

Q.F.



**Industria y Comercio**  
**SUPERINTENDENCIA**

**SOLICITUD**  
**PATENTE DE INVENCION**

06-60268

21. EXPEDIENTE N°

54. TÍTULO "COMPOSICION PARA MEJORAR LA SALUD DE LA PIEL, EL CABELLO Y EL PELAJE

QUE CONTIENE FLAVONONAS"

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL A61K 7/00

71. SOLICITANTE NESTEC S.A.

DOMICILIO VEVEY, SUIZA

74. REPRESENTANTE LEGAL ALICIA LLOREDA RICAURTE  
T.P. 53.215

22. BOGOTÁ, D.C. 21 JUN 2006

Publizado  
FM 18-07-2006

5.5'

## PETITORIO



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  
Rad: 05-060268- -00000-0000  
Fec: 2006-06-21 17:11:20 Dep. 2020 NUECREACIONES  
Tra. 11 PATENTEYII  
Eve: 379 FASENACIONALII  
Act: 411 PRESENTACION Folios: 75

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE  
PCT  
ENTRADA EN FASE NACIONAL

① SOLICITUD DE:  
☒ Patente de Invención ☐ Patente de Modelo de Utilidad

☐ Capítulo I. ☒ Capítulo II.

② SOLICITANTE (71)

Nombre: NESTEC S.A.  
Dirección: Avenue Nestlé 55, CH-1800 Vevey, Suiza.  
Nacionalidad o Domicilio: Vevey, Suiza.  
Lugar de Constitución: Suiza.  
Teléfono: 3264270 Fax: 6069701  
E-mail: jlcco@lloredacamacho.com

IDENTIFICACION  
C.C. ☐ NIT ☐  
C.E. ☐ Otro ☐  
Cual \_\_\_\_\_  
Número \_\_\_\_\_

③ REPRESENTANTE O APODERADO

Nombre: ALICIA LLORED A RICAURTE  
Dirección: Calle 72 No. 5-83 Piso 5º,  
Bogotá- Colombia  
Teléfono: 3264270 Fax: 6069701  
E-mail: jlcco@lloredacamacho.com

C.C. ☒ NIT ☐  
C.E. ☐ Otro ☐  
Cual \_\_\_\_\_  
Número 39.690.713 TP 53.215

④ INVENTOR(ES) (72)

Nombre: RICHELLE, Myriam; OFFORD-CAVIN, Elizabeth; BORTLIK, Karlheinz; BUREAU-FRANZ, Isabelle; WILLIAMSON, Gary; NIELSEN, Inge, Lise; STEILING, Heike y MOODYCLIFFE, Angus.  
Dirección: Eden-Roc 4, Claies-aux-Moines, CH-1073 Savigny; Chemin du Rategniau, Haut de Perche B, CH-1041 Poliez-Pittet; Chemin de la Cure 36, CH-1510 Syens; Rue de la Gare 21, CH-1110 Morges; Route de Servion, CH-1083 Mezieres; Route des Colondalles 58, CH-1820 Montreaux; Avenue du Grammont 4, CH-1007 Lausanne y Avenue des Roses 4, CH-1009 Pully.  
Nacionalidad o Domicilio: Suiza.

⑤ PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/EP2004/014416 Fecha: 17/12/04  
Publicación Internacional No. WO 2005/058255 A1 Fecha: 30/06/05

⑥ Título (54) "COMPOSICIÓN PARA MEJORAR LA SALUD DE LA PIEL, EL CABELL Y EL PELAJE QUE CONTIENE FLAVONONAS"

⑦ Clasificación Internacional (51) A61K 7/00

| ⑧ Prioridad                                                        | (33) País de Origen | (32) Fecha | (31) Número de Solicitud |
|--------------------------------------------------------------------|---------------------|------------|--------------------------|
| SI <input checked="" type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> | EP                  | 18/12/03   | 03029183.5               |

⑨ Comprobante de Pago No. 06-36,226 Fecha: 15 de Mayo de 2006

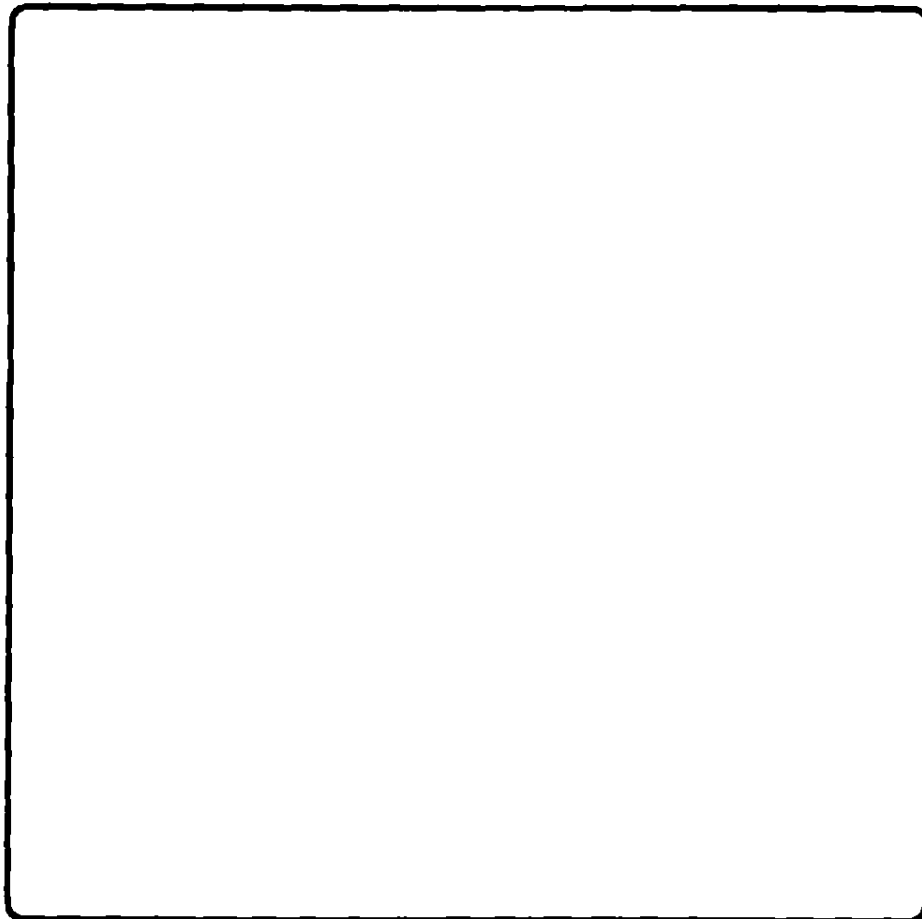
10

ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- ☒ Documento que acredite la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Documento de Representación Legal.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones.
- ☐ Copia de la solicitud internacional. (resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Copia del reporte preliminar internacional sobre patentabilidad.
- ☒ Traducción del reporte preliminar internacional sobre patentabilidad.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ Arte Final 12X12.
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionados parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otros reporte de búsqueda internacional con su traducción, publicación con su traducción, capítulo reivindicatorio como fue originalmente presentado en fase internacional con su traducción y anexo explicativo de modificaciones a las reivindicaciones.

11

FIGURA CARACTERISTICA:



12

12

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  
R.C.T. 05-000208-00000-0000  
=PC 2004-15-17.11.20 DOP 2024 NÚMERO DE CREACIONES  
T.M. PATENTIZADA  
=PC 375 =ASOCIACIONAL  
AC. 41 =PRESCRIPCION =MIG. 75

NIT : 800175089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 06 - 36.224  
FECHA : MAYO 15 DE 2006

##### CONSIGNACION #####

| DEPOSITANTE        | TIPO PAGO    | BANCO         | CUENTA      | Nº. PAGO | FECHA PGO  | Gr. PAGO      |
|--------------------|--------------|---------------|-------------|----------|------------|---------------|
| LLEREDA Y CIA S. A | CONSIGNACION | BANCO POPULAR | 050-00110-6 | 47518775 | 15/05/2006 | 19,000,000.00 |

##### CONCEPTO #####

| CANT. REMITIDO            | CONCEPTO                            | TOTAL CONCEPTO |
|---------------------------|-------------------------------------|----------------|
| 1 30605-01-01 SOLICITUDES | 1 TRANSFER DE B.C. DE PATENTE DE 16 | 163,000.00     |
|                           | TOTAL :                             | 163,000.00     |

SON: CUATROCIENTOS SESENTA Y TRES MIL PESOS

RESPONSABLE : \_\_\_\_\_

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE N.º. \_\_\_\_\_

37

**ANEXO**

El documento que acredita la calidad de REPRESENTANTES LEGALES en Bogotá de los doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ para TODOS LOS ASUNTOS RELACIONADOS CON LA PROPIEDAD INDUSTRIAL de la sociedad peticionaria, que faculta a cada uno de dichos abogados para actuar individualmente, se está presentando con esta solicitud. En consecuencia, ruego a usted reconocer la personería de cada uno de dichos Representantes Legales para actuar dentro del presente expediente, a fin de que cualquiera de ellos pueda intervenir en cualquier tiempo respecto de la solicitud en él contenida.

  
ALICIA LLOREDA RICAURTE

T.P. No. 53.215

38

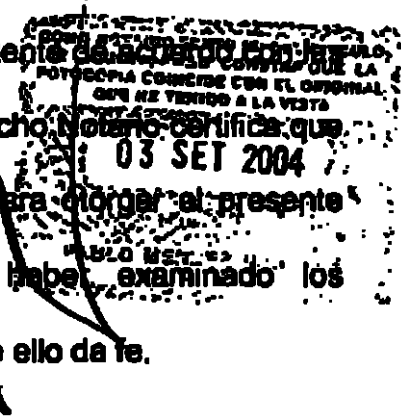
TRADUCCIÓN OFICIAL No.283/04 DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN FRANCÉS, EL CUAL PARA SU IDENTIFICACIÓN SE SELLA CON EL SELLO DEL TRADUCTOR. ESTA ES UNA TRADUCCIÓN OFICIAL EFECTUADA EL DIA 01 DE SEPTIEMBRE DE 2004 POR JEAN-JACQUES TURPIN, C.E.: 193849 DE BOGOTÁ, TRADUCTOR E INTÉRPRETE OFICIAL SEGÚN RESOLUCIÓN No. 2680/91 DEL 19 DE DICIEMBRE DE 1991, EXPEDIDA POR EL MINISTERIO DE JUSTICIA DE COLOMBIA.

Autenticaciones que se hallan a continuación de un documento de poder conferido en inglés y español por NESTEC S.A., una sociedad organizada y existe de conformidad con las leyes de Suiza, domiciliada en Avenue Nestlé 55, CH-1800 Vevey, Suiza, y otorgado a los Doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARÍA y/o ENRIQUE ÁLVAREZ, todos domiciliados en Bogotá, Colombia, Calle 72 No. 5 – 83 (Piso 6º).

Dado el 5 de agosto de 2004. Firma ilegible de la Señora Paula Nelson, Vice-Presidente de Nestec S.A.

**CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)**

Legalización por parte del suscrito Notario de la firma de la Señora Paula NELSON quien desempeña el cargo de Vice-Presidente de la compañía NESTEC S.A., una sociedad legalmente constituida y existente de acuerdo con las leyes de Suiza, domiciliada en Vevey (Suiza). Además, dicho Notario certifica que el signatario, según las leyes de Suiza, tiene facultad para otorgar el presente documento. Los hechos anteriores le constan por haber examinado los documentos respectivos el 24 de marzo de 1997, y de todo ello da fe.



Firma de Jean-Daniel RUMPF.

Sello: Jean-Daniel RUMPF – Notario. Estampilla de 4 Frs.

283/0.

Traducción Oficial No.  
JEAN - JACQUES H. TURPIN  
Traductor e Intérprete Oficial  
FRANCÉS - ESPAÑOL  
Res. Ministerial No. 2680/91

4

Legalización No. 7.135. El Notario Jean-Daniel RUMPF, en Vevey, Distrito de Vevey, Cantón de Vaud, Suiza, certifica la firma puesta en la página anterior por la Señora Paula Nelson, Directora adjunta de Nestec S.A., en Vevey, la cual compromete en forma válida con su firma individual.

Dado en Vevey, el once de agosto de dos mil cuatro, Firma ilegible del Notario.

Sello: Jean-Daniel RUMPF – Notario, Estampilla de 4 Frs.

#### APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961).

1. - País: Suiza

El presente documento público

2. - ha sido firmado por el Señor Jean-Daniel RUMPF  
3. - obrando en calidad de Notario en Vevey  
4. - con sello de Jean-Daniel RUMPF, Notario

#### CERTIFICADO

5. - En Lausana                      6.- El 12 de agosto de 2004  
7. - Por la Cancillería de Estado del Cantón de Vaud  
8. - Bajo el número 6705  
9. - Sello: Cancillería del Consejo de Estado – Libertad y Patria  
de 25 Fr.  
10. - Por el Canciller de Estado, firma de P. Equey.

Es traducción fiel y completa de la cual se deja copia en los archivos de esta oficina para confrontación y a la cual me remito.

Traducción oficial No. 283/04.

Traductor: Jean-Jacques Turpin.

Bogotá, D.C., 1 de septiembre de 2004.

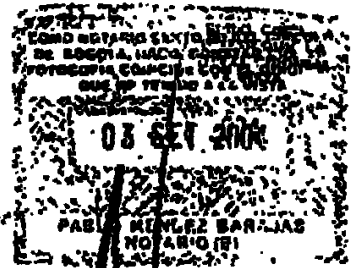
283/04  
Traducción Oficial No.  
JEAN - JACQUES H. TURPIN  
Traductor e Intérprete Oficial  
FRANCÉS - ESPAÑOL  
N.º de Inscripción No. 2680/91

MINISTERIO DE RELACIONES  
EXTERIORES

*San Roque*

61229

COTA FIRMA APARECE EN EL  
DOCUMENTO DESEMPENA  
LAS FUNCIONES INDICADAS



NO SE ASUME  
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2000 SEP -2 A 11:09

*WLS*

JEFE DE LEGALIZACIONES  
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

Los abajo firmados, NESTEC S.A., una sociedad organizada y existente de conformidad con las leyes de Suiza

con domicilio en Avenue Nestlé 55, CH-1800 Vevey, Suiza

nombramos por el presente a ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, domiciliados en Bogotá, Colombia, con oficinas en dicha ciudad, Calle 72 No. 5-83, piso 6o., nuestros representantes legales y verdaderos en Bogotá, con facultades para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales, con el fin de dar cumplimiento al parágrafo 1o. del artículo 543 del decreto 410 de 1971.

Los doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, o los apoderados que cualquiera de ellos designe, quedan especialmente facultados para representarnos ante las autoridades colombianas, administrativas, judiciales o de policía, en todos los trámites relativos a la propiedad industrial, a cuyo efecto les facultamos para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al objeto indicado; elevar solicitudes, declaraciones, reclamos, recursos y presentar desistimientos; formular descripciones, enmiendas, limitar el alcance de las solicitudes, presentar oposiciones y apelaciones; instaurar cancelaciones, renunciar total o parcialmente a los registros, abonar todos los impuestos y cuotas y efectuar todo otro pago determinado por la ley; recibir todos los documentos y valores, dando el descargo respectivo; llenar cualesquiera otros requisitos y tomar, en fin, todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de nuestros intereses; y en caso de producirse oposición, pasando los antecedentes a los tribunales, quedan facultados para tomar intervención como demandantes o demandados ante los jueces que sean competentes, pudiendo transar, someter a arbitros, desistir, percibir y apelar, con todas las demás facultades que resulten necesarias, y por el presente declaramos desde ahora válido y bueno cuanto dichos representantes y/o los apoderados que cualquiera de ellos nombre hicieran en nuestro beneficio.

Asimismo, facultamos a los doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, para solicitar en la Oficina de Propiedad Industrial la protocolización de este documento y de cualquier poder que cualquiera de ellos otorgue a nombre nuestro.

Dado y firmado

The undersigned, NESTEC S.A., a corporation organized and existing under the laws of Switzerland.

domiciled at Avenue Nestlé 55, CH-1800 Vevey, Switzerland

hereby appoint, ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, of Bogotá, Colombia, with offices in said town, Calle 72 No. 5-83, Sixth Floor, our true and legal representatives in Bogotá, with power to receive notifications and to appoint judicial or extrajudicial agents, so as to comply with paragraph 1o. of article 543 of decree 410 of 1971.

Doctors ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, or the agents by any one of them appointed, are especially empowered to represent us before the administrative, judicial or police authorities of Colombia, in all proceedings pertaining to industrial property, for which purpose we authorize them to take before the said authorities all the necessary steps for the said end; to file petitions, declarations, claims, recourses and withdrawals, to draw up specifications; to file amendments, to limit the scope of applications, file oppositions; file cancellations total or partially waive registrations, to pay all installments and effect all other payments prescribed by law; to receive proper receipts, to comply with all other requirements and, in short, to take all those measures which they may deem fit for the protection of our interests; and in case of opposition, where the proceedings be passed over to the courts, we authorize said agents to act on our behalf, as complainants as well as defendants, before the competent judges, with full powers to make arrangements, to submit to arbitrators, to desist, to collect, to appeal and, in short, with all such further powers as may be required and we hereby declare from now on as valid and good that said representatives and/or the agents by any one of them appointed may do for our benefit.

We also authorize doctors ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, to apply for protocolization of this document and of any power of attorney by any one of them conferred in our name, before the Office of Industrial Property.

Given and signed this 5th August 2004

Paula NELSON - Vice President



NOTARY SHOULD EXECUTE OTHER SIDE

CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

Suiza  
Vevey

(es

Hoy 11 de Agosto de 2004, compareció  
**PAULA NELSON**, a quien conozco y  
de quien me consta que firmó el anterior documento,  
y quien debidamente juramentado declaró y dijo que  
ésta Vicepresidente

de NESTEC S.A., la  
compañía nombrada en el documento que antecede,  
una sociedad debidamente organizada y existente  
conforme a las leyes de Suiza, domiciliada en la  
ciudad de Vevey, Suiza legalmente constituida  
para un periodo de duración que aún no ha  
terminado, que ejerce su objeto social; conforme a  
las leyes de Suiza, que el declarante está autorizado  
por dicha Compañía para conferir este poder, que el  
sello estampado por él al pie de tal poder, en nombre  
y en representación de la expresada Compañía, es el  
sello oficial de ella; y que el objeto para el cual se  
confiere este instrumento está comprendido dentro  
del de la sociedad.

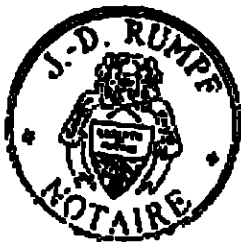
El suscrito Notario ha visto los Estatutos de  
Incorporación firmados en Vevey, Suiza, con fecha  
24 Marzo, 1997, y certifica que de  
conformidad con la legislación de dicho País, la  
anterior declaración juramentada es prueba  
suficiente de que los hechos sobre que ella versa son  
ciertos o verdaderos, de lo cual da fe.

Notary Public (Notario Público).



Légalisation No 7'135.-

Le notaire JEAN-DANIEL RUMPF, à Vevey, District de Vevey, Canton de  
Vaud, Suisse, certifie authentique la signature apposée par  
part par Mme Paula NELSON, directrice-adjointe de la société  
NESTEC S.A., à Vevey, qu'elle engage valablement par sa signature -  
individuelle. -----  
VEVEY, LE ONZE AOÛT DEUX MILLE QUATRE. -----



J.D. Rumpf

NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)

Switzerland  
Vevey

(as

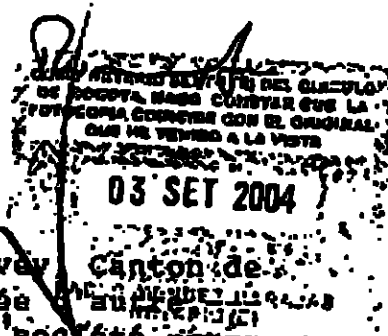
On this 11th day of August, 2004,  
personally came

**Paula NELSON**

to me known, and known to me to be the person who  
signed the foregoing instrument, who being by me  
duty sworn did depose and say that he/she is the

**Vice President** of NESTEC S.A., the  
company named within, a Corporation organized and  
existing under the laws of the Switzerland, domiciled  
at the City of Vevey, Switzerland legally constituted  
for a period of tenure not yet expired, which exercises  
its corporate purposes according to the laws of  
Switzerland, that the deponent is authorized by said  
Company to confer this power of attorney; that the  
seal affixed hereunto by the deponent in the name  
and on behalf of said Corporation is the corporate  
seal thereof; and that the purpose for which this  
instrument is granted is included within the corporate  
purposes of the Company.

The undersigned Notary Public has seen the articles  
of Incorporation of said Corporation executed at  
Vevey, Switzerland, under date of March 24 1997  
and hereby certifies that under the laws of said  
County the foregoing acknowledgment is sufficient  
proof that the facts therein contained are true, which  
he attests.

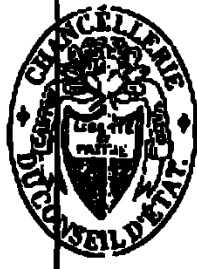


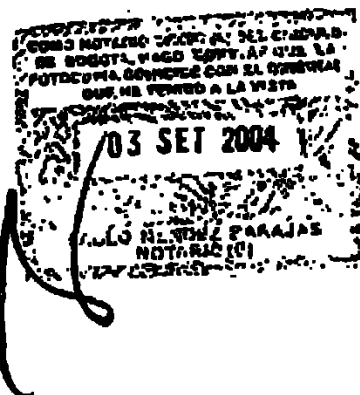
**APOSTILLE**  
(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Pays: SUISSE
2. Le présent acte public
3. a été signé par Jean-Daniel Rumpf
4. agissant en qualité de notaire à Vevoy
5. est revêtu du sceau/timbre de J.-D. Rumpf notaire

Attesté

6. à Lausanne
7. le 12 août 2004
8. par la Chancellerie d'Etat du Canton de Vaud
9. sous No 6706
10. Sceau/timbre: 25.-
11. Signature  
pr la Chancellerie d'Etat:  
P. Equey





Retiro folios 8, 9 y 10  
- Extracto  
- Testigos

|                                                                                                                                                                                              |                                                                    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| Fecha de la terminación oral de la búsqueda internacional                                                                                                                                    | Fecha de envío por correo del expediente de búsqueda internacional |
| 11 de Abril de 2005                                                                                                                                                                          | 20/04/2005                                                         |
| Nombre y dirección de correo de la ISA<br>Oficina de Patentes Puraque, P. M. 5818 Pasedano 2<br>NL - 2280 HV Rijswijk<br>Tel: (+31-70) 340-2040, Tx: 31 631 epo nl<br>Fax: (+31-70) 340-2016 | Funcionario autorizado<br>Alvarez Alvarez, C                       |

70

# REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.  
PCT/EP2004/014416

A. CLASIFICACIÓN DE MATERIA OBJETO  
IPC 7 A61K7/00 A23L1/00 A61K31/352

Según la Clasificación de Estrasburgo (Internacional) (IPC) o según la clasificación nacional y la IPC

## B. CAMPOS BUSCADOS

Documentación nativa basada (primera de clasificación seguido de símbolos de clasificación)

IPC 7 A61K

Documentación buscada fuera de documentación nativa hasta donde dichos documentos se incluyen en los campos buscados

Base de datos electrónica consultada durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, donde sea práctico, buscar términos usados)

EPC-Internacional

## C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

| Categoría | Citación de documento, con indicación, donde sea apropiado, de los signos relevantes                                                                                                                                                                                                                                 | Referencia a la reivindicación No. |
|-----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| X         | DE 101 11 045 A (BIERSDORF AG)<br>12 de Septiembre de 2002 (2002-09-12)<br>reivindicaciones 1-4, 8, 10<br>párrafos '0001', '0002', '0033',<br>'0036' - '0038', '0049', '0056' -<br>'0058', '0075' - '0092', '0099',<br>'0101', '0103'<br>párrafos '0109' - '0111'<br>ejemplos 1-3, 5, 6, 10-12, 1418, 20, 22, 23, 25 | 8-10,<br>12-16                     |
| X         | EP 0 461 827 A (KABUSHIKI KAISHA HAYASHIBARA<br>SEIBUTSU KAGAKU KENKYUO)<br>18 de Diciembre de 1991 (1991-12-18)<br>reivindicaciones 1-3, 7, 13<br>página 10, línea 51 - página 12, línea 15<br>página 13, línea 6 - línea 47<br>página 14, línea 9 - línea 24                                                       | 8-10,<br>12-16                     |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> En el sentido C se encuentran más documentos.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | <input checked="" type="checkbox"/> En el sentido se encuentran documentos de la familia de patentes.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| <p>A' Categorías especiales de documentos citados:</p> <p>A' documento que define el estado general de la técnica el cual no es conocido de relevancia particular</p> <p>T' documento anterior pero publicado en o después de la fecha de presentación internacional</p> <p>T' documento que puede arrojar dudas sobre reivindicaciones de prioridad o que se cita para establecer la fecha de publicación de otra citación u otra cuestión especial (según se especifica)</p> <p>T' documento que se refiere a una revelación oral, una exhibición o otro medio</p> <p>P' documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero después de la fecha de prioridad reivindicada</p> | <p>T' documento posterior publicado después de la fecha de presentación internacional o fecha de prioridad y que no está en conflicto con la solicitud por el hecho de entender al principio o más que sustenta la invención</p> <p>X' documento de relevancia particular; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o no puede considerarse que corresponde en su estado inventivo cuando el documento se analiza para una persona experta en la técnica</p> <p>X' documento de relevancia particular; la invención reivindicada no puede considerarse que comprende un paso inventivo cuando el documento se analiza con uno o más documentos, siendo dicha combinación nueva para una persona experta en la técnica</p> <p>A' documentos citados de la misma familia de patentes</p> |
| Fecha de la terminación real de la búsqueda internacional                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Fecha de envío por correo del informe de búsqueda internacional                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| 11 de Abril de 2005                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 20/04/2005                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Nombre y dirección de correo de la ISA<br>Oficina de Patentes Europeas, P. B. 3511 Etenbaken 2<br>NL - 2280 EV Rijswijk<br>Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 61 61 60 al.<br>Fax: (+31-70) 340-3016                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Firmatario autorizando<br><br>Alvarez Alvarez, C                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |

# REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.  
PCT/EP2004/014416

## C. (Continuación) DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

| Categoría | Citación de documento, con indicación, donde sea apropiada, de los textos relevantes                                                                                                                  | Relevante a la reivindicación No. |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|
| X         | US 6 365 199 B1 (OLGUIN)<br>2 de Abril de 2002 (2002-04-02)<br>reivindicación 1<br>columna 1, líneas 10, 11, 34<br>columna 2, líneas 20 - línea 35                                                    | 8-13, 16                          |
| X         | US 2003/166583 A1 (YOA-PU HU Y COL.)<br>4 de Septiembre de 2003 (2003-09-04)<br>reivindicaciones 1, 10, 13; tablas 1, 2                                                                               | 8-10, 12,<br>15                   |
| X         | EP 0 774 249 A (UNILEVER PLC Y COL.)<br>21 de Mayo de 1997 (1997-05-21)<br>reivindicaciones 1, 6, 7<br>ejemplos 6-8, 10, 11                                                                           | 8-10,<br>12-15                    |
| X         | DATABASE WPI Semana 200003<br>Derwent Publications Ltd., Londres, GB; AN 2000-024196<br>XP002283594<br>& CN 1 229 638 A (LIU)<br>29 de Septiembre de 1999 (1999-09-29)<br>resumen                     | 8-12,<br>14-16                    |
| X         | DATABASE WPI Semana 200230<br>Derwent Publications Ltd., Londres, GB; AN 2002-248238<br>XP002283595<br>& JP 2002 029975 A (POKKA CORP KK)<br>29 de Enero de 2002 (2002-01-29)<br>resumen              | 1, 2,<br>5-12, 14                 |
| Y         |                                                                                                                                                                                                       | 3, 4                              |
| X         | DATABASE WPI Semana 199749<br>Derwent Publications Ltd., Londres, GB; AN 1997-530127<br>XP002283596<br>& JP 09 252746 A (NIPPON KANKYO YAKUHI KK)<br>30 de Septiembre de 1997 (1997-09-30)<br>resumen | 1, 3,<br>6-10, 12,<br>13, 16      |
| X         | DATABASE WPI Semana 198818<br>Derwent Publications Ltd., Londres, GB; AN 1988-122604<br>XP002283597<br>& JP 63 066110 A (MOMOTANI JUNTENKAN)<br>24 de Marzo de 1988 (1988-03-24)<br>resumen           | 8-10, 12,<br>14-16                |
| Y         |                                                                                                                                                                                                       | 3, 4                              |

712

**REPORTE DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL**  
Información sobre miembros de familia de patentes

Solicitud Internacional No.  
PCT/EP2004/014416

| Documento de patente citado<br>en el reporte de búsqueda | Fecha de publicación | Miembro(s) de la familia de patentes | Fecha de<br>publicación |
|----------------------------------------------------------|----------------------|--------------------------------------|-------------------------|
| DE 10111045 A                                            | 12-09-2002           | DE 10111045 A1                       | 12-09-2002              |
| EP 0461827 A                                             | 18-12-1991           | JP 2926432 B2                        | 28-07-1999              |
|                                                          |                      | JP 4046112 A                         | 17-02-1992              |
|                                                          |                      | AT 158165 T                          | 15-10-1997              |
|                                                          |                      | CA 2044317 A1                        | 12-12-1991              |
|                                                          |                      | DE 69127658 D1                       | 23-10-1997              |
|                                                          |                      | DE 69127658 T2                       | 12-03-1998              |
|                                                          |                      | EP 0461827 A2                        | 18-12-1991              |
| US 6365199 B1                                            | 02-04-2002           | US 6159475 A                         | 12-12-2000              |
| US 2003166583 A1                                         | 04-09-2003           | NINGUNO                              |                         |
| EP 0774249 A                                             | 21-05-1997           | AU 6811496 A                         | 01-05-1997              |
|                                                          |                      | CA 2186192 A1                        | 28-04-1997              |
|                                                          |                      | EP 0774249 A2                        | 21-05-1997              |
|                                                          |                      | JP 9176008 A                         | 08-07-1997              |
|                                                          |                      | NZ 299379 A                          | 24-04-1997              |
| CN 1229638 A                                             | 29-09-1999           | NINGUNO                              |                         |
| JP 2002029975 A                                          | 29-01-2002           | NINGUNO                              |                         |
| JP 9252746 A                                             | 30-09-1997           | NINGUNO                              |                         |
| JP 63066110 A                                            | 24-03-1988           | NINGUNO                              |                         |

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.  
PCT/EP2004/014416

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 7 A61K7/00 A23L1/00 A61K31/352

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched: classification system followed by classification system  
IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are indicated in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search process at date base set, where practicable, taken into account

EPQ-Internal

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category | Details of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                                          | Relevant to claim No. |
|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| X        | DE 101 11 045 A (BEIERSDORF AG)<br>12 September 2002 (2002-09-12)<br>claims 1-4, 8, 10<br>paragraphs '0001', '0002', '0031',<br>'0036' - '0038', '0049', '0056' -<br>'0059', '0075' - '0092', '0099',<br>'0101', '0103'<br>paragraphs '0109' - '0111'<br>examples 1-3, 5, 6, 10-12, 14, 18, 20, 22, 23, 25 | 8-10,<br>12-16        |
| X        | EP 0 461 827 A (KABUSHIKI KAISHA<br>HAYASHIBARA SEIBUTSU KAGAKU KENKYUJO)<br>18 December 1991 (1991-12-18)<br>claims 1-3, 7, 13<br>page 10, line 51 - page 12, line 15<br>page 13, line 6 - line 47<br>page 14, line 9 - line 24                                                                           | 8-10,<br>12-16        |

☒ References are listed in the continuation of this C.

☒ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents:

- \* (X) document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \* (Y) earlier document but: withdrawn or in the international filing date
- \* (Z) document which may throw doubt on priority claim(s) or validity claim(s) or refer to the publication date of another claim or other special reason (as specified)
- \* (W) document relevant to a oral disclosure, use, exhibition or other feature
- \* (V) document published prior to the international filing date but not having the priority date claimed

\* (T) later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but which is considered to be of principle or merely clarifying the invention

\* (U) document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

\* (V) document of particular relevance: the claimed invention would be considered to involve an inventive step when the document is considered with one or more other such documents, each considered taking account of a source cited in the art

\* (W) document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

11 April 2005

Date of mailing of the international search report

20/04/2005

Name and mailing address of the ISA  
European Patent Office, P.O. Box 1  
NL - 1200 AA Rijswijk  
Tel: (+31-78) 340-2041, 31 31 31 31 31  
Fax: (+31-78) 340-2042

Authorized officer

Alvarez Alvarez, C

Form PCT/ISA/210 (second sheet) January 2003

14

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.  
PCT/EP2004/014416

| C.(Classification) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT |                                                                                                                                                                                                 |                           |
|--------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| Category *                                             | Classification of documents, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                       | Relevant to claim No.     |
| X                                                      | US 6 365 199 B1 (OLGUIN)<br>2 April 2002 (2002-04-02)<br>claim 1<br>column 1, lines 10,11,34<br>column 2, line 20 - line 35                                                                     | 8-13,16                   |
| X                                                      | US 2003/166583 A1 (YOA-FU HU ET AL.)<br>4 September 2003 (2003-09-04)<br>claims 1,10,13; tables 1,2                                                                                             | 8-10,12,<br>15            |
| X                                                      | EP 0 774 249 A (UNILEVER PLC ET AL.)<br>21 May 1997 (1997-05-21)<br>claims 1,6,7<br>examples 6-8,10,11                                                                                          | 8-10,<br>12-15            |
| X                                                      | DATABASE WPI Week 200003<br>Derwent Publications Ltd., London, GB; AN<br>2000-024198<br>XP002283594<br>& CN 1 229 638 A (LIU)<br>29 September 1999 (1999-09-29)<br>abstract                     | 8-12,<br>14-16            |
| X                                                      | DATABASE WPI Week 200230<br>Derwent Publications Ltd., London, GB; AN<br>2002-248238<br>XP002283595<br>& JP 2002 029975 A (POKKA CORP KK)<br>29 January 2002 (2002-01-29)<br>abstract           | 1,2,<br>6-12,14           |
| Y                                                      |                                                                                                                                                                                                 | 3,4                       |
| X                                                      | DATABASE WPI Week 199749<br>Derwent Publications Ltd., London, GB; AN<br>1997-530127<br>XP002283596<br>& JP 09 252746 A (NIPPON KAKYO YAKUHIN<br>KK) 30 September 1997 (1997-09-30)<br>abstract | 1,2,<br>6-10,12,<br>13,16 |
| X                                                      | DATABASE WPI Week 198818<br>Derwent Publications Ltd., London, GB; AN<br>1988-122604<br>XP002283597<br>& JP 63 066110 A (MOMOTANI JUNTENKAN)<br>24 March 1988 (1988-03-24)<br>abstract          | 8-10,12,<br>14-16         |
| Y                                                      |                                                                                                                                                                                                 | 3,4                       |

\* From PCT/EP2004/014416 International search report dated 1 January 2004

Page 3 of 9

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No  
PCT/EP2004/014416

| Patent document<br>cited in search report |    | Publication<br>date | Patent family<br>member(s) | Publication<br>date |
|-------------------------------------------|----|---------------------|----------------------------|---------------------|
| DE 10111045                               | A  | 12-09-2002          | DE 10111045 A1             | 12-09-2002          |
| EP 0461827                                | A  | 18-12-1991          | JP 2926432 B2              | 28-07-1999          |
|                                           |    |                     | JP 4046132 A               | 17-02-1992          |
|                                           |    |                     | AT 158166 T                | 15-10-1997          |
|                                           |    |                     | CA 2044317 A1              | 12-12-1991          |
|                                           |    |                     | DE 69127658 D1             | 23-10-1997          |
|                                           |    |                     | DE 69127658 T2             | 12-03-1998          |
|                                           |    |                     | EP 0461827 A2              | 18-12-1991          |
| US 6365199                                | A1 | 02-04-2002          | US 6189478 A               | 12-12-2000          |
| US 2003165583                             | A1 | 04-09-2003          | NONE                       |                     |
| EP 0774249                                | A  | 21-05-1997          | AU 6811496 A               | 01-05-1997          |
|                                           |    |                     | CA 2186192 A1              | 28-04-1997          |
|                                           |    |                     | EP 0774249 A2              | 21-05-1997          |
|                                           |    |                     | JP 9176008 A               | 08-07-1997          |
|                                           |    |                     | NZ 299379 A                | 24-04-1997          |
| CN 1229638                                | A  | 29-09-1999          | NONE                       |                     |
| JP 2002029975                             | A  | 29-01-2002          | NONE                       |                     |
| JP 9252746                                | A  | 30-09-1997          | NONE                       |                     |
| JP 63066110                               | A  | 24-03-1988          | NONE                       |                     |

Form PCT/EP2004/014416 (November 2004)

76

(33) Organización Mundial de Propiedad Intelectual  
Oficina Internacional



(43) Fecha de Publicación Internacional  
30 de Julio de 2005 (30.07.2005)

PCT

(50) Número de Publicación Internacional  
WO 2005/058255 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes<sup>1</sup> A61K 7/00,  
A23L 1/00, A61K 31/252

(52) Número de Solicitud Internacional: PCT/EP2004/014416

(53) Fecha de Registro Internacional:  
17 de Diciembre de 2004 (17.12.2004)

(54) Idioma de registro: Inglés

(56) Idioma de Publicación: Inglés

(57) Información de Prioridad:  
03029183.5 18 de Diciembre de 2003 (18.12.2003) EP

(71) Solicitante (para todos los Estados designados excepto  
Estados Unidos de América): NESTEC S.A. [CH/CH];  
Avenue Nestlé 55, CH-1800 Vevey (CH).

(72) Inventores:

(73) Inventores/Relacionados (para Estados Unidos de América  
solamente): RICHELLE, Myriam [BE/CH]; Eden-Roo  
4, Claix-aux-Moines, CH-1073 Savigny (CH).  
OFFORD-CAVIN, Elzabeth [GB/CH]; Chemin du  
Ratignieu, Haut de Perche B, CH-1041 Palaz-Pilot  
(CH). BORTLIK, Karlbodo [DE/CH]; Chemin de la  
Cure 36, CH-1510 Gyens (CH). BUNFAU-FRANZ,  
Isabelle [FR/CH]; Rue de la Cure 21, CH-1110  
Morges (CH). WILLIAMSON, Gary [GB/CH];  
Route de Savigny, CH-1083 Mézières (CH).  
NIELSEN, Laga, Lina [DK/CH]; Route des  
Colonnelles 58, CH-1820 Montreux (CH).  
STEILING, Helge [DE/CH]; Avenue du Granerant  
4, CH-1007 Lausanne (CH). MOODYCLIFFE,  
Angus [GB/CH]; Avenue des Roses 4, CH-1009ully  
(CH).

(74) Agente: CHAUTARD, Cécile; Avenue Nestlé 55,  
CH-1800 Vevey (CH).

(81) Estados Designados (a menos que sea indicado de otra  
manera, para cada tipo de protección nacional disponible):  
AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR,  
BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE,  
DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH,  
GM, GR, GU, HT, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP,  
KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, ME,  
MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PA,  
PE, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SI, SK, SL, SY,  
TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN,  
YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados Designados (a menos que sea indicado de otra manera, para  
cada tipo de protección nacional disponible): ARIPO (BW, GN, GM,  
KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),  
Eurasíatica (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), Europea  
(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR,  
HU, IE, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR),  
OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR,  
NE, SN, TD, TG).

Declaraciones según la Regla 4.17:

— como derecho del solicitante para solicitar y que se le otorgue  
una patente (Regla 4.17(i)) para las siguientes designaciones AE,  
AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA,  
CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES,  
FI, GB, GR, GU, HT, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC,  
LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, ME, MK, MN, MW, MX, MZ,  
NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG,  
SI, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN,  
YU, ZA, ZM, ZW, patente ARIPO (BW, GN, GM, KE, LS, MW,  
MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), patente Eurasíatica  
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), patente Europea  
(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, GU,  
HU, IE, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), patente  
OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE,  
SN, TD, TG)

— como derecho del solicitante para reivindicar la prioridad de la  
solicitud más temprana (Regla 4.17(ii)) para las siguientes designaciones  
AE AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ,  
CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG,  
ES, FI, GB, GR, GU, HT, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC,  
LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, ME, MK, MN, MW, MX, MZ,  
NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG,  
SI, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC,  
VN, YU, ZA, ZM, ZW, patente ARIPO (BW, CH, GM, KE, LS,  
MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), patente Eurasíatica  
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), patente Europea  
(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, GU,  
HU, IE, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), patente  
OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE,  
SN, TD, TG)

— del inventor (Regla 4.17(i)) para Estados Unidos de América solamente

Publicando:

— con reporte de búsqueda internacional

— antes de la expiración del límite de tiempo para modificar  
las reivindicaciones y ser republicado de nuevo en el caso de  
recibo de modificaciones

Para las abreviaturas de dos letras y otras abreviaturas, véase a "Las Notas  
Guía sobre Códigos y Abreviaturas" que aparecen al comienzo de cada  
edición regular de la Gaceta PCT.

(54) Título: COMPOSICIÓN PARA MEJORAR LA SALUD DE LA PIEL, EL CABELLO Y EL PELAJE QUE CONTIENE  
FLAVONONAS

(57) Resumen: La presente invención se relaciona con una composición para prevenir, disminuir y/o tratar los trastornos de la piel, el  
cabello y el pelaje, tal como son producidos por reacciones inflamatorias, factores ambientales, envejecimiento o cáncer. En  
particular, la presente invención se relaciona al uso de compuestos de flavononas o sus derivados en composiciones nutricionales,  
cosméticas o farmacéuticas para el mejoramiento de la piel humana o de la piel de los animales mascotas y las condiciones del pelaje.

(19) World Intellectual Property  
Organization  
International Bureau

INTERNATIONAL PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(43) International Publication Date  
30 June 2005 (30.06.2005) ✓

PCT

(18) International Publication Number  
WO 2005/058255 A1 ✓(51) International Patent Classification: A61K 760,  
A23L 180, A61K 31/372(21) International Application Number:  
PCT/EP2004/014416(22) International Filing Date  
17 December 2004 (17.12.2004)

(23) Filing Language English

(24) Publication Language English

(30) Priority Data:  
03029131.1 16 December 2003 (16.12.2003) EP(71) Applicant (for all designated States except US): NESTLÉ  
S.A. [CH/CH]; Avenue Nestlé 55, CH-1800 Vevey (CH).

(72) Inventor(s) and

(73) Inventor(s)/Applicant(s) (for US only): MICHELLER,  
Myriam [BR/CH]; Eden-Roc 4, Châles-les-Moines,  
CH-1173 Savigny (CH). CHYRONA-CAYIN, Elisabeth  
[GB/CH]; Chemin du Rotegrius, Haut de Porche B,  
CH-1041 Poliez-Pâra (CH). BOWLING, Karlheinz  
[DE/CH]; Chemin de la Cure 36, CH-1510 Syens (CH).  
BUNZLI-FRANZ, Isabelle [FR/CH]; Rue de la Gare 21,  
CH-1110 Morges (CH). WILLIAMSON, Terry [GB/CH];  
Route de Servian, CH-1653 Mézières (CH). NUGENT,  
Irene Jane [GB/CH]; Route des Colombettes 58, CH-1820  
Montreux (CH). STEILING, Helene [DE/CH]; Avenue  
des Grasseins 4, CH-1067 Lausanne (CH). MCGOFF-  
CLIFFE, Angus [GB/CH]; Avenue des Rues 4, CH-1009  
ully (CH).(74) Agents CHAULTAUD, Cécile; Avenue Nestlé 55, CH-1800  
Vevey (CH)(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every  
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AN,  
AT, AU, AX, BA, BE, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN,  
CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,  
GB, GD, GE, GH, GM, GR, GU, HT, ID, IL, IN, IS, JP, KE,  
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,  
MG, MK, MN, MW, MX, MY, NA, NL, NO, NZ, OM, PA,  
PE, PG, PH, PK, RU, SC, SD, SE, SG, SI, SK, SL, ST, TJ,  
TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM,  
ZW.(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every  
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,GM, KE, LS, MW, ME, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,  
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, EG, KZ, MD, RU, UZ, TMD,  
Ukraine (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,  
FR, GB, GR, HU, IL, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO,  
SK, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN,  
GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

— as to applicant's entitlement to apply for and be granted  
a patent (Rule 4.17(i)) for the following designations AE,  
AG, AL, AM, AN, AU, AZ, BA, BE, BG, BR, BW, BY, BZ,  
CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE,  
EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GR, GU, HT, ID, IL, IN, IS,  
JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA,  
MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, NA, NL, NO, NZ, OM,  
PA, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SI, SK, SL,  
ST, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA,  
ZM, ZW, ARIPO patent (BW, GH, GM, KE, LS, MW, ME,  
NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM,  
AZ, BY, EG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT,  
BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR,  
HU, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK,  
TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,  
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)— as to the applicant's entitlement to claim the priority of the  
earlier application (Rule 4.17(ii)) for the following designations AE,  
AG, AL, AM, AN, AU, AZ, BA, BE, BG, BR, BW, BY, BZ,  
CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE,  
EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GR, GU, HT, ID, IL, IN, IS,  
JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA,  
MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, NA, NL, NO, NZ, OM,  
PA, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SI, SK, SL,  
ST, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA,  
ZM, ZW, ARIPO patent (BW, GH, GM, KE, LS, MW, ME,  
NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM,  
AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT,  
BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR,  
HU, IL, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK,  
TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,  
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)

— of inventorship (Rule 4.17(iii)) for US only

Published:

— with international search report

— before the expiration of the time limit for amending the  
claims and to be republished in the event of receipt of  
amendmentsFor two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance  
Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning  
of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title COMPOSITION FOR IMPROVING SKIN, HAIR AND COAT HEALTH CONTAINING FLAVANONES

(57) Abstract: The present invention pertains to a composition for preventing, decreasing and/or treating skin and haircoat disorders, such as is effected by inflammatory reactions, environmental factors, ageing or cancer. In particular, the present invention relates to the use of flavanone compounds or their derivatives in nutritional, cosmetic or pharmaceutical compositions for improvement of human or pet animal skin and coat conditions.

WO 2005/058255 A1

12

**CAPÍTULO REIVINDICATORIO COMO FUE  
ORIGINALMENTE PRESENTADO EN FASE  
INTERNACIONAL JUNTO CON SU TRADUCCIÓN**

## REIVINDICACIONES

1. Una composición nutricional, cosmética o farmacéutica para la administración oral CARACTERIZADA porque contiene como ingrediente activo, por lo menos un compuesto flavonona o sus derivados, o una mezcla de los mismos, en una cantidad efectiva para prevenir, aliviar o tratar los desórdenes de la piel, del pelo y/o del pelaje.

2. Una composición de acuerdo a la reivindicación 1, CARACTERIZADA porque los compuestos flavonona son isosacuranetina, naringin, hesperidina, eriodictiol, poncirina y neoeriocitrina.

3. Una composición de acuerdo a la reivindicación 1, CARACTERIZADA porque los derivados son las formas de agliconas, chalconas, las formas glicosiladas o metiladas de flavonona o formas sulfatadas o glucuronidas, las cuales son producto del metabolismo en la sangre.

18

4. Una composición de acuerdo a la reivindicación 1, CARACTERIZADA porque el derivado es obtenido por tratamiento enzimático o elaborado sintéticamente.

5. Una composición de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, CARACTERIZADA porque el compuesto flavonona se extrae de la pulpa o cáscara de las frutas cítricas, tal como naranja, limón, naranja amarga o pomel .

6. Una composición de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, CARACTERIZADA porque además contiene otros compuestos activos tal como vitamina C, vitamina E, carotenoides, ubiquinones, catequinas, extractos de café que contienen polifenoles y/o diterpenos, extractos de achicoria, extractos de ginkgo biloba, uva o extractos de semilla de uva ricos en proantocianidin, extractos de especies, extractos de soya, otras fuentes de flavonoides con actividad antioxidante, ácidos grasos, fibras prebióticas, microorganismos probióticos, taurina, resveratrol, aminoácidos, selenio o precursores de glutathione.

7. Una composición de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, CARACTERIZADA porque es leche, yogurt,

19

cuejada, queso, leches fermentadas, productos fermentados en base a leche, helados, polvos en base a leche, fórmulas para infantes, productos de cereales, productos en base a cereales fermentados, agua mineral, chocolate o alimentos para mascotas, complementos alimenticios, tableras o productos cosméticos para su aplicación tópica.

8. Uso de por lo menos un compuesto flavonona o sus derivados, o una mezcla de los mismos, CARACTERIZADO porque sirve como ingrediente activo para la preparación de una composición dirigida para prevenir, aliviar, o tratar los desórdenes de la piel, del cabello y/o los desórdenes o daños del pelaje.

9. Uso de por lo menos un compuesto flavonona o sus derivados, o una mezcla de los mismos, CARACTERIZADO porque sirve como ingrediente activo para la preparación de una composición dirigida para mejorar las condiciones de la piel, el cabello y/o las condiciones del pelaje cuando se administra a los humanos o a las mascotas.

10. El uso de acuerdo a las reivindicaciones 8 ó 9, CARACTERIZADO porque los compuestos flavonona son

isoscuroanetina, naringina, hesperidina, eriodictiol, poncirina, neohesperidina o derivados seleccionados a partir de sus formas agliconas, chalconas, glicosiladas o metiladas o sulfatadas y formas glucuronidas, las cuales son producto de sus metabolismos en la sangre.

11. El uso de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, CARACTERIZADO porque el compuesto flavonona se extrae de la pulpa o piel de las frutas cítricas, tal como naranja, limón, naranja amarga o pomelo.

12. El uso de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 8 a 11, CARACTERIZADO porque la composición es una composición cosmética, nutricional o farmacéutica.

13. El uso de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 8 a 12, CARACTERIZADO porque los compuestos flavononas, sus derivados o las mezclas de las mismas se encuentran presentes en una cantidad desde 0,01 mg a 1 g, preferentemente de 0,1 mg a 800 mg de equivalente de aglicono del compuesto flavonona.

21

14. El uso de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 8 a 13, CARACTERIZADO porque los desórdenes de la piel o daños son producidos por el envejecimiento o una situación de estrés, tal como estrés químico, biológico o físico, exposición a oxidantes o agentes cancerígenos, a bacterias, virus, hongos, lípidos derivados de células ambientales y/o microbios, o por exposición a rayos UV.

15. El uso de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 8 a 14, CARACTERIZADO porque la composición está dirigida a mejorar la fotoprotección de la piel, hidratación, sequedad, firmeza, elasticidad, oleosidad, espesor, pigmentación regular, función de barrera, elasticidad de la piel, para prevenir el estatus oxidativo, riesgos de cáncer, la inflamación o la producción o composición de sebo modulado, y/o reducir los indicios o señales del envejecimiento.

16. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 8 a 14, CARACTERIZADO porque la composición está dirigida para mejorar el brillo del cabello y del pelaje, la densidad del cabello, el color, la oleosidad, para aumentar el diámetro de fibra del cabello, la producción de sebo y para prevenir la pérdida del cabello y del pelaje.

## Claims

1. A nutritional, cosmetic or pharmaceutical composition for oral administration, which contains as active ingredient, at least one flavanone compound or its derivatives, or a mixture thereof, in an efficient amount to prevent, alleviate or treat skin, hair and/or coat disorders.
2. A composition according to claim 1, wherein the flavanone compounds is isoscuranetin, naringin, hesperidin, eriodictyol, poncirin, neocercicetin.
3. A composition according to claim 1, wherein the derivatives are the aglycone, chalcone, glycosylated or methylated forms of the flavanone or sulfated and glucuronidated forms which are product of their metabolism in blood.
4. A composition according to claim 1, wherein the derivative is obtained by enzymatic treatment, or synthetically produced.
5. A composition according to any of claims 1 to 4, in which the flavanone compound is extracted from pulp or peel of Citrus fruits such as orange, lemon, bitter orange or grapefruit.
6. A composition according to any of claims 1 to 5, which further contains other active compounds such as vitamin C, vitamin E, carotenoids, ubiquinones, catechins, coffee extracts containing polyphenols and/or diterpenes, extracts of chicory, ginkgo biloba extracts, grape or grape seed extracts rich in proanthocyanidins, spice extracts, soy extracts, other sources of flavonoids with antioxidant activity, fatty acids, prebiotic fibers, probiotic microorganisms, taurine, resveratrol, aminoacids, selenium or precursors of glutathione.
7. A composition according to any of claims 1 to 5, which is milk, yogurt, curd, cheese,

fermented milks, milk based fermented products, ice-creams, milk based powders, infant formulae, cereal products, fermented cereal based products, mineral water, chocolate or pet food, dietary supplement, tablets or cosmetic products.

- 5 8. Use of at least one flavanone compound or its derivatives, or a mixture thereof, as active ingredient for the preparation of a composition intended to prevent, alleviate or treat skin, hair and/or coat disorders or damages.
- 10 9. Use of at least one flavanone compound or its derivatives, or a mixture thereof, as active ingredient for the preparation of a composition intended to improve skin, hair and/or coat conditions when administered to human or pet animal.
- 15 10. The use according to claim 8 or 9, wherein the flavanone compounds is isomauranetin, naringin, hesperidin, eriodictyol, poncirin, neohesperidin or derivatives selected from their aglycone, chalcone, glycosylated or methylated forms or sulfated and glucuronidated forms which are product of their metabolism in blood.
- 20 11. The use according to any of claims 8 to 10, in which the flavanone compound is extracted from pulp or peel of Citrus fruits such as orange, lemon, bitter orange or grapefruit.
12. The use according to any of claims 8 to 11, wherein the composition is a cosmetic, nutritional or pharmaceutical composition.
- 25 13. The use according to any of claims 8 to 12, wherein the flavanone compounds, its derivatives or mixtures thereof is present in an amount of from 0.01 mg to 1g, preferably 0.1 mg to 800 mg of aglycone equivalent of the flavanone compound.
- 30 14. The use according to any of claims 8 to 13, wherein skin disorders or damages are produced by ageing or a stress situation such as chemical, biological or a physical

2A

18

stress, exposure to oxidants or carcinogens, to bacteria, viruses, fungi, lipids derived from surrounding cells and/or microbes, or exposure to UV-irradiation.

- 5 15. The use according to any of claims 8 to 14, in which the composition is intended to improve skin photoprotection, hydration, dryness, firmness, elasticity, oilness, thickness, regular pigmentation, barrier function, skin elasticity, to prevent oxidative status, risks of cancer, inflammation or modulate sebum production or composition, and/or reduce signs of ageing.
- 10 16. The use according to any of claims 8 to 14, in which the composition is intended to improve hair and coat gloss, hair density, color, oilness, to unvellorate hair fibre diameter, sebum production and to prevent hair and coat loss.

2A

# TRATADO DE COOPERACIÓN DE PATENTES PCT

## REPORTE PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE PATENTABILIDAD (Capítulo II del Tratado de Cooperación de Patentes)

(PCT Artículo 36 y Regla 70)

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                   |                                                          |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| <b>Registro de referencia del solicitante o agente</b><br>NO 7702/WO/PCT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | <b>PARA FUTURAS ACCIONES</b> Var Forma PCT/II/EA/416                              |                                                          |
| <b>Solicitud internacional No.</b><br>PCT/EP2004/014416                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | <b>Fecha de registro internacional</b><br>(día/mes/año)<br>17.12.2004             | <b>Fecha de prioridad</b><br>(día/mes/año)<br>18.12.2003 |
| <b>Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o clasificación nacional e IPC</b><br>A61K7/00, A23L1/00, A61K31/352                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                   |                                                          |
| <b>Solicitante</b><br>NESTEC S.A. y col.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                   |                                                          |
| <p>1. Este reporte es el reporte de examen preliminar internacional, establecido por esta Autoridad Examinadora Preliminar Internacional bajo el Artículo 35 y transmitido al solicitante de conformidad con el Artículo 36.</p> <p>2. Este REPORTE consta de un total de 7 hojas, incluyendo esta carátula.</p> <p>3. Este reporte también es acompañado por ANEXOS, que comprenden:</p> <p style="margin-left: 20px;">a. <input type="checkbox"/> (enviado al solicitante y a la Oficina Internacional) un total de    hojas, como sigue:</p> <div style="margin-left: 40px;"> <input type="checkbox"/> hojas de la descripción, reivindicaciones y/o dibujos los cuales han sido modificados y son la base de este reporte y/o hojas que contienen rectificaciones autorizadas por esta Autoridad (ver Regla 70.16 y Sección 607 de las Instrucciones Administrativas).<br/> <input type="checkbox"/> hojas que reemplazan hojas anteriores, pero las cuales esta Autoridad considera que contienen una modificación que va más allá de la revelación en la solicitud internacional como se presentó, como se indicó en el ítem 4 de la Casilla No. I y la Casilla Suplementaria.                 </div> <p style="margin-left: 20px;">b. <input type="checkbox"/> (enviado únicamente a la Oficina Internacional) un total de (indicar tipo y número de medio(s) electrónico(s))    , que contienen un listado de secuencias y/o tablas con ello, únicamente en una forma legible en computador, como se indicó en la Casilla Suplementaria Relacionada con el Listado de Secuencias (ver Sección 802 de las Instrucciones Administrativas).</p> |                                                                                   |                                                          |
| <p>4. Este reporte contiene indicaciones relacionadas con los siguientes ítems:</p> <div style="margin-left: 20px;"> <input checked="" type="checkbox"/> Casilla No. I      Bases del reporte<br/> <input type="checkbox"/> Casilla No. II      Prioridad<br/> <input type="checkbox"/> Casilla No. III      No establecimiento de opinión respecto a novedad, nivel inventivo y aplicabilidad industrial<br/> <input type="checkbox"/> Casilla No. IV      Falta de unidad de invención<br/> <input checked="" type="checkbox"/> Casilla No. V      Afirmación razonada de conformidad con el Artículo 35(2) con respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citaciones y explicaciones que sustentan dicha afirmación<br/> <input type="checkbox"/> Casilla No. VI      Ciertos documentos citados<br/> <input type="checkbox"/> Casilla No. VII      Ciertos defectos en la solicitud internacional<br/> <input checked="" type="checkbox"/> Casilla No. VIII      Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional                 </div>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                   |                                                          |
| <b>Fecha de presentación de la demanda</b><br>25.06.2005                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | <b>Fecha de terminación de este reporte</b><br>07.03.2006                         |                                                          |
| <b>Nombre y dirección de correo de la autoridad examinadora preliminar internacional:</b><br>Oficina de Patentes Europea - Gieseler Str. 103<br>D-10958 Berlin<br>Tel. +49 30 25901 - 0<br>Fax: +49 30 25901 - 840                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | <b>Funcionario autorizado</b><br>Alvarez Alvarez, C<br>Teléfono No. +49 30 25901- |                                                          |

Casilla No. 1 Bases del reporte

1. Respecto al idioma, este reporte se basó en la solicitud internacional en el idioma en el cual fue presentada, a menos que se indique lo contrario según este ítem.

☐ Este reporte se basó en una traducción del idioma original al siguiente idioma \_\_\_\_\_, el cual es el idioma de una traducción suministrada para los propósitos de:

- ☐ búsqueda internacional (según las Reglas 12.3 y 23.1 (b))  
☐ publicación de la solicitud internacional (según la Regla 12.4)  
☐ examen preliminar internacional (según las Reglas 55.2 y/o 55.3)

2. Respecto a los elementos\* de la solicitud internacional, este reporte se basó en (hojas reemplazadas las cuales han sido suministradas a la Oficina receptora en respuesta a una invitación según Artículo 14, son referidas en este reporte como "originalmente presentadas" y no son anexadas a este reporte):

Descripción, Páginas  
1-15 como se presentaron originalmente

Reivindicaciones, Números  
1-16 como se presentaron originalmente

Dibujos, Figuras  
1-4 como se presentaron originalmente

☐ listado de secuencia y/o alguna tabla(s) - ver Casilla Suplementaria en Relación al Listado de Secuencia

3. ☐ Las modificaciones resultaron en la cancelación de:

- ☐ la descripción, páginas  
☐ las reivindicaciones, Nos.  
☐ los dibujos, hojas/figuras  
☐ el listado de secuencia (especificar):  
☐ cualquier tabla(s) relacionada al listado de secuencia (especificar):

4. ☐ Este reporte ha sido establecido como si (alguno de) los anexos modificados a este reporte y numerado antes no ha sido hecho, desde que ellos han sido considerados a través de la presentación original, como esta indicado en la Casilla Suplementaria (Regla 70.2(c)).

- ☐ la descripción, páginas  
☐ las reivindicaciones, Nos.  
☐ los dibujos, hojas/figuras  
☐ el listado de secuencia (especificar):  
☐ alguna tabla(s) relacionada al listado de secuencia (especificar):

\* Si el ítem 4 aplica, algunas o todas de estas hojas pueden ser marcadas "reemplazadas".

**REPORTE PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE  
PATENTABILIDAD**

Solicitud Internacional No. **27**  
PCT/EP2004/014416

**Casilla No. V Afirmación razonada bajo el Artículo 35(2) respecto a novedad, nivel inventivo o aplicabilidad industrial; citaciones y explicaciones que sustentan dicha afirmación**

**1. Afirmación**

|                                      |                             |                   |
|--------------------------------------|-----------------------------|-------------------|
| <b>Novedad (N)</b>                   | <b>Si:</b> Reivindicaciones | <b>3, 4</b>       |
|                                      | <b>No:</b> Reivindicaciones | <b>1, 2, 5-16</b> |
| <b>Nivel Inventivo (IS)</b>          | <b>Si:</b> Reivindicaciones |                   |
|                                      | <b>No:</b> Reivindicaciones | <b>1-16</b>       |
| <b>Aplicabilidad Industrial (IA)</b> | <b>Si:</b> Reivindicaciones | <b>1-16</b>       |
|                                      | <b>No:</b> Reivindicaciones |                   |

**2. Citaciones y explicaciones (Regla 70.7):**

**ver hoja separada**

**Casilla No. VIII Ciertas observaciones sobre la solicitud internacional**

**Son hechas las siguientes observaciones sobre la claridad de las reivindicaciones, descripción, y dibujos o sobre la pregunta si se necesita que las reivindicaciones estén totalmente soportadas por la descripción:**

**ver hoja separada**

**Re ítem V.**

Los documentos (D) siguientes se mencionan en esta comunicación; la enumeración se adherirá en el resto del procedimiento:

D1: DE-A-101 11 045  
D2: EP-A-0 461 827  
D3: US-B-6 365 1991  
D4: US-A1-2003/166583  
D5: EP-A-0 774 249  
D6: BASE DE DATOS WPI, AN 2000-024196 & CN-A-1 229638  
D7: BASE DE DATOS WPI, AN 2002-248238 & JP-A-2002 029975  
D8: BASE DE DATOS WPI, AN 1997-530127 & JP-A-09 252746  
D9: BASE DE DATOS WPI, AN 1988-122604 & JP-A-63 066110

**1. Novedad**

La presente solicitud no cumple el criterio del Artículo 33(1) PCT, porque el asunto-materia de las reivindicaciones 1, 2 y 5-16 no son nuevas en el sentido del Artículo 33(2) PCT.

1.1 D1 revelan el uso de flavanonas en cosméticos tópicos o composiciones dermatológicas para la profilaxis o tratamiento de la piel y desórdenes del cabello y por mejorar las condiciones de la piel y el cabello (véase D1, reivindicaciones 1-4, párrafo [0058]).

El asunto-materia de las reivindicaciones independientes 8 y 9 por consiguiente no es novedad.

Las características técnicas adicionales de las reivindicaciones 10 y 12-16 también serán encontradas en la revelación de D1, como sigue:

- reivindicación 10: hesperidina, naringina (vea D1, reivindicación 11),
- reivindicación 10: eriodictiol-7-glucósido (vea D1, reivindicación 11),
- reivindicación 12: composición cosmética o farmacéutica para aplicación tópica (vea D1, párrafos [0107], [0111]),
- reivindicación 13: compuestos de flavanona en una cantidad desde 0.001 hasta 10% en peso por el peso de la composición total (vea D1, párrafo [0099]),
- reivindicaciones 14-16: se utilizan flavanonas como agentes activos contra el envejecimiento de la piel, para proteger la piel de la radiación UV y de los factores perjudiciales medioambientales, para el tratamiento de la piel seca y desórdenes de la pigmentación y contra la pérdida del cabello (vea D1, párrafo [0058]).

10

El asunto-materia de las reivindicaciones 10 y 12-16 no es por lo tanto novedad.

2.2 D2 revela el uso de flavanonas modificadas y su uso en la profilaxis o tratamiento de desórdenes del cabello y para mejorar las condiciones del mismo (vea D2, reivindicaciones 1, 3 y 13; página 14, renglones 13-19).

El asunto-materia de las reivindicaciones independientes 8 y 9 no es por consiguiente ninguna novedad.

Los rasgos técnicos adicionales de las reivindicaciones 10, 12, 13, 15 y 16 también serán encontrados en la revelación de D2, de la manera siguiente:

- reivindicación 10: alfa-glicosil hesperidina y alfa-glicosil naringina, sintéticamente producidos (vea D2, reivindicación 3; página 10, renglón 51 - página 12, renglón 12),
- reivindicación 12: producto cosmético tópico (vea D2, reivindicación 10),
- reivindicación 13: 0.001-10% por peso de flavanona (vea D2, reivindicación 7; ejemplo 4),
- reivindicaciones 15 y 16: se usan las flavanonas contra la pérdida del cabello, para impartir brillo al cabello, y contra la inflamación (vea D2, ejemplo 4; reivindicación 13; página 14, renglones 13-19).

El asunto-materia de las reivindicaciones 10, 12, 13, 15 y 16 no es por lo tanto una novedad.

2.3 D3 revela un extracto de cáscara de limón que contiene flavanonas, usadas en una fórmula para el crecimiento del cabello (vea D3, reivindicación 1).

El asunto-materia de las cláusulas independientes 8 y 9 no es por consiguiente ninguna novedad.

Los rasgos técnicos adicionales de las reivindicaciones 10-13 y 16 también serán encontrados en la revelación de D3 (vea D3, reivindicación 1; columna 2, renglones 20-35; columna 1, renglones 11 y 34). Por consiguiente el asunto-materia de las reivindicaciones 10-13 y 16 no es novedad.

19

2.4 D4 revela el uso de hesperidina, naringina o poncirina como los agentes activos en las composiciones tópicas contra el cáncer de la piel (vea D4, reivindicaciones 1, 10 y 13). Se revelan las cantidades usadas de estos compuestos en D4, Tablas 1 y 2.

El asunto-materia de las reivindicaciones 8-10, 12 y 15 no es por lo tanto nuevo.

2.5 D5 revela el uso de hesperidina, naringina o eridictiol, como los agentes activos en las composiciones cosméticas contra la piel seca, envejecimiento y arrugas (vea D5, reivindicaciones 1, 6 y 7; ejemplos 6, 8, 10 y 11).

El asunto-materia de las reivindicaciones 8-10 y 12-15 no es por lo tanto nuevo.

2.6 D6 revela una composición de champú antimicrobial para el tratamiento de inflamación y comezón, obtenida de extracto de pomelo y conteniendo naringina y carotina (vea D6, resumen).

El asunto-materia de las reivindicaciones 8-12 y 14-16 no es por lo tanto novedad.

2.7 D7 revela composiciones de comida y bebida, cosméticas y farmacéuticas, que comprenden eriodictiol-7-rutinosida o flavonoides del limón y de la vitamina C, como cosmético secuestrante de radical libre o agentes farmacéuticos activos.

El asunto-materia de las reivindicaciones 1, 2, 5, 6-12 y 14 no es por lo tanto novedoso.

2.8 D8 revela un suplemento alimenticio nutricional para el tratamiento de la calvicie que contiene hesperidina (1%) y vitamina F o catequina.

El asunto-materia de las reivindicaciones 1, 2, 6-10, 12, 13 y 16 por lo tanto no es nuevo.

2.9 D9 revela un producto cosmético que contiene metilhesperidina, útil para prevenir quemaduras del sol y decoloración del cabello.

El asunto-materia de las reivindicaciones 8-10, 12 y 14-16 no es novedoso.

El asunto-materia de las reivindicaciones dependientes 3 y 4 es considerado como nuevo.

33

31

### **3. Actividad Inventiva**

Empezando desde D7 como la técnica anterior más próxima y teniendo en cuenta la revelación de D9, parece que las reivindicaciones dependientes 3, 4 no contienen ninguna característica que, en combinación con las características de cualquier otra reivindicación a la cual ellos se refieren, reúna los requisitos del PCT con respecto de novedad y/o de nivel inventivo (Artículo 33(2) y (3) PCT).

### **Re Ítem VIII.**

Los compuestos referidos en las reivindicaciones 1, 8, 9 y 13 como "derivados de flavanona" no están definidos. Un derivado de una flavanona puede incluso haber perdido la estructura flavanona, como resultado de la reacción de derivación. La expresión "derivado de flavanona" no es aceptable según los requisitos de claridad (Art. 6 PCT).

34

# PATENT COOPERATION TREATY

## PCT

### INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

(Chapter II of the Patent Cooperation Treaty)

(PCT Article 36 and Rule 70)

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                 |                                                                                                                                                                      |  |                     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|---------------------|
| Applicant's or agent's file reference<br><b>NO 7702/WQPCT</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                 | <b>FOR FURTHER ACTION</b>                                                                                                                                            |  | See Form PCT/PEA410 |
| International application No.<br><b>PCT/EP2004/014418</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | International filing date (day/month/year)<br><b>17.12.2004</b> | Priority date (day/month/year)<br><b>18.12.2003</b>                                                                                                                  |  |                     |
| International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC<br><b>A61K7/00, A23L1/00, A61K31/352</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                 |                                                                                                                                                                      |  |                     |
| Applicant<br><b>NESTEC S.A. et al.</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                 |                                                                                                                                                                      |  |                     |
| <p>1. This report is the international preliminary examination report, established by this International Preliminary Examining Authority under Article 35 and transmitted to the applicant according to Article 38.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of 7 sheets, including this cover sheet.</p> <p>3. This report is also accompanied by ANNEXES, comprising:</p> <p>a. <input type="checkbox"/> sent to the applicant and to the International Bureau a total of sheets, as follows:</p> <p><input type="checkbox"/> sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis of this report and/or sheets containing rectifications authorized by this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions).</p> <p><input type="checkbox"/> sheets which supersede earlier sheets, but which this Authority considers contain an amendment that goes beyond the disclosure in the international application as filed, as indicated in item 4 of Box No. I and the Supplemental Box.</p> <p>b. <input type="checkbox"/> (sent to the International Bureau only) a total of (indicate type and number of electronic carrier(s)) , containing a sequence listing and/or tables related thereto, in computer readable form only, as indicated in the Supplemental Box Relating to Sequence Listing (see Section 802 of the Administrative Instructions).</p> |                                                                 |                                                                                                                                                                      |  |                     |
| <p>4. This report contains indications relating to the following items:</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Box No. I Basis of the opinion</p> <p><input type="checkbox"/> Box No. II Priority</p> <p><input type="checkbox"/> Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p><input type="checkbox"/> Box No. IV Lack of unity of invention</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p><input type="checkbox"/> Box No. VI Certain documents cited</p> <p><input type="checkbox"/> Box No. VII Certain defects in the international application</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Box No. VIII Certain observations on the international application</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                 |                                                                                                                                                                      |  |                     |
| Date of submission of the demand<br><b>25.06.2005</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                 | Date of completion of this report<br><b>07.03.2006</b>                                                                                                               |  |                     |
| Name and mailing address of the international preliminary examining authority:<br> <b>European Patent Office - Gluckstr. 100<br/>D-10588 Berlin<br/>Tel. +49 30 25901-0<br/>Fax. +49 30 25901-840</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                 | Authorized Officer<br><b>Alvarez Alvarez, C</b><br>Telephone No. +49 30 25901-  |  |                     |

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT  
ON PATENTABILITY**

International application No.  
PCT/EP2004/014416

**Box No. I Basis of the report**

1. With regard to the language, this report is based on the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.
- ☐ This report is based on translations from the original language into the following language, which is in the language of a translation furnished for the purposes of:
- ☐ international search (under Rules 12.3 and 23.1(b))
  - ☐ publication of the international application (under Rule 12.4)
  - ☒ international preliminary examination (under Rules 55.2 and/or 55.3)
2. With regard to the elements\* of the international application, this report is based on *(replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report)*:

**Description, Pages**

1-15 as originally filed

**Claims, Numbers**

1-16 as originally filed

**Drawings, Figures**

1-4 as originally filed

- ☐ a sequence listing and/or any related table(s) - see Supplemental Box Relating to Sequence Listing

3. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages
- ☐ the claims, Nos.
- ☐ the drawings, sheets/figs
- ☐ the sequence listing (specify):
- ☐ any table(s) related to sequence listing (specify):

4. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments annexed to this report and listed below had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

- ☐ the description, pages
- ☐ the claims, Nos.
- ☐ the drawings, sheets/figs
- ☐ the sequence listing (specify):
- ☐ any table(s) related to sequence listing (specify):

\* If item 4 applies, some or all of these sheets may be marked "superseded."

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT  
ON PATENTABILITY**

International application No.  
PCT/EP2004/014416

**Box No. V Reasoned statement under Article 36(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability: citations and explanations supporting such statement**

**1. Statement**

|                               |             |            |
|-------------------------------|-------------|------------|
| Novelty (N)                   | Yes: Claims | 3, 4       |
|                               | No: Claims  | 1, 2, 5-16 |
| Inventive step (IS)           | Yes: Claims |            |
|                               | No: Claims  | 1-16       |
| Industrial applicability (IA) | Yes: Claims | 1-16       |
|                               | No: Claims  |            |

**2. Citations and explanations (Rule 70.7):**

see separate sheet

**Box No. VIII Certain observations on the international application**

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

see separate sheet

Re Item V.

The following documents (D) are referred to in this communication; the numbering will be adhered to in the rest of the procedure:

D1: DE-A-101 11 045  
D2: EP-A-0 461 827  
D3: US-B-6 365 1991  
D4: US-A1-2003/166583  
D5: EP-A-0 774 249  
D6: DATABASE WPI, AN 2000-024196 & CN-A-1 229 638  
D7: DATABASE WPI, AN 2002-248238 & JP-A-2002 029975  
D8: DATABASE WPI, AN 1997-530127 & JP-A-09 252748  
D9: DATABASE WPI, AN 1988-122604 & JP-A-63 066110

### **1. Novelty**

The present application does not meet the criteria of Article 33(1) PCT, because the subject-matter of claims 1, 2 and 5-16 is not new in the sense of Article 33(2) PCT.

1.1 D1 discloses the use of flavanones in topical cosmetic or dermatological compositions for the prophylaxis or treatment of skin and hair disorders and for improving skin and hair conditions (see D1, claims 1-4, paragraph [0058]).

The subject-matter of independent claims 8 and 9 is therefore not novel.

The additional technical features of claims 10 and 12-16 are also to be found in the disclosure of D1 as follows:

- claim 10: hesperidin, naringin (see D1, claim 11),
- claim 10: eriodictyol-7-glucoside (see D1, claim 11),
- claim 12: cosmetic or pharmaceutical composition for topical application (see D1, paragraphs [0107], [0111]),
- claim 13: flavanone compounds in an amount of from 0.001 to 10 % in weight by weight of the total composition (see D1, paragraph [0089]),
- claims 14-16: flavanones are used as active agents against skin aging, to protect skin

from UV radiation and from environmental damaging factors, for the treatment of dry skin and pigmentation disorders and against hair loss (see D1, paragraph [0058]).

The subject-matter of claims 10 and 12-16 is thus not novel.

2.2 D2 discloses the use of modified flavonones and their use in the prophylaxis or treatment of hair disorders and for improving hair conditions (see D2, claims 1, 3 and 13; page 14, lines 13-19).

The subject-matter of independent claims 8 and 9 is therefore not novel.

The additional technical features of claims 10, 12, 13, 15 and 16 are also to be found in the disclosure of D2 as follows:

- claim 10: alpha-glycosyl hesperidin and alpha-glycosyl naringin, synthetically produced (see D2, claim 3; page 10, line 51 - page 12, line 12),
- claim 12: topical cosmetic product (see D2, claim 10),
- claim 13: 0.001-10% by weight of flavanone (see D2, claim 7; example 4),
- claims 15 and 16: flavanones are used against hair loss, for imparting a gloss to hair and against inflammation (see D2, example 4; claim 13; page 14, lines 13-18).

The subject-matter of claims 10, 12, 13, 15 and 16 is thus not novel.

2.3 D3 discloses an extract from lemon peel containing flavanones used in a hair growth formula (see D3, claim 1).

The subject-matter of independent claims 8 and 9 is therefore not novel.

The additional technical features of claims 10-13 and 16 are also to be found in the disclosure of D3 (see D3, claim 1; column 2, lines 20-35; column 1, lines 11 and 34). Therefore the subject-matter of claims 10-13 and 16 is not novel.

2.4 D4 discloses the use of hesperidin, naringin or poncirin as active agents in topical compositions against skin cancer (see D4, claims 1, 10 and 13). The amounts of these compounds used are disclosed in D4, Tables 1 and 2.

The subject-matter of claims 8-10, 12 and 15 is thus not new.

2.5 D5 discloses the use of hesperidin, naringin or eriodictyol as active agents in cosmetic compositions against dry skin, aging and wrinkles (see D5, claims 1, 6 and 7; examples 8-8, 10 and 11).

The subject-matter of claims 8-10 and 12-15 is thus not new.

2.6 D6 discloses an antimicrobial shampoo composition for the treatment of inflammation and itching made from pomelo extract and containing naringin and carolin (see D6, abstract).

The subject-matter of claims 8-12 and 14-16 is thus not new.

2.7 D7 discloses food and drink, cosmetic and pharmaceutical compositions comprising eriodictyol-7-rutinoside or lemon flavonoids and vitamin C as free radical scavenger cosmetic or pharmaceutical active agents.

The subject-matter of claims 1, 2, 5, 6-12 and 14 is thus not new.

2.8 D8 discloses a nutrition supplement food for the treatment of baldness containing hesperidin (1%) and vitamin E or catechin.

The subject-matter of claims 1, 2, 6-10, 12, 13 and 16 is thus not new.

2.9 D9 discloses a cosmetic product containing methylhesperidin useful for preventing sunburn and hair decolouration.

The subject-matter of claims 8-10, 12 and 14-16 is thus not new.

The subject-matter of dependent claims 3 and 4 is considered as novel.

### **3. Inventive activity**

Starting from D7 as closest prior art and taking into account the disclosure of D9, it seems

that dependent claims 3, 4 do not contain any features which, in combination with the features of any claim to which they refer, meet the requirements of the PCT in respect of novelty and/or inventive step (Article 33(2) and (3) PCT).

**Re item VII.**

The compounds referred in claims 1, 8, 9 and 13 as "flavanone derivatives" are not defined. A derivative of a flavanone can even have lost the flavanone structure as a result of the derivatization reaction. The expression "flavanone derivatives" is not acceptable according to the requirements of clarity (Art. 6 PCT).

## **ANEXO EXPLICATIVO DE MODIFICACIONES A LAS REIVINDICACIONES**

**En ejercicio del derecho conferido por el Artículo 28 numeral 1 del Tratado de Cooperación en materia de Patentes PCT, atentamente me permito informar a ese Despacho que el capítulo reivindicatorio tal como fue presentado originalmente en Fase Internacional ha sido modificado.**

**Las modificaciones realizadas se encuentran plenamente sustentadas en la descripción de la presente invención y en este sentido, no configuran una ampliación del invento o de la divulgación contenida en la solicitud presentada.**

40

**COMPOSICIÓN PARA MEJORAR LA SALUD DE LA PIEL, EL CABELLO Y EL  
PELAJE QUE CONTIENE FLAVONONAS**

**RESUMEN-OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION**

La presente invención se relaciona con una composición para prevenir, disminuir y/o tratar los desórdenes de la piel, el cabello y el pelaje, tal como son producidos por reacciones inflamatorias, factores ambientales, envejecimiento o cáncer. En particular, la presente invención se relaciona al uso de compuestos de flavononas o sus derivados en composiciones nutricionales, cosméticas o farmacéuticas para el mejoramiento de la piel humana o de la piel de los animales mascotas y las condiciones del pelaje.

71

41

**COMPOSICIÓN PARA MEJORAR LA SALUD DE LA PIEL, EL CABELLO Y EL  
PELAJE QUE CONTIENE FLAVONONAS**

**MEMORIA DESCRIPTIVA**

La presente invención se relaciona con una composición para prevenir, disminuir y/o tratar los desórdenes o daños de la piel y del cabello y/o pelaje, tal como es producida por reacciones inflamatorias, factores ambientales, envejecimiento o cáncer. En especial, la presente invención esta relacionada con el uso de compuestos flavononas o sus derivados en composiciones nutricionales, cosméticas o farmacéuticas para la mejoría de las condiciones de la piel humana o de las mascotas animales y las condiciones del pelaje.

**ANTECEDENTES**

El tejido epitelial más prominente en los seres vivos es la piel, la cual representa el órgano más extenso en el organismo. El sistema de integumento de la piel, el cual comprende la epidermis, la dermis y el estrato córneo, está correlacionado con aquellos de los órganos internos y simultáneamente interacciona con los órganos circundantes. Siendo el punto de contacto entre el medio ambiente y el organismo por sí mismo, la piel está fuertemente influenciada por factores externos y también parámetros variables del sistema interno del organismo. Los mecanismos reguladores de la

piel necesitan estar, por lo tanto, siempre activos para inducir los cambios sistemáticos necesarios para mantener circunstancias patológicas normales relacionados con la morfología y actividades del integumento de la piel.

Una gran cantidad de procesos que aseguran el consumo adecuado de afluencia aumentada de sustancias energéticas y plásticas de acuerdo a las necesidades de la piel se convierten en garantes de la estabilidad morfológica y funcional de las estructuras de la piel. De manera que, el estado de los integumentos determina la realización de los procesos metabólicos necesarios para la viabilidad y actividad de las células de la piel conduciendo a la presencia de peculiaridades de la piel sana, tal como la función de barrera, la elasticidad, las propiedades de turgor, humedad, pigmentación, etcétera.

Durante toda la vida de un ser vivo diferentes indicios, característicos del envejecimiento, aparecen en la piel o cabello, con las principales señales o indicios clínicos siendo la aparición de líneas delgadas y profundas arrugas, las cuales aumentan o se resaltan con la edad, la pérdida del cabello, la reducción de la densidad, brillo, color, oleosidad o diámetro de la fibra del cabello, etcétera.

Estos indicios de envejecimiento son incluso estimulados por la exposición de la piel y el cabello a influencias exógenas, tal como por ejemplo, los rayos UV, los contaminantes, los radicales libres o sustancias químicas.

En el arte, se han propuesto varios medios para prevenir efectos destructivos del medio ambiente o del envejecimiento en las células epiteliales de la piel. Por ejemplo, los medios para prevenir el deterioro de la piel o el envejecimiento consiste en proporcionar compuestos que barren los radicales libres. Al respecto, la patente EP 0 761 214 revela singletes que reducen el oxígeno que comprenden derivados de la anilina y derivados de difurfil amino, los cuales se informan para reducir el estrés oxidativo de la piel.

A pesar de que existe una gran diversidad de compuestos activos para mejorar la salud de la piel, del cabello o del pelaje, aún existe la necesidad en el arte de proporcionar compuestos activos nuevos. En especial, un objeto de la presente invención es proporcionar composiciones que puedan ser utilizadas por un largo período de tiempo por humanos o mascotas, y susceptibles de ser suministradas en la forma de un complemento nutricional, por ejemplo una composición nutricional.

#### DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

En un primer aspecto, la presente invención se relaciona a una composición nutricional, cosmética o farmacéutica para humanos o mascotas, la cual contiene como compuesto activo, por lo menos un compuesto flavonona sus derivados, o una mezcla de los mismos, en una cantidad efectiva

AA

para prevenir, tratar o aliviar los desórdenes de la piel, del cabello y/o del pelaje, y mejorar la salud de los mismos.

En otro aspecto, la invención proporciona el uso de por lo menos un flavonona o sus derivados o mezclas de los mismos, como compuesto activo en la preparación de una composición nutricional, cosmética o farmacéutica dirigida para prevenir o tratar los desórdenes de la piel, del cabello y/o del pelaje, de este modo mejorando las condiciones de salud de la piel en humanos o mascotas.

La composición de acuerdo a la presente invención puede estar en la forma de una fórmula nutricional completa, un complemento alimenticio para ser administrado oralmente a un humano o a un animal, o un compuesto para uso farmacéutico.

Administrar una composición alimenticia a un humano o mascota, como se describe anteriormente, resulta en una mejor salud de la piel, por ejemplo en fotoprotección, hidratación, sequedad, firmeza, espesor, elasticidad, oleosidad, pigmentación regular o habitual, inmunidad o salud del cabello y del pelaje, por ejemplo, mejorando la brillosidad del cabello y del pelaje, la densidad del cabello, el color, la oleosidad, mejorando el diámetro de fibra del cabello, la producción de secreción sebácea, la brillosidad y prevención de la pérdida del cabello y del pelaje.

La composición de acuerdo con la presente invención también es administrada a un humano o a un animal para mejorar el estatus antioxidante, la función de barrera, para prevenir o

49

AS

modular el estatus oxidativo, la producción de secreción sebácea o composición o para reducir los indicios del envejecimiento. La misma también contribuye a reducir los riesgos de cáncer o inflamación.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

De acuerdo al primer objeto, la invención proporciona una composición nutricional, cosmética o farmacéutica para la administración oral en humanos o mascotas, la cual contiene como compuesto activo, por lo menos un compuesto flavonona o sus derivados, o una mezcla de los mismos, en una cantidad eficiente para prevenir, tratar o aliviar los desórdenes o daños de la piel, del cabello y/o del pelaje y por lo tanto mejorar la salud de la piel, del cabello o del pelaje.

Los compuestos flavonona de interés son glucósidos naturales que pueden ser encontrados principalmente en frutas del género de los cítricos, tales como por ejemplo, naranja, limón, naranja amarga, pomelo, o en menor medida, en la cáscara de la fruta, pero también en grandes cantidades en la pulpa y por lo tanto también en el jugo de frutas cítricas. Los compuestos de acuerdo con la presente invención pueden ser por ejemplo, isosacuranetina, naringin, hesperidina, o eriodictiol, poncirina, neoriocitrina y sus derivados seleccionados a partir de sus formas agliconas, chalconas, glicosiladas o metiladas. También se utilizan sus formas sulfatadas o sus formas

78

glucuronidas, las cuales se encuentran como producto del metabolismo en la sangre.

En un último aspecto, los derivados se pueden obtener por diversos procesos conocidos en el arte, tal como tratamientos enzimáticos. Por ejemplo, se prepara glucosa-7-hesperetina por tratamiento de amnosidasa o hesperidinasa.

El compuesto flavonona o derivados de acuerdo con la invención pueden estar incluidos en cualquier composición adecuada para administrar la sustancia a un individuo, en particular una composición alimenticia, una composición cosmética o una composición farmacéutica.

En una modalidad preferida, se prepara una composición alimenticia para consumo humano. Esta composición puede ser una fórmula nutricional completa, un producto lácteo, una bebida congelada o una bebida estable en almacenamiento, una sopa, un complemento alimenticio, una comida alternativa, y una barra nutricional o un producto de confitería. La composición puede ser seleccionada a partir del grupo que consiste de leche o productos de leche fermentados, tal como por ejemplo, yogurt, leche cuajada, queso, productos fermentados en base a leche, helados, polvos en base a leche, fórmulas para infantes, productos cereales y productos en base a cereales fermentados, bebidas, agua mineral, chocolate o alimentos para mascotas que contienen por lo menos un compuesto flavonona o uno de sus derivados. El complemento nutricional

para la administración oral puede estar en la forma de cápsulas, cápsulas blandas, tabletas, pasta o pastillas, gomas de mascar, o soluciones para beber o emulsiones. Los métodos para preparar las mismas son de conocimiento corriente.

Como se describe anteriormente, los compuestos flavononas se encuentran de manera natural en las frutas cítricas, en especial en naranjas, limones y pomelos, en su cáscara o pulpa. En consecuencia, en un primer aspecto, la composición nutricional puede estar en la forma de un jugo de las mencionadas frutas o en la forma de un concentrado. De este modo, la composición nutricional puede estar en la forma de cualquier producto alimenticio, en particular cualquier bebida, jugo cítrico o cualquier otro extracto de la cáscara o pulpa de las frutas cítricas.

En otra modalidad, un producto alimenticio habitual puede estar enriquecido con los flavononas, preferentemente en la forma de extracto cítrico. Por ejemplo, una leche fermentada, un yogurt, un queso fresco, leche cuajada, un producto de confitería en barra, barras o copos de cereales para el desayuno, bebidas, leche en polvo, productos en base a soya, productos fermentados no-lácteos o complementos nutricionales para la nutrición clínica. En particular, un procedimiento para preparar un extracto enriquecido en flavononas, en particular hesperidina, a partir de naranja y limón se describe en las patentes U.S. No 2.400.693 y U.S. 2.442.110, respectivamente.

43

De acuerdo a otro aspecto, los compuestos flavonoides a ser incluidos en la memoria descriptiva pueden ser elaborados sintéticamente.

Una composición nutricional de acuerdo a la presente invención puede comprender los compuestos flavonoides, sus derivados o mezclas de los mismos en una cantidad adaptada a una administración oral diaria, y a partir de alrededor de 0,01 mg a 1 g, preferentemente a partir de alrededor de 0,1 mg a 800 mg, más preferentemente a partir de 10 mg a 800 mg del equivalente aglicónico del compuesto flavonoides.

Los flavonoides de acuerdo a la invención pueden ser utilizados ya sea solos o en relación con otros compuestos activos tal como vitamina C, vitamina E (tocoferoles y tocotrienoles), carotenoides (carotenos, licopenos, luteína, zeaxantina, beta-criptoxantina, etcétera) ubiquinonas (por ejemplo, CoQ10), catequinas (por ejemplo, epigallocatequinas galato), extractos de café que contienen polifenoles y/ diterpenos (por ejemplo, kawneol y cafestol), extractos de achicoria, extractos de ginkgo biloba, uva o extractos de semilla de uva ricos en proantocianidín, extractos de especies (por ejemplo, romero), extractos de soya que contienen isoflavones y fitoestrógenos relacionados y otras fuentes de flavonoides con actividad antioxidante, ácidos grasos, por ejemplo, ácidos grasos n-3, fibras prebióticas, microorganismos probióticos, taurina, resveratrol, aminoácidos, selenio y los precursores del glutatión, por ejemplo.

En otra modalidad, una composición farmacéutica puede ser administrada para tratamientos profilácticos y/o terapéuticos. En las aplicaciones terapéuticas, las composiciones son administradas a un paciente que ya sufre de una enfermedad, como se describe aquí a continuación, en una cantidad suficiente para curar o al menos parcialmente detener los síntomas de la enfermedad y sus complicaciones. Una cantidad adecuada para lograr lo mencionado, se define como "una dosis terapéuticamente efectiva". Las cantidades efectivas para esto, dependerán de la gravedad de la enfermedad y el peso y el estado general del paciente.

En aplicaciones profilácticas, las composiciones de acuerdo a la invención son administradas a un paciente susceptible de, o por lo demás, en riesgo de contraer una enfermedad particular. Tal cantidad es definida como "una dosis profiláctica efectiva". En este uso, las cantidades exactas otra vez dependerán del estado de salud y peso del paciente. Preferentemente, la composición farmacéutica para humanos, de acuerdo a la presente invención, comprende una cantidad de compuestos flavonona, sus derivados o mezclas de los mismos como se describen anteriormente, para una administración diaria desde alrededor de 0,01 mg a 500 mg. Cuando la dosis es administrada diariamente a las mascotas, la composición comprende desde 1 mg a 500 mg del equivalente de aglicono de los compuestos flavonona.

30

Los compuestos de la invención son administrados preferentemente con un vehículo farmacéutico aceptable, en donde la naturaleza del vehículo difiere con el modo de administración, por ejemplo, por vía parenteral, intravenosa, oral y tópica (incluyendo la vía oftálmica).

Será apreciado que la persona experta, seleccionará a los componentes apropiados y la forma farmacéutica objetivo en el compuesto activo de la piel o cabello tomando en cuenta la vía de administración, la cual puede ser por medio de un inyectable, aplicación tópica, administración intranasal, administración por sistema de desprendimiento sostenido implantado o transdérmico y similares, basado en su propio conocimiento.

La sustancia del objetivo también puede estar formulada en un producto cosmético, tal como lociones, shampoo, cremas, filtros solares, cremas para después del afeitado, bloqueador solar, cremas anti-arrugas, y/o pomadas o ungüentos. Se apreciará que los productos cosméticos contendrán una mezcla de diferentes ingredientes conocidos para el experto en el arte, asegurando una rápida penetración de la sustancia en la piel y previniendo la degradación de estos durante su almacenamiento.

Deberá entenderse que el concepto de la presente invención puede de la misma manera ser aplicado como una terapia adyuvante para asistir en medicamentos utilizados actualmente. Debido que los compuestos de la presente invención

51

pueden ser fácilmente administrados en conjunto con materiales alimenticios, se puede aplicar en la alimentación clínica conteniendo una alta cantidad de sustancias objetivas. Quedará claro que al leer la presente memoria descriptiva en conjunto con las reivindicaciones adjuntas, la persona experta en el arte planteará una diversidad de diferentes alternativas a las modalidades específicas mencionadas aquí.

En principio, los compuestos de acuerdo con la presente invención pueden ser utilizados para el tratamiento y/o prevención de daños en la piel, los cuales son producidos por una situación de estrés, por ejemplo, por medio de un estrés químico, biológico o físico, por ejemplo, por medio de la exposición a oxidantes o agentes cancerígenos, la exposición a bacterias, virus, hongos, lípidos derivados a partir de células ambientales y/o microbios, o la exposición a rayos UV.

En consecuencia, las sustancias y/o composiciones de acuerdo con la presente invención pueden ser utilizados para tratar y/o prevenir daños a la piel, en particular, daño actínico y daño por envejecimiento de la piel, tales como sequedad, queratosis actínica, pigmentación irregular, (particularmente comprendiendo pecosidad, lentiginas, hipomelanosis guttata, e hiperpigmentación persistente), arrugado, en particular comprendiendo líneas delgadas superficiales y profundas arrugas o surcos), pseudocicatrices stellata, elastosis, falta de elasticidad, telangiectasia, lagos venosos, púrpura, comedones, hiperplasia sebácea,

acrocordón, angiodema, seborrea queratosis, lentigo, carcinoma de célula basal y carcinoma de célula squamous, quemado de la piel y/o ampollado, hiperplasia epidérmica, inflamación, supresión inmune y cáncer, por ejemplo, cánceres de piel, no-melanoma y melanoma. También tienen beneficios especiales en el cabello y en el pelaje, tal como el aumento en la densidad del cabello o pelaje, en el diámetro de la fibra, en el color, en la oleosidad, en el lustre, en la producción de secreción sebácea y en la ayuda para prevenir la pérdida del pelo del pelaje.

El efecto de un complemento alimenticio en los compuestos flavonoides o sus derivados de acuerdo a la presente invención, en la piel de los humanos o en las mascotas, puede ser medida por medio de la utilización de métodos convencionales que incluyen dosis eritemal mínima (MED), colorimetría, pérdida de agua transepidermal, reparación del ADN, (e.g.p.53), medición de interleuquinas y producción de proteoglicanos o actividad colagenasa, función de barrera renovación de células.

Los siguientes ejemplos ilustran la invención de forma más detallada sin limitar la misma, Ellos se encuentran precedidos por una breve descripción de las figuras.

Figura 1: Se incubaron células HaCat con 10  $\mu$ M esperetina (hp, barras rojas) o con 10  $\mu$ M esperetina-7-O-glucorónido (hp-7-O-gluc, barras amarillas) o cantidades iguales de DMSO como controlador (barras azules) y tratado con o sin menadiona

durante 5 horas adicionales. El sobrenadante fue analizado con dehidrogenasa lactato (LDH) la actividad y los resultados se expresaron en relación con las células que fueron lisada con tritición X100 antes del análisis (100% de muerte).

Figura 2: Cuadro que representa la estructura experimental del proceso de crecimiento de hesperidina.

Figura 3: Análisis histopatológico de piel de rata suplementada con hesperidina, secciones de 6 µm de parafina fueron desgrasadas, teñidas con hematoxilina/eosina y montada. Imágenes representativas magnificadas dos veces se muestran para el grupo de control (A and D) y los grupos suplementados con hesperidina (0,1%; B y E, 0,5% C y F).

La figura 4: muestra un análisis PCR en tiempo real del RNA total aislado de piel de rata alimentada ya sea con una dieta de control (ctrl.) o una dieta suplementada con hesperidina (0,1%Hp, 0,5%Hp) para la expresión de Cdlil e interleucina 6 (IL-6). Se analizaron muestras en tres depósitos que contienen 4 ratas cada uno y se obtuvo los valores Ct mostrados para CD1d1 en A y IL-6 en B. Los puntos representan los promedios de los triplicados técnicos, las barras del promedio por grupo. En C se muestra la cantidad de cambios en relación a la expresión complementaria comparada de la dieta de control y en relación con el gen guardián. La dieta de control fue fijada multiplicándola por 1 y se representa por una línea gruesa. Intervalos de confianza fueron calculados usando ANOVA.

### **EJEMPLO 1**

#### **Agua mineral complementada con flavonona**

El agua mineral se prepara por medio de la adición de hesperetina-7-glucosa en una cantidad de 0,01 mg a 200 mg por litro, estimando que el consumo promedio es de alrededor de 1 litro por día.

### **EJEMPLO 2**

#### **Cosméticos para administración oral**

Una composición en la forma de una cápsula dura tiene la siguiente formulación:

| Compuesto                               | mg por cápsula |
|-----------------------------------------|----------------|
| Hesperidina (equivalente de hespertina) | 250            |
| Excipiente del núcleo                   |                |
| Celulosa microcristalina                | 70             |
| Encompress "                            | 60             |
| Estearato de magnesio                   | 3              |
| Sílice coloidal anhidro                 | 1              |
| Agente de recubrimiento                 |                |
| Goma laca                               | 5              |
| Talco                                   | 61             |
| Sacarosa                                | 250            |
| Polividona                              | 6              |
| Dióxido de titanio                      | 0,3            |
| Agente de coloración                    | 5              |

La composición puede ser administrada al individuo en una cantidad de 2 a 3 cápsulas diarias.

### **EJEMPLO 3**

#### **Alimento enlatado para mascotas y complemento**

65

Se prepara una mezcla a partir de 73% de restos de pulmones de cerdo e hígado de vacuno, 16% de harina de trigo, 7% de agua, 2% de colorante, saborizantes, vitaminas y sales inorgánicas. Esta mezcla se emulsiona a 12°C y es extruida en la forma de un budín, el cual es luego horneado a una temperatura de 90°C. Se enfría a 30°C y se corta en trozos. El 45% de los trozos son mezclados con 55% de una salsa preparada a partir de 98% de agua, 1% de colorante y 1% de goma guar. Los tarros de hojalata se llenan y se esterilizan a 125°C durante 40 minutos.

Se proporciona un envoltorio adicional en forma de sobrecito o bolsita con 50 mg de equivalente de hesperetina, en la forma de un extracto cítrico, como un complemento para ser mezclado con el alimento para mascota antes de ser servido. Este se proporciona como un complemento de remoción agregado a la lata, junto con las instrucciones de alimentación.

#### EJEMPLO 4

##### Alimento funcional (en buen estado)

Se prepara un complemento alimenticio al mezclar fructooligosacáridos con inulina en las proporciones por peso de alrededor de 70% de fructooligosacáridos hasta alrededor de 30% de inulina y agregando 500 mg de equivalente de hesperetina. La mezcla de prebiótico resultante fue agregada o mezclada con cualquier vehículo adecuado, por ejemplo leche fermentada, un yogurt, un queso fresco, leche cuajada, una

40

barra de producto de confitería, barras o copos de cereales para el desayuno, una bebida, leche en polvo, productos en base a soya, productos fermentados no-lácteos o un complemento nutricional para nutrición clínica.

#### EJEMPLO 5

##### 1.- Materiales y Métodos

##### 1.1. Ensayo de citotoxicidad.

Se incubaron queratinocitos humanos inmortalizados (HaCaT) con 10  $\mu$ M hesperetina, 10  $\mu$ M hesperetina-7-O-glucorónido o cantidades iguales de DMSO como un control negativo durante 16 horas y 1 hora antes de realizar el desafío. Luego se trataron las células con 100  $\mu$ M menadiona, un xenobiótico el cual genera a especies de oxígeno reactivo intracelularmente. Luego se emplearan las células no tratadas con menadiona como control positivo.

Después de transcurridos 5 horas se analizó la fracción sobrenadante en relación a actividad de lactate dehidrogenasa (LDH) como una medición de la muerte celular, usando el ensayo de citotoxicidad no-reactivo Cyto Tox 96 (Promega; USA).

##### 1.2. Muestras de piel

Se obtuvieron biopsias de piel de ratón del ensayo de crecimiento con heperidina (Fig. 2). Se extrajo piel dorsal, fijando una parte en 4% PFA y se incorporó en parafina, una

57

parte se crió-preservó y otra parte se congeló inmediatamente en nitrógeno líquido.

### 1.3. Histología

#### 1.3.1 Secciones en parafina (cortes)

Se disectó la piel de ratón y se fijó durante 4 días en 4% paraformaldehído en PBS (pH 7,4) a 4°C y se incluyó en parafina, utilizando un aparato incorporador Leica Microsysteme. Los tejidos con PBS y solución salina (0,9 % NaCl) y se deshidrataron haciéndolos pasar a través de soluciones salinas con concentraciones crecientes de etanol: 30 minutos cada uno en 30%, 60%, 70%, 90%, 99% y 100% y otra hora en 100%. Se incubaron dos veces las muestras de tejido durante 30 minutos en xileno, seguido por incubaciones 2-3h y 3h en una parafina a 60°C.

Se cortaron secciones de parafina de 6 micrómetros de espesor con ayuda de un Micrótopo Leica. Los cortes se lavaron durante 5 minutos en xileno para eliminar la cera y se deshidrataron haciéndolos pasar a través de una serie de soluciones con concentraciones decrecientes de etanol, 1 minuto cada uno en 100%, 96%, 90%, 80%, 70% y 50% etanol. Finalmente, ellos se transfirieron al agua destilada y se tiñeron.

#### 1.3.2 Tinción con hematoxilina/eosina.

Los cortes hidratados se tiñeron durante 45 segundos en una solución de hematoxilina de Mayer, siendo enjugados con

la serie de soluciones durante 1 minuto cada una: agua potable, agua destilada y 70% etanol. Después de tener durante 10 segundos en soluciones de eosina (1%(v/v) en 90% de etanol) se lavaron los cortes en etanol de 90% y 100%. Después de incubarlos dos veces durante 10 minutos, se colocaron tapas deslizantes con ayuda de Eukit y se secaron con aire durante 2 horas a temperatura ambiente.

#### 1.4. Métodos de ARN.

##### 1.4.1. Indicaciones generales para trabajar con el ARN.

En las experiencias con ARN se usaron frascos de vidrio o de material plástico esterilizado (180°C durante por lo menos 8 horas). Todas las superficies se limpiaron con Rnase ZAP antes del uso, incluyendo las pipetas, siendo usados solamente puentes resistentes al aerosol.

##### 1.4.2. Equipos

Sistema de Detección de Secuencia ABI Prism (MR), Applied Biosystems, EEUU;

Software ABI Prism (MR) 7000 RT-PCR, Applied Biosystems, EEUU;

PCR ciclizador, por ejemplo, Controlador Térmico Programable PTC-100, MJ Research Inc, EEUU.

Bioanalizador Agilent 2100, Agilent Technologies, EEUU.

5

Lector fluorescente de Placas, por ejemplo, Spectra Fluor Plus F 129005, Tecan, EEUU.

Multifuga 3S, Heraeus, con canastillos especiales para la centrifugación MFC, Kendro Laboratory Products, Suiza,

Centrifuga Refrigerante, por ejemplo, Centrifuga 541 R, Eppendorf, Alemania;

#### 1.4.3. Reactivos

Kit de AMN Totally (Artículo No. 1910), Ambion, EEUU.

Matriz de Lisis D (Artículo No. 6913-100), Q Biogene, Francia.

Nano Ensayo ARN 6000 (Artículo No. 5065-4475 y 5065-4476), Agilent Technologies, EEUU.

Assays-on-demand (stock 20 x, Applied Biosystems EEUU),

RNase ZAP (Artículo No. 9780), Ambion, EEUU.

Nuclease libre de agua (ddH<sub>2</sub>O, Artículo 9939), Ambion, EEUU.

Agua filtrada Milli-Q (0,22 micro M, 6d H<sub>2</sub>O),

Etanol, Gr para análisis (Artículo No. 02860), Fluka (NRC autoservicio).

Exclusión salina tamponada con fosfato Dulbecco (PBS, Artículo No. D 8537), Sigma (NRC autoservicio).

Beta-mercapto etanol (Artículo No. M7522), Sigma EEUU).

Kit de cuantificación ARN RiboGreen (Artículo No. R-11490), Molecular Probes, EEUU.

Inhibidor SUPERase-in RNase (20 U/microl, Artículo No. 2694), Ambion, EEUU;

Super Script II RNase H transcriptasa inversa (200 U/microl, Artículo No. 18064-014), Invitrogen, EEUU,

Tampón Primera-hebra (5X) 250 mM Ba Cl, 0,1 mM EDTA, 1 mM DTT, 0,1% (v/v) NP-40, 50% (v/v), glicerol inducido mediante transcriptasa inversa Super Script II RNase H<sup>+</sup>,

Ditiotreitol (DTT, 1 mM), inducido con transcriptasa inversa Super Script II RNase H<sup>+</sup>,

2'- Deoxidencosin-5'-trifosfato (dATP, 100 mM, Artículo No. 272050), Amersham Biosciences, Inglaterra,

2'- Deoxicitidine-5'-trifosfato (dCTP, 100 mM, Artículo No. 272060), Amersham Biosciences, Inglaterra,

2'- Deoxiguanosina-5'-trifosfato (dGTP, 100 mM, Artículo No. 272070), Amersham Biosciences, Inglaterra,

2'- Deoxitimidina-5'-trifosfato (dTTP, 100 mM, Artículo No. 272080), Amersham Biosciences, Inglaterra,

Hexómero aleatorio pd (N)<sub>6</sub> (Artículo No. 27-2166-01), Amersham Biosciences, Inglaterra,

Mezcla Maestra TaqMan Universal PCR (Artículo No. PN4304437), Applied Biosystems, EEUU.

| Nombre del gen                         | Símbolo del gen | Secuencia de referencia | Ensayo de identificación |
|----------------------------------------|-----------------|-------------------------|--------------------------|
| Interleucina 6                         | IL6             | NM_012589               | Rn00561420 m1            |
| Antígeno CD1d1                         | CD1d1           | NM_017079               | Rn 00567162 m1           |
| Antígeno celular proliferación nuclear | Pcna            | NM_022381               | Rn00574296_g1            |
| Gliceraldehído-3-fosfato-dehidrogenasa | Gapd            | NM_017008               | Rn99999916_s1            |

Tabla 1:

Ensayos-ordenados empleados (Assay ID), incluyendo los nombres de los genes, símbolos de los genes y secuencias de referencia.

#### 1.4.4 Extracción del ARN

Se homogenizaron muestras de piel mediante Lysing Matriz D, extrayendo los ARN totales usando el Kit Totally ARN, siguiendo las instrucciones del fabricante. El ARN se eluyó con 40 microlitros de agua libre de nucleasa.

#### Cuantificado del ARN

El cuantificado se realizó mediante el kit de cuantificado del ARN Ribogreen (MR) en placas de 96 pocillos y un lector de fluorescencia de microplacas de acuerdo al manual de instrucción. Las mediciones se realizaron un duplicado. Las muestras se diluyeron en la proporción de 1:680 ó 1:3400 en un volumen final de 100 microlitros de tampón lysis. Se utilizó como estándar diluciones del ARN ribosomal en una concentración de 1, 0.5, 0.1, 0.02, 0 microg/ml.

62

La integridad de 1 microlitro de ARN se controló usando el Ensayo ARN Nano 6000.

#### 1.4.6. Transcripción inversa (reversa)

Todas las manipulaciones se efectuaron sobre hielo.

Se incorporaron 2 microlitros de los hexámeros aleatorios pd(N)<sub>6</sub> y 1 microlitro de NTP (10 mM) a 2 microgramos de ARN en agua libre de nucleasa en un volumen final de 12 microlitros. Después de 5 minutos de incubación a 65°C, se colocaron las muestras inmediatamente sobre hielo y se centrifugaron rápidamente. Entonces se incorporaron 4 microlitros del tampón 5 x primera fibra, 2 microlitros de ditiotricitol, 1 microlitro de inhibidor RNasa y 1 microlitro de la transcriptasa inversa Super Script II RNase H<sup>-</sup>, determinando un volumen final de 20 microlitros. La reacción de transcripción inversa se realizó en un ciclizador PCR, aplicando el siguiente programa de temperatura: activación de la enzima: 10 minutos a 25°C; reacción de la transcripción inversa: 60 minutos a 42°C; inhibición de la enzima: 20 minutos a 70°C. Las muestras se mantuvieron luego en el congelador a la temperatura de -20°C hasta el uso posterior.

#### 1.4.7. Reacción de cadena polimerasa en tiempo real.

La PCR en tiempo real se desarrolló de acuerdo al método TaqMan (MR) en placas de 96 pocillos (96 WF) usando el cebador ensayos por demanda y sondas. Los análisis se hicieron

6

en triplicad , empleando una mezcla maestra (3,5x) que contenía 437 microl TaqMan (MR) 2x mezcla maestra de la PCR Universal, 4,4 microlitros cebadores ensayos por demanda y sondas, 21,9 microlitros agua libre de nucleasa y 17,5 microlitros cADN (87,5 ng = 25 ng por réplica). Los triplicados de los 25 microlitros de mezcla de muestra se colocan en una placa de reacción ABI Prism con 96 pocillos, cubierta con un adhesivo transporte ópticamente y se centrifugaron tres veces a 2000 rpm durante 1 minuto o hasta haber eliminado las burbujas de aire. A continuación se desarrolló la reacción de PCR en el Sistema de Detección de Secuencia ABI PRISM (MR) 7000, aplicando el siguiente programa de temperatura: activación de la enzima: 2 minutos a 50°C; desnaturalizado: 10 minutos a 95°C y 40 ciclos de amplificación del objetivo: 15 segundo de condensación a 95°C y 1 minuto de extensión a 60°C. El análisis de los gráficos de amplificación se efectuó empleando ajustes de la línea base o de referencia mediante el software o programa ABI PRISM (MR) en forma individual (116: 15-25, Cdid1; 10-20, Pcnal: 15-25, Gapd: 6-15), minutos se fijaron manualmente los umbrales en 0,2 para todos lo cebadores. Los valores Ct resultantes fueron exportados a un Excel Microsoft para el análisis adicional.

#### 1.4.8 Análisis Estadístico

Los datos fueron analizados por medio de ANOVA

## 2. Resultados y Discusión

Las experiencias in vitro empleando queratinocitos inmortalizados (HaCat) demostraron que el tratamiento con hesperetina (hp) y hesperetina-7-O-glucoronido/hp-7-O-gluc) reduce la muerte celular bajo condiciones normales de cultivo. El efecto protector de la hesperetina (hp) y del hp-7-O-glucoronido fue aún más pronunciado en aquellas células sometidas a un desafío con menadiona, un xenobiótico que permite aumentar niveles intracelular de las especies de oxígeno reactivo (ROS). Además, el hp-7-O-gluc, el principal metabolito de la hesperetina en la sangre, pareciera ser más potente en comparación con la hp el aglicono (ver figura 1).

El efecto protector de la hesperetina se investigó adicionalmente en un ensayo animal interventional, empleando ratones wislar hembras. Después del período de amamantado se distribuyeron los ratones aleatoriamente en 3 grupos de 12 animales cada uno y se alimentaron ya sea con una dieta de control o con una dieta suplementada con hesperetina, aplicando dos dosis diferentes (0,19 y 0,5%). A la edad de 12 semanas se purifican los ratones y se emplean muestras de tipo de piel para estudios histológicos de piel y análisis de mRNA (ver figura 2). El análisis histopatológico de la piel reveló un número reducido de células inflamadas en aquellos animales alimentados con la dieta portadora de hesperetina.

En la Figura 3 se muestran imágenes representativas (3A + D(control) vs. 3B + E (0,1% hesperetina) versus 3C + F

6

(hesperetina)). Estas observaciones histológicas se pudieran confirmar a nivel de mRNA. Los ratones alimentados con 0,5% hesperetina presentaron niveles significativamente reducidos de IL-6, una citoquina inflamatoria (Figura 4A + C). Adicionalmente los niveles mRNA CD1d1 fueron reducidos significativamente en ambos grupos suplementados con hesperetina (Figura 4B + C).

Estos datos demuestran claramente las propiedades citoprotectoras y antiinflamatorias de la hesperetina administrada oralmente para la piel.

## REIVINDICACIONES

1. Una composición nutricional, cosmética o farmacéutica para la administración oral CARACTERIZADA porque contiene como ingrediente activo, por lo menos un compuesto flavonona o sus derivados, o una mezcla de los mismos, en una cantidad efectiva para prevenir, aliviar o tratar los desórdenes de la piel, del pelo y/o del pelaje.

2. Una composición de acuerdo a la reivindicación 1, CARACTERIZADA porque los compuestos flavonona son isosacuranetina, naringin, hesperidina, eriodictiol, poncirina y neriocitrina.

3. Una composición de acuerdo a la reivindicación 1, CARACTERIZADA porque los derivados son las formas de agliconas, chalconas, las formas glicosiladas o metiladas de flavonona o formas sulfatadas o glucuronidas, las cuales son producto del metabolismo en la sangre.

4. Una composición de acuerdo a la reivindicación 1, CARACTERIZADA porque el derivado es obtenido por tratamiento enzimático o elaborado sintéticamente.

5. Una composición de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, CARACTERIZADA porque el compuesto flavonona se extrae de la pulpa o cáscara de las frutas cítricas, tal como naranja, limón, naranja amarga o pomelo.

6. Una composición de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, CARACTERIZADA porque además contiene otros compuestos activos tal como vitamina C, vitamina E, carotenoides, ubiquinones, catequinas, extractos de café que contienen polifenoles y/o diterpenos, extractos de achicoria, extractos de ginkgo biloba, uva o extractos de semilla de uva ricos en proantocianidin, extractos de especias, extractos de soya, otras fuentes de flavonoides con actividad antioxidante, ácidos grasos, fibras prebióticas, microorganismos prebióticos, taurina, resveratrol, aminoácidos, selenio o precursores de glutathione.

7. Una composición de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, CARACTERIZADA porque es leche, yogurt,

68

cuajada, queso, leches fermentadas, productos fermentados en base a leche, helados, polvos en base a leche, fórmulas para infantes, productos de cereales, productos en base a cereales fermentados, agua mineral, chocolate o alimentos para mascotas, complementos alimenticios, tabletas o productos cosméticos para su aplicación tópica.

Fig. 1

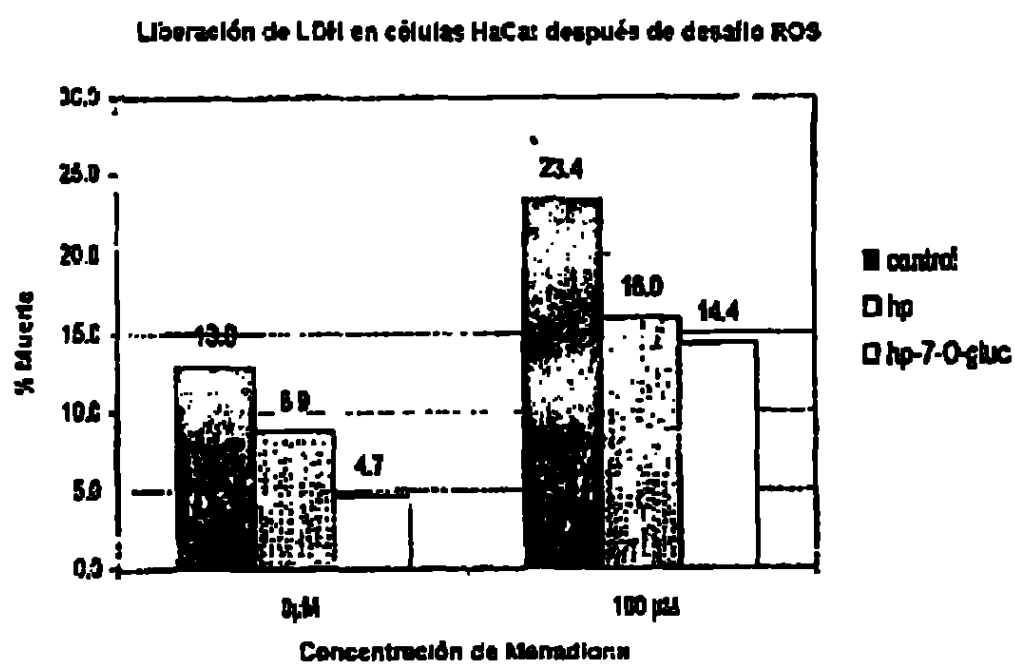
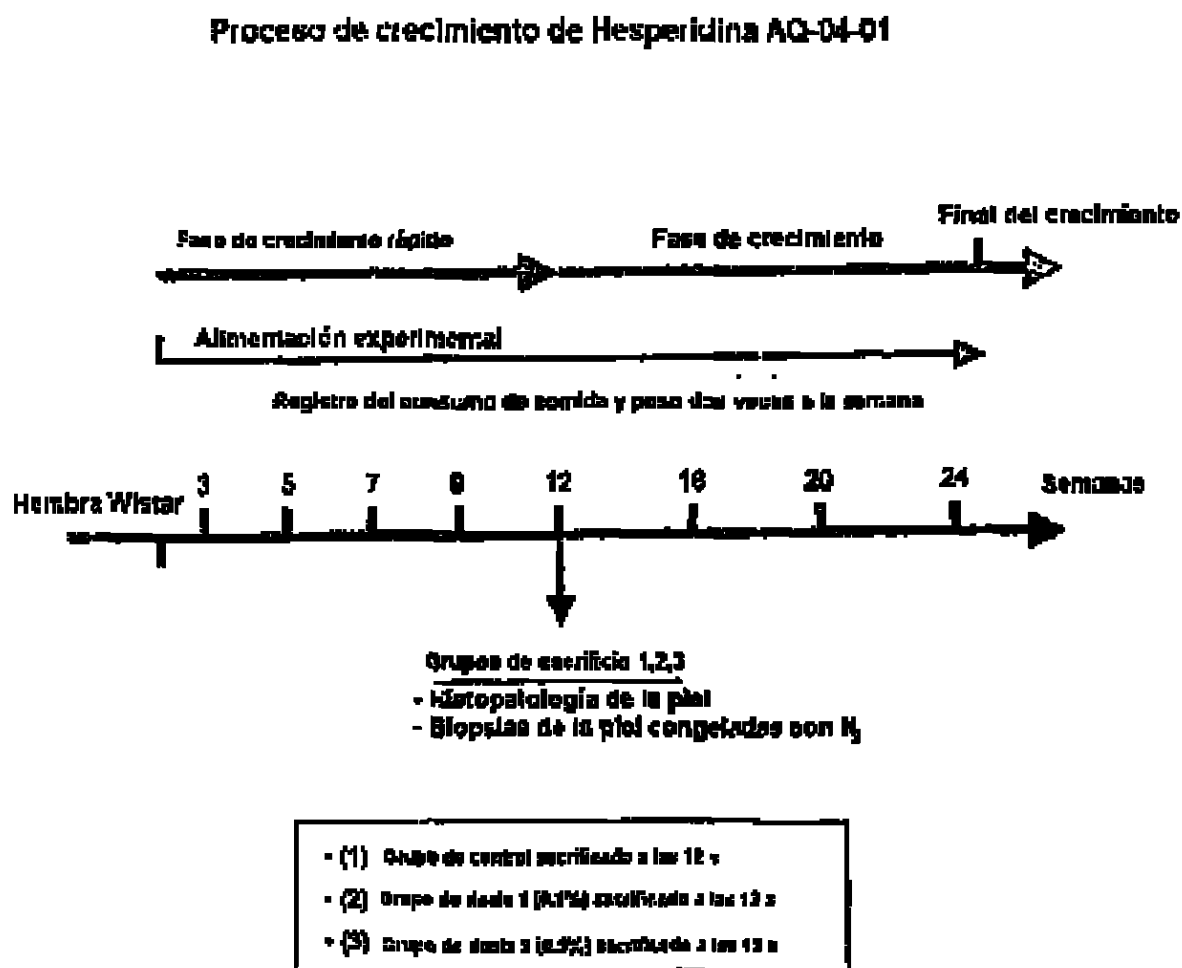


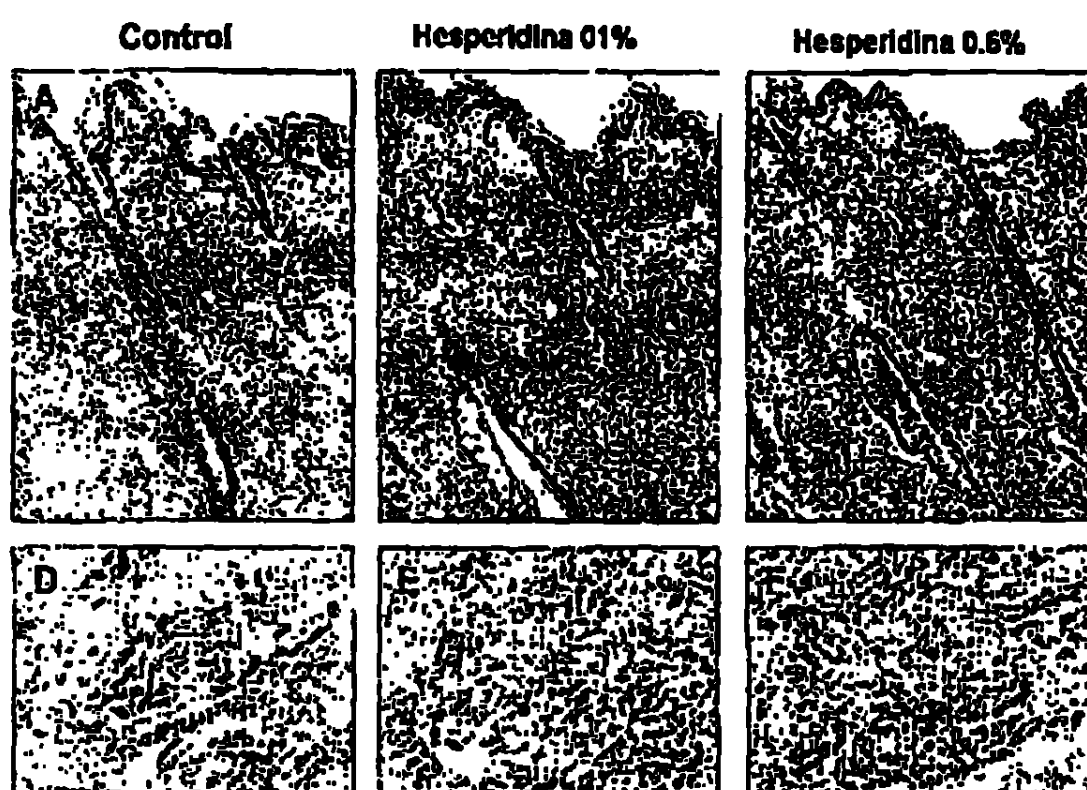
Fig. 2



21

3/4

Fig. 3



70

72

Fig. 4

