



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



① Número de publicación: **2 161 161**

② Número de solicitud: 009901958

⑤ Int. Cl.⁷: A61K 7/48

⑫

SOLICITUD DE PATENTE

A1

⑫ Fecha de presentación: **30.08.1999**

⑦ Solicitante/s:
**Consejo Superior de Investigaciones Científicas
Serrano, 117
28006 Madrid, ES
Transtech, S.L.
Universidad de Barcelona**

⑬ Fecha de publicación de la solicitud: **16.11.2001**

⑧ Inventor/es: **Torres, Josep Lluís;
González, Pedro;
Cascante, Marta y
Comín, Begoña**

⑭ Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
16.11.2001

⑨ Agente: **No consta**

⑮ Título: **Extracto de uva para protección solar.**

⑯ Resumen:

Extracto de uva para protección solar.
Se obtiene a partir de restos de prensado de uva y contiene en su composición al menos: 1 al 5% de ácido gálico, 1 al 30% de especies del tipo catequina y sus oligómeros o procianidinas, 1 al 20% de especies de tipo flavonol y sus derivados glicosilados. En el procedimiento se somete a uva verde a prensado, de su residuo se extrae con etanol acuoso una fracción, donde el etanol es eliminado por evaporación y el residuo resultante es sometido a liofilización; el liofilizado se suspende en agua y la fracción polifenólica se extrae en acetato de etilo; éste se elimina por evaporación y el residuo se suspende en agua; la suspensión se somete a centrifugación, la solución decantada se liofiliza obteniendo un extracto sólido.

ES 2 161 161 A1

DESCRIPCION

Extracto de uva para protección solar.
Sector de la técnica

Extracción de la fracción polifenólica de residuo de prensado de uva para la obtención de un preparado de aplicación como protector de la piel contra las radiaciones ultravioleta del sol.

Estado de la técnica

Las radiaciones ultravioleta (UV) tanto procedentes del sol como de aparatos de bronceado son potencialmente nocivas para la piel a varios niveles. Las radiaciones B (280-320 nm) son las responsables de la irritación de la piel y las quemaduras así como de varias alteraciones del DNA. Últimamente se ha descrito que las radiaciones A (320-400 nm) ejercen una acción mutagénica responsable de la aparición del melanoma humano. Setlow y colaboradores han calculado que el 90-95% de la inducción de melanoma humano por luz solar natural puede ser causado por radiaciones de longitud de onda superior a 320 nm [Setlow, R. B., Grist, E., Thompson, K., and Woodhead, A. D., Proc Natl Acad Sci U S A 90 (14), 6666-70 (1993)] [para una revisión sobre cáncer de piel y filtros solares ver Ley, R. D., and Reeve, V. E., Environ Health Perspect 105 Suppl 4, 981-4 (1997)].

Aparte de la acción protectora debida a la absorción de radiaciones ultravioletas, hay productos que previenen la aparición de tumores por su acción antioxidante. Las llamadas especies reactivas oxidantes (reactive oxidant species, ROS), tales como el radical OH o el óxido de nitrógeno NO están entre estas especies oxidantes, posibles causantes de daño celular y de mutaciones en el material genético. A su vez, alguna de estas especies pueden ser producidas por las radiaciones UV u otras. Entre los agentes antioxidantes que se emplean en protección solar están el ácido ascórbico, beta-caroteno, alfa-tocopherol y selenio [Ley, R. D., and Reeve, V. E., Environ Health Perspect 105 Suppl 4, 981-4 (1997)]. También se ha descrito que extractos de te verde inhiben el cáncer de piel inducido por radiaciones UV en ratones [Ley, R. D., and Reeve, V. E., Environ Health Perspect 105 Suppl 4, 981-4 (1997)]. Los componentes activos de estos extractos son derivados de catequinas y epicatequinas, los cuales pertenecen a un grupo de metabolitos secundarios en plantas conocidos genéricamente como flavonoides. Aparte de la acción preventiva de compuestos como los flavonoides existe también una posible acción inhibitoria del crecimiento tumoral una vez éste ha aparecido. Se ha descrito que ciertos componentes del te entre los que se incluyen las citadas catequinas (te verde) y las teaflavinas (te negro) son inhibidores de enzimas que intervienen en la fosforilación de proteínas (quinasas) y que podrían ejercer una acción antiproliferativa a través de la inhibición de la autofosforilación del factor epidérmico de crecimiento (epidermal growth factor, EGF) [Liang, Y. C., Lin-shiau, S. Y., Chen, C. F., and Lin, J. K., J Cell Biochem 67(1) 55-65 (1997), Liang, Y. C., Chen, Y. C., Lin, Y. L., Lin-Shiau, S. Y., Ho, C. T., and Lin, J. K., Carcinogenesis 20(4), 733-6 (1999)]. Las especies del tipo flavonoide que se

han descrito podrían ser utilizadas como protectores solares por sus propiedades de absorción de la radiación, antioxidante (prevención quemadura y tumorogénesis) y antiproliferativa. La mayoría de los flavonoides están ampliamente distribuidos en las plantas mientras existe una gran variación por lo que respecta al contenido de cada uno de ellos en especies diferentes e incluso en partes de la planta.

Existen en el mercado muchos productos protectores o filtros solares que reivindican protección contra radiaciones UVA y UVB. El efecto protector de los filtros solares está bien establecido por lo que respecta a radiaciones B. Se utiliza el factor de protección solar (sun protection factor, SPF), que tiene en cuenta solamente la protección contra la quemadura. Por lo que respecta a las radiaciones A, a pesar de que muchos productos reivindican protección contra ellas, no existe un sistema estandarizado de evaluación y, por lo tanto es difícil discernir el nivel de prevención contra el melanoma que proporcionan. Entre los filtros tipo B hay proteínas y derivados del ácido hidroxicinámico. Entre los filtros tipo A hay especies como el oxibenzona-2-hidroxi-4-metoxi-benzofenona. Otros contienen óxido de zinc que ejerce una acción de pantalla total a las radiaciones UV. Un problema de la mayoría de los filtros solares del mercado, de origen sintético, es que provocan reacciones alérgicas en algunos individuos sensibles. Otro problema es que las investigaciones recientes sobre el tema ponen de manifiesto que la mayoría de estos filtros podrían no ser adecuados para la protección contra el melanoma, provocado por radiaciones UVA.

La presente patente presenta un producto natural que reúne las características de eficacia de los filtros solares existentes y otras adicionales que lo hacen interesante para la prevención tanto de quemaduras como de la aparición de tumores, además de ejercer una acción inhibitoria del crecimiento tumoral sin acción tóxica sobre células sanas. El preparado contiene una mezcla de polifenoles y flavonoides que absorben luz ultravioleta en un rango entre 200 nm y 400 nm por lo que es efectivo para el filtro de radiaciones UVA y UVB. El preparado presenta una actividad oxidante comparable a la del ácido ascórbico. El preparado presenta actividad antiproliferativa. Los productos activos del preparado no provocan reacciones alérgicas.

Descripción de la invención

El objeto de la presente invención es un procedimiento de obtención de un preparado con propiedades antioxidantes, anticancerígenas y antiproliferativas y su aplicación como agente protector de la piel contra las agresiones provocadas por las radiaciones solares (UVA y UVB) y otras radiaciones como las ionizantes. Las radiaciones de diferente tipo pueden dañar los tejidos y el material genético tanto por acción directa como por la formación de especies radicalarias oxidantes. El preparado protege la piel contra la acción de las radiaciones a varios niveles, mediante acciones sinérgicas y complementarias. Primero ejerce una acción físico-química de filtro, al absorber las radiaciones en un amplio espectro de longitudes de onda (desde 200 nm hasta 400 nm).

Segundo, ejerce una acción químico-bioquímica mediante su capacidad de secuestrar especies oxidantes radicalarias causadas por las radiaciones. Los dos niveles de actividad confieren al preparado propiedades antiinflamatorias, antienviejamiento y de prevención del cáncer. El preparado también posee propiedades antiproliferativas. En resumen, el preparado ejerce una doble función de prevención e inhibición de posibles tumores de la piel mediante una acción a varios niveles sobre los posibles mecanismos carcinogénicos. A su vez, evita las quemaduras, inflamación e irritación debidas a la exposición al sol.

Extracto caracterizado porque se obtiene a partir de restos de prensado de uva y contiene en su composición al menos: 1 al 5% de ácido gálico, 1 al 30% de especies del tipo catequina y sus oligómeros o procianidinas, 1 al 20% de especies de tipo flavonol y sus derivados glicosilados.

Los componentes activos son una mezcla de polifenoles, la mayoría del tipo flavonoide (Figura 1) que provienen de restos de prensado de uva verde. Los compuestos incluyen especies de los grupos 1, 2 y 3 en proporciones adecuadas para elicitar los efectos que se citan en sus aplicaciones. El residuo de prensado se somete a extracción con etanol acuoso, el etanol es eliminado por evaporación y el residuo resultante sometido a liofilización. El liofilizado se suspende en agua y la fracción polifenólica se extrae en acetato de etilo. El acetato de etilo se elimina por evaporación y el residuo se suspende en agua. La suspensión se somete a centrifugación la solución decantada se liofiliza hasta obtener un extracto sólido.

Descripción de la figura

Figura 1.- Perfil de HPLC analítico para la caracterización del extracto de residuo de prensado.

Columna μ -RPC SC 2.1/10, C2/C18 (Pharmacia Biotech AB, Uppsala, Suecia), 3 μ m, carga: 10 μ g de extracto. Eluyentes: A, 0.1% (v/v) ácido trifluoroacético en agua, B, agua/acetonitrilo (1:4) 0.09% (v/v) ácido trifluoroacético. Elución: 0% B durante 2 min, seguida de gradiente 0-50% B durante 38 min. Flujo 200 μ L/min. Detección 280 nm.

Ejemplo

El residuo húmedo, conservado a 4°C (16 Kg) es introducido en un reactor cilíndrico de 25 litros de capacidad y lavado cinco veces con volúmenes de 10 litros de agua desionizada. El residuo resultante se somete a maceración con 9 litros de una mezcla de agua/etanol (3:7). Después de 16 horas la solución se decanta y filtra y la operación se repite dos veces. Los filtrados se reúnen (24 litros), el etanol se evapora al vacío, y la suspensión acuosa resultante se somete a liofilización hasta la obtención de 587 gramos de liofilizado. El sólido liofilizado se somete a extracción con hexano (3 x 2 litros) y el disolvente se decanta. El residuo se deja secar y se suspende en agua (2 litros). A esta suspensión acuosa se la añaden 10 mL de ácido acético glacial y la fracción polifenólica se extrae con acetato de etilo (5 x 500 mL). El volumen final de solución en acetato de etilo es de 2 litros. El disolvente se evapora mediante vacío y el residuo se suspende en agua (0.5 L). La suspensión se somete a evaporación al vacío para eliminar los restos de disolvente y se filtra a través de una placa porosa n° 4. La suspensión resultante (1L) se centrifuga y la porción soluble se liofiliza hasta obtener 16 gramos de extracto.

El extracto obtenido según el procedimiento descrito se caracteriza por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC, Figura 1).

REIVINDICACIONES

1. Extracto **caracterizado** porque se obtiene a partir de restos de prensado de uva y contiene en su composición al menos: 1 al 5 % de ácido gálico, 1 al 30 % de especies del tipo catequina y sus oligómeros o procianidinas, 1 al 20 % de especies de tipo flavonol y sus derivados glicosilados.

2. Procedimiento de obtención de un extracto según reivindicación 1 **caracterizado** porque: se somete a uva verde a prensado, de su residuo se extrae con etanol acuoso una fracción, donde el etanol es eliminado por evaporación y el residuo resultante es sometido a liofilización; el liofilizado

se suspende en agua y la fracción polifenólica se extrae en acetato de etilo; éste se elimina por evaporación y el residuo se suspende en agua; la suspensión se somete a centrifugación, la solución decantada se liofiliza obteniendo un extracto sólido.

3. Aplicación del extracto de uva según reivindicación 1 como componente activo para la preparación de productos protectores contra la acción de las radiaciones ultravioletas.

4. Aplicación del extracto de uva según reivindicación 1 como componente activo para la preparación de productos con actividad antioxidante para la piel.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA

⑪ ES 2 161 161

⑰ N.º solicitud: 009901958

⑳ Fecha de presentación de la solicitud: 30.08.1999

㉓ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.7: A61K 7/48

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	M. CARINI et al. The Protection of Polyunsaturated fatty acids in micellar systems against UVB-induced photooxidation by procyanidins from <i>Vitis vinifera</i> L., and the protective synergy with vitamin E. International Journal of Cosmetic Scien. 20, 203-215 (1998).	
A	US 5916573 A (SAMANTHA M. SPIERS et al.) 29.06.1999	
A	WO 9933439 A1 (SHAKLEE CORPORATION) 08.07.1999	

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones n.º:

Fecha de realización del informe

27.09.2001

Examinador

M. Ybarra Fernández

Página

1/1