación estándar	% de aumento	Significatividad (ensayo de Student)
Control negativo	0,342	0,423	0,275	0,271	0,293	0,283	0,315	0,054		
TNF α 100 ng/ml	0,431	0,448	0,399	0,407	0,374	0,399	0,410	0,024	30	p<0,01
Lote A 0,005%	0,448	0,432	0,338	0,423	0,321	0,329	0,382	0,053	21	p<0,05
Lote A 0,05%	0,514	0,481	0,441	0,410	0,436	0,427	0,451	0,035	43	p<0,01
Lote A 0,5%	0,451	0,492	0,436	0,429	0,417	0,489	0,452	0,029	44	p<0,01

Inducción de LL-37

5 El TNF- α utilizado en este caso como control positivo de la inducción de PAM provoca un aumento significativo de la producción de LL-37 por las células KB del 88% a las 48h. Este ensayo valida el modelo. El extracto hidrosoluble de azúcares de aguacate induce también un aumento estadísticamente significativo de la producción de LL-37 en las células KB. (Véanse los resultados en la tabla 13)

Tabla 13

48 horas	DO LL-37/DO MTT						Inducción de LL-37			
	pocillo 1	pocillo 2	pocillo 3	pocillo 4	pocillo 5	pocillo 6	Media	Desviación estándar	% de aumento	Significatividad (ensayo de Student)
Control negativo	0,033	0,047	0,031		0,046	0,054	0,042	0,009		
TNF α 100 ng/ml	0,080	0,072	0,077	0,091	0,082	0,076	0,080	0,006	88	p<0,01
Lote A 0,005%	0,087	0,078	0,088	0,129	0,090	0,077	0,091	0,018	116	p<0,01
Lote A 0,05%	0,098	0,094	0,097	0,103	0,091	0,063	0,091	0,013	115	p<0,01
Lote A 0,5%	0,148	0,116	0,119		0,173	0,119	0,135	0,022	219	p<0,01

En conclusión, se ha puesto en evidencia que los azúcares de aguacate (extracto hidrosoluble de azúcares de aguacate) son capaces de inducir la síntesis de los péptidos antimicrobianos y en particular de hBD-2, -3 y de LL-37 en unas células epiteliales de tipo KB.

5 Ejemplo 5: Efecto de los azúcares de aguacate sobre las moléculas proinflamatorias

Modo de realización:

10 Se inoculan unos queratinocitos humanos normales en placa de 24 pocillos (aproximadamente 50000 células/pocillo), en presencia de un medio específico enriquecido con calcio (concentración final 1,3 mM), tal como se ha descrito anteriormente en la publicación "Human β -Defensin-2 production in Keratinocytes is regulated by Interleukin-1, Bacteria, and the State of Differentiation", Alice Y. Liu *et al.*, The Society for Investigative Dermatology, vol. 118, N° 2, Feb. 2002, páginas 275 a 281.

15 Las células se trataron durante 24h en presencia de un 0,05% p/p de azúcares de aguacate (lote A, 40% manoheptulosa/40% perseitol). Las citoquinas proinflamatorias IL-1 β , IL-8 y TNF- α se analizaron mediante una técnica ELISA (kits R&D System) en los sobrenadantes de cultivo. La viabilidad celular se mide mediante un ensayo con rojo neutro. Los resultados están expresados en función de la DO rojo neutro con el fin de convertir la cantidad de citoquinas producidas en la cantidad de células vivas (tablas 14, 15, 16).

20 Resultados:

Tabla 14

	IL1 β (pg/ml)/DO rojo neutro				
	pocillo 1	pocillo 2	pocillo 3	Media	Desviación estándar
Células control	0,093	0,048	0,149	0,097	0,042
Células + lote A con el 0,05% MS	0,058	0,009	0,012	0,026	0,022

25

Tabla 15

	IL8 (pg/ml)/DO rojo neutro				
	pocillo 1	pocillo 2	pocillo 3	Media	Desviación estándar
Células control	506,624	402,282	907,228	605,378	217,649
Células + lote A con el 0,05% MS	434,221	411,400	495,191	446,937	35,369

30

Tabla 16

	TNF α (pg/ml)/DO rojo neutro				
	pocillo 1	pocillo 2	pocillo 3	Media	Desviación estándar
Células control	0,006	0,005	0,584	0,198	0,272
Células + lote A con el 0,05% MS	1,515	0,511	0,916	0,980	0,413

35 Conclusión: Los azúcares de aguacate (extracto hidrosoluble de azúcares de aguacate) no inducen la producción de las moléculas proinflamatorias coexpresadas habitualmente con las beta-defensinas (IL-1, IL-8, TNF- α). Así, los azúcares de aguacate son unos inductores de PAM sin ser proinflamatorios.

Ejemplo 6: Modulación de la síntesis de HBD-2 por los diferentes azúcares presentes en el extracto de azúcares de aguacate

40 Se ha realizado el mismo ensayo que en el ejemplo 3 a partir de:

40

- una mezcla de fructosa (5%), glucosa (5%) y sacarosa (3%);
- D-manoheptulosa (40%);
- Perseitol (40%);
- una mezcla de fructosa (5%), glucosa (5%), sacarosa (3%) y D-manoheptulosa (40%);
- 45 • una mezcla de fructosa (5%), glucosa (5%), sacarosa (3%) y perseitol (40%);
- una mezcla de fructosa (5%), glucosa (5%), sacarosa (3%), D-manoheptulosa (40%) y perseitol (40%); y
- un extracto de azúcares de aguacate (lote A).

50

El extracto de los azúcares de aguacate comprende un 40% en peso de D-manoheptulosa y un 40% en peso de perseitol, con respecto al peso total de la materia seca.

Los resultados se dan en la tabla 17 siguiente:

Tabla 17

Azúcar(es) analizado(s):	Modulación de la síntesis de HBD-2 (% aumento con respecto a las células controles)
Proporciones que corresponden al 1% de una solución al 5% de MS del lote A, es decir el 0,05% MS	
Mezcla fructosa, glucosa y sacarosa	0
D-manoheptulosa	31
Perseitol	12
mezcla fructosa, glucosa, sacarosa y D-manoheptulosa	51
mezcla fructosa, glucosa, sacarosa y perseitol	37
mezcla fructosa, glucosa, sacarosa, perseitol y D-manoheptulosa	51
azúcares de aguacate	49

5 Los azúcares minoritarios del aguacate (fructosa, glucosa y sacarosa) no tienen actividad sobre la síntesis de HBD-2. A igualdad de cantidad (el 40% en peso, con respecto al peso de la materia seca), la D-manoheptulosa es más activa que el perseitol. Cuando la D-manoheptulosa y/o el perseitol están mezclados con los azúcares minoritarios del aguacate (fructosa, glucosa y sacarosa), se observa un efecto de sinergia.

10 La mezcla fructosa, glucosa, sacarosa, perseitol y D-manoheptulosa (denominada mezcla reconstituida) y el extracto hidrosoluble de azúcares de aguacate obtenido en el ejemplo 1 tienen una actividad equivalente.

Ejemplo 7: Actividad de la D-manoheptulosa y del perseitol de origen comercial.

15 Se ha realizado el mismo ensayo que en el ejemplo 3 a partir de D-manoheptulosa y de perseitol disponibles en el mercado. Los resultados se dan en la tabla 18 siguiente:

Tabla 18

	Células control	IL-1 beta Control positivo	D-manoheptulosa (0,0012%)	D-manoheptulosa (0,012%)	Perseitol (0,0012%)	Perseitol (0,012%)
Media	0,040	0,104	0,089	0,089	0,063	0,090

20 La D-manoheptulosa y el perseitol, analizados separadamente, son capaces de inducir la producción de hBD-2.

Ejemplo 8: Efecto de los azúcares de aguacate sobre la expresión de hBD-2 modulada por IL-4, en el marco de modelización *in vitro* de la dermatitis atópica

25 Se inoculan unos queratinocitos humanos normales como se describe en el ejemplo 3.

Después de una incubación de 24h a 37°C, al 5% de CO₂, se elimina el medio de cultivo y se aclara el tapiz celular dos veces con PBS. Las células se tratan entonces durante 24 horas en las condiciones definidas a continuación:

- 30
- Células control: medio solo
 - IL-1β a 100 ng/ml (control positivo de inducción de hBD-2)
 - 35 • IL-4 a 50 ng/ml
 - Extracto hidrosoluble de azúcares de aguacate (lote A) con el 0,05% p/p de materia seca
 - 40 • IL-1β a 100 ng/ml y IL-4 a 50 ng/ml
 - IL-4 a 50 ng/ml y extracto hidrosoluble de azúcares de aguacate (lote A) con el 0,05% p/p de materia seca
 - IL-1β a 100 ng/ml y IL-4 a 50 ng/ml y extracto hidrosoluble de azúcares de aguacate (lote A) con el 0,05% p/p de materia seca

45 Al final del tratamiento, la inducción de hBD-2 se analiza mediante una técnica de ELISA sobre células, paralelamente, el número de células totales presentes en cada pocillo se determina por un ensayo con MTT realizado en paralelo sobre células tratadas en las mismas condiciones. Así, para cada condición, la DO₄₅₀ hBD-2 se divide por la DO₅₇₀ MTT para obtener la cantidad de hBD-2 producida por célula viva.

50 Los resultados se presentan en la tabla 19 siguiente:

Tabla 19

	Células control	Il-1 β (control positivo)	Il-4	Lot A	Il-1 β + Il-4	Il-4 + Lot A	Il-1 β + Il-4 + Lot A
hBD-2/MTT (DO)	0,176	0,308	0,158	0,240	0,261	0,210	0,606
hBD-2/MTT (DO)	0,175	0,347	0,163	0,309	0,177	0,214	0,519
hBD-2/MTT (DO)	0,173	0,291	0,160	0,225	0,209	0,263	0,504
Media	0,175 +/- 0,001	0,315** +/- 0,024	0,160 +/- 0,002	0,258* +/- 0,037	0,216*** +/- 0,035	0,229 +/- 0,024	0,543**** +/- 0,045
* p<0,01; ** p<0,05 con respecto a las células control (ensayo T de Student)							
*** p<0,05 con respecto al control positivo (ensayo T de Student)							
**** p<0,01 con respecto a Il-1 β + Il-4 (ensayo T de Student)							

5 El control positivo Il-1 β induce un aumento significativo de la síntesis de hBD-2 con respecto a las células control (+80%).

De la misma manera, el extracto hidrosoluble de azúcares de aguacate, lote A, provoca un aumento de la síntesis de hBD2 (+48%).

10 La Il-4 sola no tiene influencia sobre la cantidad de hBD-2 expresada por los queratinocitos.

En presencia de Il-4, la síntesis de hBD-2 inducida por Il-1 β se inhibe significativamente en un 32%.

15 En estas condiciones, la adición del lote A a Il-1 β + Il-4 permite volver a aumentar la síntesis de hBD-2: aumento significativo del 152% con respecto a Il-1 β + Il-4.

Conclusión:

20 La dermatitis atópica se caracteriza por una deficiencia de péptidos antimicrobianos (hBD-2, hBD-3, LL-37). Esta carencia se explica en particular por una desregulación del equilibrio TH1/TH2 y una sobreproducción de citoquinas TH2 (Il-4 y Il-13). En este modelo, se ha mostrado que el extracto hidrosoluble de azúcares de aguacate es capaz de oponerse a la inhibición de hBD2 inducida por Il-4. Los azúcares de aguacate tienen, por lo tanto, un interés en el tratamiento de la dermatitis atópica.

Ejemplo 9: formulaciones cosméticas según la invención

Crema antiacné n°1

Isononanoato de isononilo	7,000
Di-alquil C ₁₂₋₁₃ Malato	7,000
Estearato de isocetilo	5,000
Butilenglicol	3,000
Oriza Sativa	2,500
Extracto hidrosoluble de azúcares de aguacate	3,000
Dicaprilil éter	2,000
Salicilato de Silanediol	2,000
Alcohol aráquico	1,650
Trometamina	1,180
Alcohol cetílico	1,000
Ácido salicílico	1,000
Glucósido ascorbilo	1,000
Glicina	1,000
Acetato de tocoferilo	1,000
Alcohol behenílico	0,900
Escualano	0,790
Citrato de sodio	0,660
Copolímero PPG-12/SMDI	0,500
Glucósido araquidilo	0,450
Perfume	0,400
Goma de esclerocio	0,160
Alcohol cetearílico	0,130
Ácido cítrico	0,110
Sepigel 305*	0,100

ES 2 769 246 T3

Sistema conservante	CS
Agua	CSP 100
<hr/>	
<i>*producto comercializado por la compañía Seppic</i>	

Emulsión espumante limpiadora para pieles acneicas n° 1

Agua	CSP 100
Arlatone duo*	20,00000
Glucósido de Coco	12,00000
Hidroxipropil guar	2,00000
Extracto soluble de azúcares de aguacate	1,00000
Palmito de PEG-200 Glicerilo hidrogenado	1,10000
Cocoato de PEG-7 Glicerilo	1,10000
Salicilato de Silanediol	1,00000
Cocamida DEA	1,00000
Capriliol Glicina	0,50000
Sorbato de Potasio	0,50000
Policuaturnio 10	0,40000
Perfume	0,40000
Ácido Cítrico	0,30000
Zinc PCA	0,20000

**producto comercializado por la compañía Quimasso*

Emulsión espumante limpiadora para pieles acneicas n°2

Agua	CSP 100
Arlatone duo*	20,00000
Coco-Glucósido	12,00000
Hidroxipropil guar	2,00000
Extracto soluble de azúcares de aguacate	2,00000
Palmitato de PEG-200 glicerilo hidrogenado	1,10000
Cocoato de PEG-7 Glicerilo	1,10000
Salicilato de Silanediol	1,00000
Cocamida DEA	1,00000
Glicina de Capriliol	0,50000
Sorbato de Potasio	0,50000
Policuaturnio 10	0,40000
Perfume	0,40000
Ácido Cítrico	0,30000
Zinc PCA	0,20000

**producto comercializado por la compañía Quimasso*

Pasta dentífrica

Agua	CSP 100
Extracto soluble de azúcares de aguacate	2,00
Monofluorofosfato de sodio	0,75
Fluoruro de sodio	0,10
Sorbitol al 70%	35
Sílice sintética con alto poder abrasivo	13
Sílice sintética con bajo poder abrasivo	5
Carboximetilcelulosa sódica	1,6
Laurilsulfato de sodio	1
Aroma mentolado	0,85
Óxido de titanio	0,5
Detergente de sosa	0,5
Ciclamato de sodio	0,3
Mentol	0,15
Sacarina sódica	0,07

Enjuague bucal

ACTIMP 193 ® (péptidos de altramuz)	2,00
Cremophor RH40 ®	0,30
Glicerina	15

ES 2 769 246 T3

Sacarina sódica	0,03
Extracto soluble de azúcares de aguacate	1,00
Aroma EUCA MINT	0,08
POBM	0,20
Sorbato de potasio	0,50
Agua	CSP100

REIVINDICACIONES

1. Azúcar, seleccionado de entre la D-manoheptulosa, el perseitol y sus mezclas para su utilización en el tratamiento o la prevención de enfermedades relacionadas con una modificación de la inmunidad innata y/o adquirida por aumento de la producción de péptidos antimicrobianos de la familia de las beta-defensinas, ventajosamente de la hBD-2, siendo dichas enfermedades seleccionadas de entre el grupo constituido por:
- las enfermedades relacionadas con la presencia de microorganismos tales como las bacterias Gram+ y/o Gram-, los hongos, las levaduras o los virus;
 - las infecciones de la piel o de los faneros, en particular seleccionadas de entre el grupo constituido por la foliculitis, la caspa, la hiperseborrea, el furúnculo, el absceso, el impétigo o el panarizo;
 - las dermatosis inflamatorias, tales como la dermatitis atópica, el eczema de contacto y/o atópico, la psoriasis, el acné, las dermatitis irritativas;
 - las quemaduras;
 - las patologías relacionadas con una deficiencia de la barrera cutánea, tales como las pieles hiperreactivas, atópicas, o patologías relacionadas con pieles fragilizadas por una agresión medioambiental;
 - las enfermedades periodontales;
 - las patologías articulares inflamatorias tales como la artrosis;
 - las infecciones de las mucosas, en particular de las mucosas vaginal, intestinal, respiratoria, nasal o auricular;
 - las infecciones del sistema ocular;
- o para favorecer la cicatrización, en los procesos de cicatrización normales o patológicos, tales como las úlceras y las escaras;
- o para la protección de las pieles:
- patológicas inmaduras de los lactantes o de los niños; o
 - patológicas de los individuos adultos o mayores;
- dicho azúcar está formulado con un excipiente apropiado farmacéuticamente aceptable en una composición que es un medicamento o una composición veterinaria.
2. Azúcar para su utilización según la reivindicación 1, caracterizado por que la composición comprende del 0,001 al 30% en peso de D-manoheptulosa, con respecto al peso total de dicha composición, y/o del 0,001 al 30% en peso de perseitol, con respecto al peso total de dicha composición.
3. Azúcar para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que la fuente de D-manoheptulosa y/o de perseitol es un extracto hidrosoluble de azúcares de aguacate, ventajosamente susceptible de ser obtenido mediante un procedimiento que comprende las etapas sucesivas siguientes:
- obtención de una torta de aguacate, ventajosamente del fruto del aguacate, por secado del aguacate y después extracción de los lípidos; a continuación
 - criotrituración y deslipidación completa de dicha torta, y después decantación y centrifugación con el fin de recuperar una fracción soluble rica en azúcares de C7 (eliminación de la torta);
 - desmineralización sobre resina iónica de dicha fracción soluble, obtenida en la etapa anterior; y después
 - ultrafiltración a 10000 Daltons; y
 - concentración al vacío y acondicionamiento.
4. Azúcar para su utilización según la reivindicación 3, caracterizado por que el extracto hidrosoluble de azúcares de aguacate comprende en peso, con respecto al peso total de la materia seca del extracto (composición relativa determinada por HPLC):

ES 2 769 246 T3

- D-manoheptulosa	del 5 al 80%
- Perseitol	del 5 al 80%
- Sacarosa	inferior al 10%
- Glucosa	inferior al 10%
- Fructosa	inferior al 10%

5. Azúcar para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que la composición comprende además un extracto peptídico de aguacate.

5 6. Composición cosmética que comprende del 0,001 al 30% en peso de D-manoheptulosa, con respecto al peso total de dicha composición, y del 0,001 al 30% en peso de perseitol, con respecto al peso total de dicha composición para su utilización en el tratamiento de las pieles y/o de las mucosas sensibles, irritadas, secas, envejecidas, intolerantes, que presentan un trastorno de la barrera cutánea, fragilizadas por una agresión medioambiental, que presentan unas rojeces cutáneas o que presentan un desequilibrio inmunológico no
10 patológico, mediante la aplicación de la composición sobre la piel y/o las mucosas.

7. Composición para su utilización según la reivindicación 6, caracterizada por que la fuente de D-manoheptulosa y/o de perseitol es un extracto hidrosoluble de azúcares de aguacate, ventajosamente susceptible de ser obtenido mediante un procedimiento que comprende las etapas sucesivas siguientes:

- 15 - obtención de una torta de aguacate, ventajosamente del fruto del aguacate, por secado del aguacate y después extracción de los lípidos; a continuación
- 20 - criotrituración y deslipidación completa de dicha torta, y después decantación y centrifugación con el fin de recuperar una fracción soluble rica en azúcares de C7 (eliminación de la torta);
- desmineralización sobre resina iónica de dicha fracción soluble, obtenida en la etapa anterior; y después
- 25 - ultrafiltración a 10000 Daltons; y
- concentración al vacío y acondicionamiento.

8. Composición para su utilización según la reivindicación 6 o 7, que comprende además un extracto peptídico de aguacate.

30