

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 438 640**

21 Número de solicitud: 201231111

51 Int. Cl.:

**A61K 35/16** (2006.01)

**A61K 8/97** (2006.01)

**A61K 8/98** (2006.01)

**A61P 17/02** (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A2

22 Fecha de presentación:

**16.07.2012**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**17.01.2014**

71 Solicitantes:

**LABORATORIOS MIRAMON, S.L. (100.0%)**  
**Parque Tecnológico de Miramón,**

**A]\_Y YH[ ]+/%3°**

**20009 Donostia - San Sebastián (Gipuzkoa) ES**

72 Inventor/es:

**EGILEGOR IRAGORRI, Eider y**  
**ZAPATA MARTÍNEZ, José Miguel**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

54 Título: **COMPOSICIÓN PARA LA REGENERACIÓN Y REPARACIÓN DE LA PIEL**

57 Resumen:

La composición comprende como componente A una mezcla de compuestos liberados de plaquetas (MCLP) obtenido mediante un procedimiento que comprende la lisis de plaquetas presentes en una fracción de plasma enriquecido en plaquetas obtenida a partir de sangre de un sujeto y como componente B un compuesto emoliente o cicatrizante. La invención incluye composiciones farmacéuticas y cosméticas y sus aplicaciones en la curación de heridas y la bioestimulación de fibroblastos y en la regeneración de la piel y mejora del aspecto, tersura y elasticidad de la piel.

**ES 2 438 640 A2**

## DESCRIPCIÓN

## COMPOSICIÓN PARA LA REGENERACIÓN Y REPARACIÓN DE LA PIEL

## 5 CAMPO TÉCNICO DE LA INVENCION

La presente invención se encuadra dentro del campo de la regeneración y reparación de tejido biológico, particularmente de agentes regenerativos que estimulan el crecimiento celular y de tejidos para el tratamiento de alteraciones en la continuidad de la piel, y, en particular, de alteraciones que requieren la regeneración de la piel  
10 tales como el envejecimiento, quemaduras, heridas y similar.

## ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La cicatrización de heridas es un proceso complejo y dinámico. Una vez que la herida comienza a cicatrizar normalmente el proceso se completa con el cierre completo de la herida. Sin embargo el cierre de heridas agudas y crónicas puede verse afectado por diversos factores, algunos derivados del paciente y otros de la herida.  
15

Métodos habituales para el tratamiento de heridas en humanos y animales implican la curación o eliminación de los tejidos muertos o infectados, desinfección usando desinfectantes basados en yodo o en peróxido de hidrógeno y tratamiento con antibióticos (local o sistémico, en forma de polvo, crema o aerosol). Por último, con el fin de evitar el endurecimiento de la piel y la formación de costra, se aplican gasas impregnadas en humectantes grasos tales como vaselina, aceites de silicona o glicerol. El recubrimiento de la herida con una gasa estéril se lleva a cabo no sólo para impedir la exposición de la herida a agentes infecciosos sino también para recoger el exudado y las secreciones de la herida.  
20  
25

El tratamiento de heridas de forma tópica se lleva a cabo hoy en día mediante el uso de bacitracina, gentamicina, kanamicina, tetraciclina, oxitetraciclina, meclociclina, polimixina, nitrofurazona, sulfadiazina, ácido fusídico y similares. De hecho, existe una gran demanda de nuevos y superiores agentes promotores de la cicatrización de  
30 heridas.

Las plaquetas desempeñan un papel primordial en la cicatrización de las heridas, ya que estos fragmentos citoplásmicos además de poseer propiedades hemostáticas (Hartwig e Italiano 2003 *J Thromb Haemost* 1, 1580-1586) también poseen propiedades proinflamatorias, reguladoras (Mannaioni y col 1997 *Inflamm Res* 46, 4-18) y acciones regenerativas, las cuales están mediadas por la interacción con células (neutrófilos y células endoteliales) y por la liberación de factores de crecimiento, quimiocinas y otras moléculas (Anitua y col 2004 *Thromb Haemost* 91, 4-15).  
35

Las plaquetas de los mamíferos contienen tres tipos de gránulos: lisosomales, densos y alfa ( $\alpha$ ) (Mannaioni y col 1997 *Inflamm Res* 46, 4-18, Pelagalli y col 2002 *J Comp Pathol* 127, 126-132). Los gránulos lisosomales contienen hidrolasas ácidas, guanina, fosfolipasas y quinasas, que actúan como enzimas proteolíticas e hidrolíticas (Tablin 2000 *Schalman's Veterinary Hematology*). Los gránulos densos almacenan ATP, ADP, calcio, fósforo y serotonina. El ADP induce la migración plaquetaria y en combinación con la serotonina produce la contracción de las arterias lesionadas. El ATP antagoniza la acción del ADP (Pelagalli y col 2002 *J Comp Pathol* 127, 126-132). Los gránulos  $\alpha$  contienen varias moléculas (citocinas, quimiocinas, factores de crecimiento, entre otras), algunas específicas para las plaquetas (por ejemplo: factor plaquetario 4 y  $\beta$ -tromboglobulina) y otras que no son específicas para ellas, tales como la albúmina, condroitín 4-sulfato, fibrinógeno, fibronectina, trombospondina, factor V, factor Va y factor von Willebrand (Mannaioni y col 1997 *Inflamm Res* 46, 4-18), Anitua y col 2004 (*Thromb Haemost* 91, 4-15). Estas proteínas son importantes para todas las funciones plaquetarias, tales como la formación y crecimiento de trombos, modulación inflamatoria y la síntesis de matriz extracelular (ECM) durante la cicatrización de heridas (Gentry 2000 *Schalman's Veterinary Hematology*. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, USA, Pp 459 466). Los gránulos  $\alpha$  almacenan numerosos factores de crecimiento directamente implicados en la cicatrización de las heridas, entre ellos: factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF- $\beta_1$ ), TGF- $\beta_2$ , factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-I) y factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) (Anitua y col 2005 *Orthop Res* 23, 281-286, Weibrich y col 2005 *Int J Oral Maxillofac Implants* 29, 118-123).  
40  
45  
50  
55

En el documento de Carmona JU. et al (Arch Med Vet 1-10 (2011)) se resumen las técnicas utilizadas hasta el momento para preparar plasma rico en plaquetas para uso en cicatrización de heridas. Destacan el sistema de aféresis que tiene bajo riesgo de contaminación bacteriana durante la preparación pero requiere alta tecnología y personal experimentado así como gran volumen de sangre. Los sistemas semiautomáticos (buffy coat) permiten concentrar un elevado número de plaquetas y factores de crecimiento y el riesgo de contaminación bacteriana es menor, pero concentran un elevado número de leucocitos, lo que podría ser perjudicial para los tejidos tratados, y  
60

además son métodos costosos. Los métodos manuales (tubo) son sencillos y baratos, pero requieren un estricto manejo aséptico para evitar la contaminación bacteriana.

5 Todas estas formas de obtener composiciones con plasma rico en plaquetas tienen la desventaja añadida de que contienen plaquetas enteras o fragmentadas, por lo que están presentes sitios de histocompatibilidad de las membranas, y por tanto pueden resultar en un problema de inmunocompatibilidad.

10 Existe por tanto la necesidad de desarrollar composiciones libre de los sitios de histocompatibilidad de las membranas de las plaquetas que de manera segura y rápida faciliten la regeneración tisular.

## COMPENDIO DE LA INVENCION

15 Los autores de la presente invención han desarrollado una composición que comprende una mezcla de compuestos liberados de plaquetas (MCLP) y un compuesto seleccionado de la Tabla 1 que mediante ensayos "Wound healing" y análisis de la regeneración celular (Ejemplo 3) han demostrado su utilidad en la activación de las principales células que componen la piel.

La invención se refiere en un primer aspecto a una composición que comprende:

- 20 (i) un componente A, en donde dicho componente A comprende al menos dos compuestos seleccionados del grupo formado por EGF, VEGF, FGF y PDGF, y carece de TGF-β1 o contiene TGF-β1 inactivo; y  
(ii) un componente B.

25 En otro aspecto la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una cantidad farmacéuticamente eficaz de la composición de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

30 En otro aspecto, la invención se refiere a una composición cosmética que comprende una cantidad cosméticamente eficaz de la composición de la invención y un vehículo cosméticamente aceptable.

En otro aspecto, la invención se relaciona con el uso de la composición de la invención en la elaboración de un medicamento para la curación de heridas.

35 En otro aspecto, la invención se relaciona con el uso de una composición de la invención en la elaboración de un medicamento para la bioestimulación de fibroblastos.

En otro aspecto, la invención se relaciona con un método cosmético de regeneración de la piel que comprende la administración a un individuo de la composición de la invención.

40 En otro aspecto, la invención se relaciona con un método cosmético para mejorar el aspecto, tersura y elasticidad de la piel que comprende la administración a un individuo de una composición cosmética de la invención.

## BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

45 **Figura 1.** Fotografías de queratinocitos HaCaT (A) y fibroblastos humanos primarios (B), en cultivo, confluentes al 40% aproximadamente.

50 **Figura 2.** Fotografías de queratinocitos HaCaT (A) y fibroblastos humanos primarios (B), en cultivo, confluentes al 90% aproximadamente.

55 **Figura 3.** Esquema de la realización de heridas, por triplicado, en cada uno de los pocillos que contenían las células. Después de lavar, se añadieron los tratamientos correspondientes: control, sin tratamiento; AV 10%, medio de cultivo con Aloe vera al 10%; MCLP 5%, medio de cultivo con MCLP 5% y Mezcla, MCLP al 5% + medio de cultivo con Aloe vera 10%. Para más información véase el Ejemplo 2, apartado 2.2.

**Figura 4.** Fotografías que muestran que la morfología celular entre los grupos control (A), Aloe vera (B), MCLP (c) y Carbómero (D) es idéntica. Sin embargo, se observa una intensa vacuolización del citoplasma en el grupo TEA (E).

60 **Figura 5.** Gráficas de proliferación (superior) de fibroblastos humanos al ser tratados con diferentes concentraciones de Aloe vera y MCLP. Gráfica de mortalidad de fibroblastos (inferior) al ser tratados con distintas cantidades de TEA.

**Figura 6.** Gráfica de proliferación celular de queratinocitos HaCaT, al ser tratados con diferentes concentraciones de Aloe vera y MCLP.

**Figura 7.** Ensayo de cierre de herida o "Wound Healing". Queratinocitos HaCaT, 48h tras tratamiento (superior) y fibroblastos humanos primarios, 24h tras tratamiento (inferior). A, D, Tratamiento con Aloe vera 10%; B, E, Tratamiento con MCLP 5%; C, F, Tratamiento con la Mezcla MCLP 5% y Aloe vera 10%. Se observan los espacios de las heridas hechas artificialmente, invadidos por las células. A las 24h/48h se observa con claridad que el tratamiento más eficaz es la mezcla de ambos productos.

**Figura 8.** Gráficas que muestran los resultados de cuantificación de la regeneración celular, mediante "Wound Healing", de fibroblastos humanos (superior) y queratinocitos HaCaT sometidos a distintos tratamientos. En ambos tipos celulares se observa una mayor regeneración celular cuando las células son sometidas al tratamiento con Mezcla de Aloe vera y MCLP.

## DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Los autores de la presente invención han desarrollado una composición que comprende factores liberados de plaquetas y un compuesto seleccionado de la Tabla 1 que mediante ensayos "Wound healing" y análisis de regeneración celular (Ejemplo 3) han demostrado su utilidad en la cicatrización de heridas.

### COMPOSICIONES DE LA INVENCION

En un primer aspecto, la invención se refiere a una composición, en adelante composición de la invención, que comprende:

- (i) un componente A, en donde dicho componente A comprende al menos dos compuestos seleccionados del grupo formado por EGF, VEGF, FGF y PDGF, y carece de TGF- $\beta$ 1 o contiene TGF- $\beta$ 1 inactivo; y
- (ii) un componente B.

El componente A de la composición de la invención comprende al menos dos compuestos del grupo formado por EGF, VEGF, FGF y PDGF, por ejemplo 2, 3 ó 4.

En una realización particular, la composición de la invención comprende al menos dos compuestos del grupo formado por EGF, VEGF, FGF y PDGF, por ejemplo comprende al menos EGF y VEGF o EGF y FGF o EGF y PDGF o VEGF y FGF o VEGF y PDGF o FGF y PDGF. En otra realización particular la composición de la invención comprende al menos tres compuestos del grupo formado por EGF, VEGF, FGF y PDGF, por ejemplo comprende al menos EGF y VEGF y FGF o EGF y VEGF y PDGF o EGF y FGF y PDGF o VEGF y FGF y PDGF.

Por "EGF" o "factor de crecimiento epidérmico", según se emplea en la presente invención se entiende al compuesto con capacidad mitogénica sobre una amplia variedad de células epiteliales, hepatocitos y fibroblastos. Esta actividad es importante en la regeneración de la piel y la cicatrización de heridas, situación en la que los macrófagos, los queratinocitos y otras células inflamatorias que migran a la zona dañada segregan EGF, que se distribuye ampliamente en secreciones tisulares y fluidos. La secuencia de EGF en caballo corresponde a la secuencia Q28867 en la base de datos Uniprot fecha 1 de Marzo de 2012.

Por "VEGF" o "factor de crecimiento endotelial vascular" según se usa en la presente invención se refiere a una proteína señalizadora implicada en vasculogénesis y en la angiogénesis. VEGF incluye las proteínas homodiméricas VEGF-A (que es la que se designa normalmente al hablar de VEGF), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D y PlGF (placental growth factor). La secuencia de VEGF en caballo corresponde a la secuencia Q8SPL5 en la base de datos Uniprot fecha 1 de Marzo de 2012.

Por "FGF" o "factor de crecimiento de fibroblastos" según se usa en la presente invención se refiere a una proteína que aumenta el índice de actividad mitótica y síntesis de ADN facilitando la proliferación de varias células precursoras, como el condroblasto, colagenoblasto, osteoblasto, etc... que forman el tejido fibroso, de unión y soporte del cuerpo. Esta familia de factores de crecimiento la componen más de 20 miembros. La secuencia de FGF en caballo corresponde a la secuencia Q8WMP4 en la base de datos Uniprot fecha 1 de Marzo de 2012.

Por "PDGF" o "factor de crecimiento derivado de plaquetas" a una proteína que regula el crecimiento celular y la división celular.

El componente A de la composición de la invención carece de TGF- $\beta$ 1 o contiene TGF- $\beta$ 1 inactivo.

Por "TGF- $\beta$ 1" se refiere al factor de crecimiento transformante beta 1 o TGFB1, proteína perteneciente a la superfamilia de factores de crecimiento transformante beta de las citoquinas con número de acceso O19011 en la base de datos Uniprot a fecha 1 de Marzo de 2012.

5 Que "carece de TGF- $\beta$ 1" según se usa en la presente invención se refiere a que TGF- $\beta$ 1 está presente en el componente A en menos de 10.000 pg/ml, preferiblemente en menos de 8.000 pg/ml, más preferiblemente en menos de 6.000 pg/ml, más preferiblemente en menos de 1.000 pg/ml, más preferiblemente en menos de 500 pg/ml, más preferiblemente en menos de 100 pg/ml, más preferiblemente menos de 50 pg/ml o más preferiblemente en menos de 10 pg/ml.

10 Por "TGF- $\beta$ 1 inactivo" se refiere a dicha proteína (TGF- $\beta$ 1) incapaz de ejercer su acción fisiológica, entre ellas control del crecimiento celular, proliferación celular, procesos de diferenciación y apoptosis.

15 El que la composición de la invención presente TGF- $\beta$ 1 inactivo o carezca de TGF- $\beta$ 1, tiene la ventaja de que durante el proceso de cicatrización, se produce una menor cicatriz en comparación con una composición que contiene TGF- $\beta$ 1 activo.

20 Cuando se produce la coagulación de las plaquetas con trombina en la reacción de liberación, como en el proceso Knighton, el proceso de coagulación produce la activación de TGF- $\beta$ 1. Por tanto, preferiblemente la lisis de las plaquetas se lleva a cabo mediante la adición de cloruro de calcio de manera que el TGF- $\beta$ 1 se encuentre en una forma inactiva.

25 Además, la presencia de alfa 2 macroglobulina en la composición es importante porque, tal y como se discute en O'Connor-McCourt y Wakefield (J Biol Chem. 1987; 262:14090-9), es un agente potente de unión a TGF- $\beta$ 1, manteniéndolo es su forma inactiva.

30 En una realización particular, la composición de la presente invención contiene TGF- $\beta$ 1 inactivo; resultante de la lisis de plaquetas, y alfa 2 macroglobulina del suero, que actúa secuestrando el TGF- $\beta$ 1 que podría activarse espontáneamente por ejemplo por la formación accidental de coágulo o por la activación debida a un ambiente ácido en el lugar de aplicación.

35 En composiciones alternativas, la composición puede contener otros agentes que bloqueen el efecto fisiológico de TGF- $\beta$ 1, tal como por ejemplo decorina (proteoglicano con número de acceso P07585 en la base de datos Uniprot a fecha 1 de Marzo de 2012) o puede ser tratada para extraer TGF- $\beta$ 1 de la composición, por ejemplo y sin limitar, mediante el paso de la composición a través de una columna de afinidad apropiada. Dicha columna puede contener moléculas a las cuales se une el TGF- $\beta$ 1, por ejemplo el receptor de TGF- $\beta$ 1. Para analizar si en una composición existe TGF- $\beta$ 1 inactivo, es posible realizar diversos ensayos conocidos en el estado de la técnica para analizar la actividad de TGF- $\beta$ 1, entre ellos el ensayo inmunoenzimático ligado a enzimas o ELISA. El anticuerpo que se emplea en el ELISA detecta sólo el TGF- $\beta$ 1 en estado libre o activo, para lo que las muestras han de ser previamente activadas en medio ácido. El TGF  $\beta$  inactivo denominado pro-TGF- $\beta$ 1 consiste en una porción de 25 kD, un Precursor S TGFB de 75 kD y unidos ambos fragmentos a un portador de 135 kD (Barnard JA. et al., Biochem Biophys Acta 1990;1032:79-87).

45 En una realización particular, el componente A de la composición de la invención comprende EGF en una concentración comprendida entre 1 y 200 pg/ml y VEGF en una concentración comprendida entre 1 y 1000 pg/ml.

50 En otra realización particular el componente A comprende FGF en una concentración comprendida entre 1 y 1.200 pg/ml y PDGF en una concentración comprendida entre 1 y 10.000 pg/ml.

En otra realización particular el componente A es MCLP.

55 Por "MCLP", según se emplea en la presente invención, se refiere a una mezcla de compuestos liberados por plaquetas suspendido en medio plasmático.

Por "compuestos liberados por plaquetas", según se emplea en la presente invención, se entienden los compuestos presentes en los gránulos de almacenamiento y en el citosol de las plaquetas obtenidos tras la lisis de las plaquetas.

60 La composición de la invención comprende los productos contenidos en los gránulos alfa, cuerpos densos y citosol, pero es deficiente en al menos uno de los materiales liberados durante la reacción de liberación de las plaquetas: TGF- $\beta$ 1 activo.

65 En una realización particular, dicho MCLP comprende además suero. En otra realización particular, dicho MCLP es el líquido resultante tras la coagulación de la sangre total.

En otra realización adicional, el MCLP se obtiene mediante un procedimiento que comprende las etapas de:

- a) dividir en dos fracciones A y B una cantidad de sangre total de un sujeto,
- b) permitir la formación del coágulo de la fracción A y separar el coágulo del suero, descartando el coágulo y reservando el suero,
- c) anticoagular la fracción B con una cantidad de anticoagulante,
- d) separar la fracción B anticoagulada procedente de la etapa c) en una fracción celular que contiene principalmente células rojas y leucocitos y una fracción de plasma enriquecido en plaquetas que comprende una pluralidad de plaquetas, descartar la fracción celular y reservar la fracción de plasma enriquecido en plaquetas,
- e) combinar la fracción de plasma enriquecido en plaquetas y suero procedente de la fracción A para obtener una mezcla,
- f) inducir la lisis de la pluralidad de plaquetas de la fracción del plasma enriquecido en plaquetas para obtener una fracción de plasma enriquecido en plaquetas que contiene plaquetas lisadas comprendiendo productos almacenados en estructuras de las plaquetas, citosol y fragmentos estructurales de las plaquetas y suero procedente de la fracción A, y
- g) eliminar los fragmentos estructurales de las plaquetas presentes en dicha mezcla.

El proceso de obtención de MCLP comprende separar en dos fracciones A y B una cantidad de sangre total de un sujeto. Dicha separación se puede obtener en el momento de la extracción de la sangre, realizándose en dos bolsas de sangre diferentes, una bolsa sin anticoagulante (para la obtención de la fracción A) y bolsa precargadas con anticoagulante (para la obtención de la fracción B). A continuación se permite la formación del coágulo de la fracción A y se separa el coágulo del suero, descartando el coágulo y reservando el suero. En una realización particular, para permitir la formación del coágulo se incuba a 37°C. En otra realización particular la separación del coágulo se lleva a cabo mediante centrifugación, por ejemplo a 1.400 g durante 15 minutos. En otra realización particular, el suero se obtiene a partir de sangre anticoagulada añadiendo cloruro de calcio e incubando a 37°C.

Para la obtención de plasma enriquecido en plaquetas, la fracción B de sangre total se anticoagula con una cantidad de anticoagulante. En una realización particular la extracción de sangre puede realizarse directamente en bolsas con anticoagulante para obtener la fracción B. En una realización particular, el anticoagulante es CPDA-1 (citrate-fosfato-dextrosa-adenina). En otra realización particular, dicha bolsa se mantiene en agitación continua para evitar la coagulación de la sangre. A continuación, se separa la fracción B en una fracción celular que contiene principalmente células rojas y leucocitos y una fracción de plasma enriquecido en plaquetas. En una realización particular, la separación de la fracción B de sangre total se lleva a cabo tras la homogenización y centrifugación a baja velocidad. En una realización particular adicional, la centrifugación a baja velocidad se lleva a cabo a 200 g durante 20 minutos.

A continuación, se combina la fracción de suero y de plasma enriquecido en plaquetas. En una realización particular la mezcla de fracción de plasma enriquecido en plaquetas y suero se lleva a cabo en una relación 1:2 (v:v).

A continuación, se induce la lisis de la pluralidad de plaquetas de la fracción del plasma enriquecido en plaquetas. En una realización particular la inducción de la lisis de las plaquetas se lleva a cabo con cloruro de calcio, más particularmente con cloruro de calcio a una concentración final de 22,5 mM y su incubación a 37°C durante al menos 1 hora, preferiblemente 90 minutos.

Por último se eliminan los fragmentos estructurales de las plaquetas presentes en la mezcla. En otra realización particular, la eliminación de los fragmentos estructurales de las plaquetas en la mezcla se lleva a cabo mediante centrifugación a alta velocidad, más particularmente a 9.000 g durante 30 minutos.

En otra realización particular, la eliminación de los fragmentos estructurales de las plaquetas en la mezcla se lleva a cabo mediante filtración, más particularmente mediante filtros de baja adsorción proteica de tamaño de poro de 0,2 µm o inferior.

Por "fragmentos estructurales", según se emplea en la presente invención, se refiere a los sistema de membranas de la célula, entre ellos a la membrana celular, membranas de otros orgánulos entre ellos retículo endoplásmico liso o rugoso, ribosomas, aparato de Golgi, lisosomas, vacuolas, microcuerpos como peroxisomas, mitocondrias y a elementos del citoesqueleto, entre ellos microtúbulos, microfilamentos.

La MCLP tiene una variada composición en factores de crecimiento por lo que permite aportar a la piel o mucosa, mediante una única aplicación, cualquier factor necesario para la activación de diferentes tipos celulares implicados en la regeneración de la piel o mucosa.

5 La MCLP carece de fragmentos estructurales, entre ellos membranas celulares incluso de pequeño tamaño, por lo que no están presentes fragmentos potencialmente inmunogénicos al carecer de membranas que posean el complejo mayor de histocompatibilidad. Ensayos para analizar si la composición de la invención es no-inmunogénica son ampliamente conocidos en el estado de la técnica, entre ellos destacan las pruebas cutáneas de hipersensibilidad.

10 Por "suero", según se emplea en la presente invención se refiere al suero sanguíneo o suero hemático, componente de la sangre resultante tras permitir la coagulación de ésta y eliminar el coagulo resultante. Es equivalente al plasma sanguíneo, pero sin las proteínas involucradas en la coagulación. Preferiblemente, el suero de la composición comprende alfa 2 macroglobulina.

15 Por "alfa 2 macroglobulina" según se emplea en la presente invención se refiere a la proteína, que en humanos corresponde a la secuencia con número de acceso P01023 en la base de datos Uniprot a fecha 1 de Marzo de 2012, que funciona como anticoagulante y activa el factor estimulante de melanocitos promoviendo la proliferación celular.

20 Por "sujeto" según se refiere en la presente invención se refiere a un individuo mamífero, de cualquier especie por ejemplo, sin limitar seres humanos, vacas, caballos, perros y gatos. En una realización particular el sujeto es un caballo.

25 Por "sangre" según se emplea en la presente invención se refiere a un tipo de tejido conjuntivo especializado, con una matriz coloidal líquida y una constitución compleja. Tiene una fase sólida (elementos formes, que incluye a los glóbulos blancos, los glóbulos rojos y las plaquetas) y una fase líquida, representada por el plasma sanguíneo.

En una realización particular, la sangre procede de un mamífero, de cualquier especie; ejemplos ilustrativos, no limitativos, incluyen equinos, por ejemplo, caballos, etc.

30 En otra realización particular el componente A de la composición de la invención es no autólogo. Por "no autólogo" según se usa en la presente invención se refiere a que no procede del mismo sujeto al que se le va a administrar para sus usos según la presente invención.

35 Por "componente B" de la composición de la invención según se emplea en la presente invención se refiere a cualquier compuesto de la Tabla 1 o cualquier combinación de los mismos. Entre dichos compuestos se incluye además cualquier componente aceptado por la agencia española del medicamento.

Funcionalidad de los componentes	Componentes (INCI)
Emoliente	ALOE BARBADENSIS (ALOE VERA), CAMELINA SATIVA OIL, CAPRYLIC/CAPRIC GLYCERIDES, CETYL CAPRYLATE, COCONUT ACID, COENZYME A, DECYL MYRISTATE, HYDROGENATED JOJOBA OIL, ISOPROPYL JOJOBATE, ISOPROPYL LAURATE, LANOLIN, ROSA MOSCHATA OIL, CALENDULA OFFICINALIS, CHAMOMILLA RECUTITA WATER, EQUISETUM ARVENSE EXTRACT, PEG-6 ALMOND GLYCERIDES, CERA ALBA, PARAFFIN, ISOPROPYL MYRISTATE, AVENA SATIVA EXTRACT, BUTYROSPERMUM PARKII BUTTER, ARNICA MONTANA EXTRACT.
Abrasivo	ALUMINA, HYDROGENATED JOJOBA OIL, KAOLIN, LIGNUM POWDER, LUFFA CYLINDRICA, PRUNUS ARMENIACA SEED POWDER, PUMICE, PYRUS CYDONIA SEED, SESAMUM INDICUM SEED, SILICA, ALUMINUM SILICATE, AVENA SATIVA BRAN, PRUNUS PERSICA SEED POWDER, LUTEUM OVI POWDER.
Absorbente	AVENA SATIVA PROTEIN, CALAMINE, CELLULOSE, KAOLIN, TALC, ALUMINUM SILICATE, SILICA, ZEA MAYS STARCH, ZEOLITE, BENTONITE, MONTMORILLONITE.
Antiagregante	KAOLIN, ALUMINUM MYRISTATE, ALUMINUM STEARATE, SILICA, TRICALCIUM PHOSPHATE, ZINC SULFATE.
Anticorrosivo	NITROMETHANE, POTASSIUM SILICATE, SODIUM NITRITE, SODIUM SILICATE.

ES 2 438 640 A2

Anticaspa	ALLIUM CEPA EXTRACT, CLOTRIMAZOLE, SELENIUM SULFIDE, SODIUM SHALE OIL SULFONATE, SULFUR, ARNICA MONTANA, SALVIA OFFICINALIS EXTRACT.
Antiespumante	HEXAHYDROHEXAMETHYL CYCLOPENTABENZOPYRAN, PROPYL ALCOHOL, SIMETHICONE, DIMETHICONE, ISOPROPYL ALCOHOL.
Antimicrobiano	CLOFLUCARBAN, CLOTRIMAZOLE, EUPHRASIA OFFICINALIS, HYDROGEN PEROXIDE, ISODECYLPARABEN, MANDELIC ACID, ARNICA MONTANA, BORIC ACID, EUCALYPTUS GLOBULUS EXTRACT, POTASSIUM IODIDE.
Antioxidante	CHITOSAN ASCORBATE, HYDROQUINONE, KOJIC ACID, TOCOPHEROL, SUPEROXIDE DISMUTASE, UBIQUINONE, ACETYL CYSTEINE, ALLANTOIN ASCORBATE, ASCORBIC ACID, BHA, BHT, CYSTEINE, TOCOPHERYL SUCCINATE.
Antitranspirante	SALVIA OFFICINALIS EXTRACT, SODIUM ALUM, ALUMINUM CITRATE, ALUMINUM SULFATE, POTASSIUM ALUM, ALUMINUM BROMOHYDRATE, ALUMINUM CHLORIDE.
Antiplaca	CETYLAMINE HYDROFLUORIDE, MAGNESIUM FLUORIDE, OCTADECENYL-MMONIUM FLUORIDE, POTASSIUM MONOFLUOROPHOSPHATE.
Antiseborreico	POPULUS NIGRA EXTRACT, QUERCUS EXTRACT, SULFUR, ARCTIUM LAPPA EXTRACT, BIOTIN, CARBOCYSTEINE, PINUS SYLVESTRIS CONE EXTRACT, PROPOLIS, RHUS GLABRA EXTRACT.
Antiestático	ACETAMIDE MEA, ACETUM, ALANINE, ISOSTEARAMIDOPROPYL DIMETHYLAMINE LACTATE, ISOSTEARAMIDOPROPYL MORPHOLINE LACTATE, LANOLIN, POLYETHYLENE.
Astringente	ACACIA CATECHU, ACACIA FARNESIANA EXTRACT, EUPHRASIA OFFICINALIS, QUERCUS EXTRACT, SALVIA OFFICINALIS EXTRACT, URTICA DIOICA EXTRACT, AESCULUS HIPPOCASTANUM EXTRACT, CIMICIFUGA RACEMOSA EXTRACT, ROSA MOSCHATA OIL.
Aglutinante	AGAR, ALGIN, ISOPROPYL LAURATE, DEXTRAN, ETHYLCELLULOSE, HYDROXYBUTYL METHYLCELLULOSE, HYDROXYPROPYL GUAR, ISOPROPYL ISOSTEARATE, ISOPROPYL LAURATE, OZOKERITE, C1-5 ALKYL GALACTOMANNAN,
Blanqueante	HYDROQUINONE, STRONTIUM PEROXIDE, TAED, AMMONIUM PERSULFATE, ARCTOSTAPHYLOS UVA URSI EXTRACT.
Tamponante	AMMONIUM HYDROXIDE, AZELAIC ACID, CITRIC ACID, DIAMMONIUM CITRATE, DIETHYLAMINE, DISODIUM PHOSPHATE, LACTIC ACID, TRIETHANOLAMINE, GLYCOLIC ACID, SODIUM HYDROXIDE., AMINOMETHYL PROPANEDIOL.
Voluminador	CELLULOSE, CHITIN, KAOLIN, LUFFA CYLINDRICA, TALC, ZINC OXIDE, AVENA SATIVA BRAN, ORYZA SATIVA BRAN, POTASSIUM SULFATE, ZINC BOROSILICATE.
Quelante	CITRIC ACID, DIAMMONIUM CITRATE, DIPOTASSIUM EDTA, EDTA, CALCIUM DISODIUM EDTA, DIETHYL OXALATE, DIISOPROPYL OXALATE, GLUCURONIC ACID.
Limpiador	LANETH-20, LAURETH-7 CITRATE, LAURIC ACID, POTASSIUM PEANUTATE, SAPONINS, ISOSTEARIC ACID, JUGLANS REGIA LEAF EXTRACT, LANETH-50, LANOLIN ACID, WHEAT GERM ACID.
Colorante cosmético	CI 10020, GUANINE, MAGNESIUM STEARATE, RIBOFLAVIN, TITANIUM/TITANIUM DIOXIDE, ZINC STEARATE, ACID RED 195, CAMEL, BETA VULGARIS EXTRACT, CI 77891, CI 77947.

ES 2 438 640 A2

Desnaturalizante	AMMONIUM HYDROXIDE, DENATONIUM BENZOATE, CAMPHOR, CINNAMAL, EUCALYPTOL, MENTHOL, PIMENTA ACRIS OIL, QUASSIA AMARA EXTRACT.
Desodorante	ABIES PECTINATA EXTRACT, CLOFLUCARBAN, LINALOOL, PARFUM, SODIUM CARBONATE PEROXIDE, SODIUM CHLORATE, ZINC PALMITATE, SALVIA OFFICINALIS EXTRACT.
Depilatorio	MAGNESIUM SULFIDE, POTASSIUM SULFIDE, SODIUM SULFIDE, STRONTIUM SULFIDE, THIOGLYCOLIC ACID, ZINC SULFIDE, BARIUM SULFIDE, CALCIUM SULFIDE.
Desenredante	PERFLUOROTETRALIN, PROPIONYL COLLAGEN AMINO ACIDS, PROPYLTRIMONIUM HYDROLYZED COLLAGEN, TRITICUM VULGARE EXTRACT.
Emulsificante	CAPRIC ACID, CAPRYLIC/CAPRIC GLYCERIDES, CETEARETH-2, COCONUT ACID, HYDROGENATED CASTOR OIL, ISOLAURETH-3, LANETH-20, LANOLIN, LAURIC ACID, PEG-30 STEARATE, POLYSORBATE 60, POTASSIUM PEANUTATE, STEARETH-10, ROSA MOSCHATA OIL, PEG-5 COCAMIDE.
Estabilizador de emulsiones	ABIETIC ACID, CARBOMER, XANTHAN GUM, ALUMINUM CAPRYLATE, ALUMINUM MYRISTATE, ASTRAGALUS GUMMIFER EXTRACT, CALCIUM CARBOXYMETHYL CELLULOSE, CARBOXYMETHYL HYDROXYPROPYL GUAR, CELLULOSE GUM, CETEARYL ALCOHOL, MYRISTYL ALCOHOL, PECTIN, PPG-4 LAURETH-2, MONTMORILLONITE.
Formadores de película	ABIES BALSAMEA EXTRACT, ALBUMEN, CHITOSAN ASCORBATE, ACETYL TRIBUTYL CITRATE, AMMONIUM ACRYLATES COPOLYMER, BUTADIENE/ACRYLONITRILE COPOLYMER, CHITOSAN.
Espumante	DISODIUM CAPROAMPHODIACETATE, QUILLAIA SAPONARIA, SILICONE QUATERNIUM-6, SODIUM CETEARYL SULFATE, SODIUM CETYL SULFATE, SODIUM COCAMINOPROPIONATE, SODIUM DECYL SULFATE.
Acrecentador de espuma	SODIUM MILKAMIDOPROPYL PG-DIMONIUM CHLORIDE PHOSPHATE, SODIUM STEARYL BETAINE, SODIUM TALLOWATE, SOYAMIDE DEA, STEARYL ALCOHOL.
Gelificante	CARBOMER, STEARETH-40, STEARETH-30, XANTHAN GUM, AHNFELTIA CONCINNA EXTRACT, CARBOXYMETHYL CHITIN, CARBOXYMETHYL HYDROXYPROPYL GUAR, CARRAGEENAN.
Acondicionador capilar	CERAMIDE 1, LANOLIN, CARPRONIUM CHLORIDE, CASEIN, CETYL GLYCOL, CITRUS AURANTIFOLIA EXTRACT, COCOYL GLUTAMIC ACID, COCOYL HYDROLYZED COLLAGEN, PANTHENOL, CARBOXYBUTYL CHITOSAN,
Tintes capilares	ACACIA CATECHU, BASIC BLUE 26, BASIC ORANGE 1, BASIC YELLOW 28, HC BLUE NO. 8, HYDROQUINONE, CURRY RED, 2,4 DIAMINOPHENOL, DIRECT VIOLET 48, HC BLUE NO. 2, HC BLUE NO. 7.
Fijadores capilares	ISOBUTYLENE/MA COPOLYMER, OLAFUR, POLYQUATERNIUM-45, POLYSILICONE-9, ROSIN ACRYLATE, SHELLAC.
Ondulador o alisador de cabello	DIAMMONIUM DITHIODIGLYCOLATE, ETHANOLAMINE THIOGLYCOLATE, ETHYL THIOGLYCOLATE, ISOPROPYL THIOGLYCOLATE, LITHIUM HYDROXIDE, STRONTIUM THIOGLYCOLATE.
Humectante	ACETAMIDE MEA, LACTIC ACID, LACTITOL, SORBITOL, UREA, SUCROSE, SULFATED CASTOR OIL, XYLITOL, BUTYLENE GLYCOL, CAPRYLYL GLYCOL, CYCLOMETHICONE, PROPYLENE GLYCOL, GLYCERIN.

ES 2 438 640 A2

Hidrótropo	SODIUM CUMENESULFONATE, SODIUM XYLENE SULFONATE, STEARAMINE OXIDE, TOLUENE SULFONIC ACID, XYLENE SULFONIC ACID, AMMONIUM CUMENESULFONATE.
Queratólítico	ACER SACCHARINUM EXTRACT, PRUNUS CERASUS EXTRACT, RUBUS IDAEUS EXTRACT, SALICYLIC ACID, SUBTILISIN, TAMARINDUS INDICA EXTRACT, THIOGLYCERIN.
Enmascarante	ABIES PECTINATA OIL, ABIES SIBIRICA OIL, CINNAMYL ACETATE, CITRONELLAL, CITRONELLOL, LACTUCA SATIVA EXTRACT, MENTHA ARVENSIS EXTRACT, PARFUM.
Hidratante	AVENA SATIVA PROTEIN, COLLAGEN, PRUNUS DOMESTICA EXTRACT, TREHALOSE, CONNECTIVE TISSUE EXTRACT, DIMETHICONOL, ECHINACEA ANGUSTIFOLIA EXTRACT, GLYCINE SOJA EXTRACT, HYALURONIC ACID.
Acondicionador de uñas	ACETALDEHYDE.
Opacificante	ALUMINA, CELLULOSE, GUANINE, KAOLIN, SILICA, TITANIUM DIOXIDE, ALUMINUM SILICATE, GLYCOL DIBEHENATE, GLYCOL PALMITATE, GUANOSINE, MAGNESIUM OXIDE.
Cuidado oral	CETYLAMINE HYDROFLUORIDE, MAGNESIUM FLUORIDE, OCTADECENYL-MMONIUM FLUORIDE, POTASSIUM MONOFLUOROPHOSPHATE, POTASSIUM NITRATE.
Oxidante	SODIUM BROMATE, SODIUM CARBONATE PEROXIDE, SODIUM CHLORATE, MAGNESIUM PEROXIDE, MELATONIN, POTASSIUM BROMATE, POTASSIUM CAROATE.
Nacarante	PROPYLENE GLYCOL DISTEARATE, PROPYLENE GLYCOL ISOSTEARATE, CALCIUM SILICATE, CALCIUM SULFATE, PROPYLENE GLYCOL HYDROXYSTEARATE.
Plastificante	ISOPROPYL CITRATE, SORBITOL, TRIACETIN, TRIBUTYL CITRATE, TRIOLEYL CITRATE, ACETYL TRIETHYL CITRATE.
Conservantes	BENZOIC ACID, BENZYL ALCOHOL, CHLORHEXIDINE, CLIMBAZOLE, ETHYLPARABEN, IMIDAZOLIDINYL UREA, ISOPROPYLPARABEN, POTASSIUM PROPYLPARABEN, TRICLOSAN, AMMONIUM BENZOATE, POTASSIUM METHYLPARABEN, SODIUM PARABEN.
Propelentes	ISOBUTANE, NITROGEN, PROPANE, BUTANE, CARBON DIOXIDE, DIMETHYL ETHER, ETHANE, ISOBUTANE.
Reductores	HYDROQUINONE, POTASSIUM SULFITE, AMINOETHANESULFINIC ACID, CYSTEINE, DITHIODIGLYCOLIC ACID, ETHYL THIOGLYCOLATE, GLUTATHIONE, SODIUM HYDROSULFITE.
Reengrasante	STEARETH-10, SOY ACID, SOYBEAN PALMITATE, SQUALENE, TRILINOLEIC ACID, CALF SKIN EXTRACT.
Refrescante	CITRUS AURANTIUM AMARA EXTRACT, LACTUCA SATIVA EXTRACT, MENTHA ARVENSIS EXTRACT, TILIA CORDATA EXTRACT, ANANAS SATIVUS EXTRACT, LACTUCA SATIVA JUICE, PINUS PINASTER EXTRACT.
Acondicionador de la piel	ACACIA CONCINNA EXTRACT, ACACIA DEALBATA EXTRACT, ACER PSEUDOPLATANUS EXTRACT, ADENOSINE, ADENOSINE CYCLIC PHOSPHATE, CERAMIDE 1, CHITOSAN ASCORBATE, EUPHRASIA OFFICINALIS, HYDROGENATED JOJOBA OIL, ISOPROPYL JOJOBATE, ISOPROPYL LAURATE, LANOLIN, RETINOL, UREA, ELASTIN, PANTHENOL, CAFFEINE, SALVIA OFFICINALIS, ISOPROPYL AVOCADATE, GLECHOMA HEDERACEA EXTRACT, CAFFEINE, HYDROXYLATED LECITHIN, HYDROGENATED LANOLIN, SAMBUCUS NIGRA, FIBRONECTIN, HYALURONIC ACID.

ES 2 438 640 A2

Protector de la piel	LACTOBACILLUS/ALGAE FERMENT, LACTOCOCCUS LYSATE, LAMINARIA CLOUSTONI EXTRACT, MELANIN, ZINC OXIDE, PLANTAGO OVATA EXTRACT, POLLEN EXTRACT, ROSA CENTIFOLIAWATER, RUTA GRAVEOLENS EXTRACT, FUCUS SERRATUS EXTRACT.
Alisante	SPIRULINA MAXIMA EXTRACT, SERICA, VANILLA PLANIFOLIA, CENTELLA ASIATICA EXTRACT, ELASTIN, MALVA SYLVESTRIS EXTRACT, NIACINAMIDE, PROPOLIS.
Disolvente	ALCOHOL, AQUA, BENZYL ALCOHOL, COENZYME A, PROPYL ACETATE, PROPYL BENZOATE, PROPYLENE GLYCOL, SORBETH-20, TOLUENE, ACETONE, ALCOHOL, CAPRYLIC/CAPRIC TRIGLYCERIDE.
Calmante	ACANTHOPANAX SENTICOSUS EXTRACT, ALLANTOIN, AVENA SATIVA PROTEIN, AZULENE, EUPHRASIA OFFICINALIS, LACTUCA SATIVA EXTRACT, MIMOSA TENUIFLORA BARK EXTRACT, POTASSIUM NITRATE, TILIA VULGARIS EXTRACT, VALERIANA OFFICINALIS ,CENTELLA ASIATICA EXTRACT, BIOFLAVONOIDS, ACHILLEA MILLEFOLIUM EXTRACT, TILIA PLATYPHYLLOS EXTRACT, MELILOTUS OFFICINALIS EXTRACT.
Estabilizante	LACTOPEROXIDASE, GLUCOSE OXIDASE, GLYCOL CETEARATE, METHYLCELLULOSE, OXYQUINOLINE , PHENACETIN, RHUS VERNICIFLUA CERA, RUSCUS ACULEATUS EXTRACT.
Tensoactivo	COCONUT ACID, HYDROGENATED CASTOR OIL, ISOLAURETH-3, LANETH-20, LANOLIN, LAURETH-7 CITRATE , LAURIC ACID, PEG-30 STEARATE, POLYSORBATE 60, SODIUM SHALE OIL SULFONATE, STEARETH-10, TEA-C10-12 ALKYL SULFATE, COCAMIDOPROPYL LAURYL ETHER, PEG-2 COCOMONIUM CHLORIDE , C11-15 PARETH-12, COCO-BETAINE.
Bronceador	ACETYL TYROSINE, DIHYDROXYACETONE.
Tónico	ABIES PECTINATA EXTRACT, ABIES PECTINATA OIL, ACACIA DECURRENS EXTRACT, CARICA PAPAYA EXTRACT, EUPHRASIA OFFICINALIS, SABBATIA ANGULARIS EXTRACT, SALVIA OFFICINALIS EXTRACT, ROSA MOSCHATA OIL, AESCULUS HIPPOCASTANUM EXTRACT, ARNICA MONTANA EXTRACT
Absorbente UV	ALLANTOIN PABA, BENZOPHENONE, BENZOPHENONE-3, PABA, TITANIUM DIOXIDE, ZINC OXIDE, TRIPABA PANTHENOL, BENZYL SALICYLATE, BORNELONE, BUMETRIZOLE, CERIA/SILICA TALC, OCTRIZOLE, POTASSIUM METHOXYCINNAMATE, ETHYL CINNAMATE, CERIA/SILICA TALC
Filtro UV	BENZOPHENONE-3, PABA, ETHYLHEXYL DIMETHYL PABA, OCTOCRYLENE, 4-METHYLBENZYLIDENE CAMPHOR, PHENYLBENZIMIDAZOLESULFONIC ACID.
Controladores de viscosidad	ABIETYL ALCOHOL, ACACIA FARNESIANA EXTRACT, ACACIA SENEGAL, AGAR, ALGIN, CARBOMER, CELLULOSE, LANETH-20, POLYACRYLIC ACID, POLYBUTENE, CELLULOSE GUM, METHYL HYDROXYETHYLCELLULOSE.
Otros	FACTORES DE CRECIMIENTO RECOMBINANTES (EGF/PDGF), ALFA HIDROXIACIDOS (AHA), ANALOGOS DEL FACTOR HIDRATANTE NATURAL (FHN).

Tabla 1. Ejemplos ilustrativos de compuestos que pueden ser utilizados como componente B en la composición de la invención.

En una realización particular el componente B es un compuesto emoliente o cicatrizante.

Por "compuesto emoliente" tal y como se emplea en la presente invención se refiere a un compuesto que ablanda los tejidos, especialmente la piel y las mucosas, atenuando el estado inflamatorio. Dicho compuesto emoliente forma una película oclusiva o semioclusiva sobre la piel que impide la evaporación del agua y, por tanto, aumenta la hidratación de la epidermis permitiendo una correcta cicatrización, por tanto dicho compuesto emoliente es cicatrizante.

Por "compuesto cicatrizante" según se emplea en la presente invención se refiere a un compuesto que induce el proceso de reparación ó regeneración de un tejido alterado, dando como resultado final la formación de un tejido cicatrizal ó un tejido igual al existente previo a la injuria regeneración.

En una realización particular adicional dicho compuesto cicatrizante, emoliente, es Aloe vera (*Aloe barbadensis*).

Por "Aloe vera" según se emplea en la presente invención se refiere a una planta suculenta de la familia Xanthorrhoeaceae. Nombres alternativos a Aloe vera son acíbar, sábila, sávila, Aloe de barbados o Aloe de curazao. Su nombre INIC (del inglés Nomenclatura Internacional de Ingredientes cosméticos) es Aloe Barbadensis. El Aloe vera contiene diversos componentes químicos con distintas propiedades, entre ellos destaca aloemodina aloeooleína, aloetina que neutraliza el efecto de las toxinas microbianas, aloína aminoácidos, carricina, creatinina, emolina, emodina, barbaloina, fosfato de manosa que es un agente de crecimiento de los tejidos con efecto cicatrizante, minerales como calcio, magnesio, fósforo, potasio, zinc y cobre, mucílago con actividad emoliente sobre la piel, saponinas de acción antiséptica, fitosteroles de acción antiinflamatoria, mucopolisacáridos responsables de la hidratación celular, hormonas vegetales que estimulan el crecimiento celular y la cicatrización y diversas enzimas.

Para la elaboración de la composición de la invención, el Aloe vera se emplea en forma de extracto. Por extracto, según se emplea en la presente invención se refiere al producto líquido obtenido a partir de la planta con varios procedimientos y con varios solventes y que conserva las propiedades de la planta. Dichos extractos incluyen geles, aceites y zumos. El gel de Aloe vera consiste en un líquido claro y mucilaginoso de color blanco o ligeramente amarillento, casi transparente, obtenido al triturar las hojas de Aloe vera sin eliminar la pulpa siendo sus principales constituyentes los polisacáridos. Tras tratar por métodos físicos el gel de Aloe vera se obtiene el jugo o zumo de Aloe, que debe ser convenientemente conservado y estabilizado, ya que es sensible a la luz y al calor y puede deteriorarse rápidamente. El aceite de Aloe vera es la fracción lipídica obtenida de las hojas de Aloe vera. En la presente invención, los extractos de Aloe vera pueden usarse en forma concentrada, gel de Aloe vera del que se ha eliminado el agua, así como un extracto seco. En el estado de la técnica son conocidos los distintos métodos que pueden emplearse para obtener los distintos extractos de Aloe vera, entre ellos los descritos en Conaza 1990 (Apuntes Mimeografiado Saltillo Coah, México), Vickaery A. R et al., 1994, (Flora mesoamericana, Vol VI, UNAM Missouri Botanical Garden, the Natural History Museum. Mexico.), US3878197A1 y en Panda H. (Asia Pacific Business Press Inc, 2003 Aloe Vera Handbook Cultivation, Research finding, products, Formulations, Extractions and Processing).

En una realización particular la composición de la invención comprende entre 0,1% y 99,9%, en volumen, de componente A y el resto hasta el 100 % en volumen de componente B. En una realización concreta, el componente A está presente en la composición de la invención en una cantidad comprendida, en volumen, entre 1% y 99%, entre 5% y 95%, entre 10% y 90%, entre 15 y 85%, entre 20 y 80 %, entre 25 y 75%, entre 30% y 70%, entre 35% y 65 %, entre 40% y 60%, entre 45% y 55%; el resto componente B. En otra realización particular, el componente A está presente en la composición de la invención en una cantidad del 50% en volumen, y el componente B en una cantidad del 50% en volumen.

En una realización particular el porcentaje de MCLP, en donde TGF-β1 está en forma inactiva o no está presente, en la composición puede ser un 0,10% 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15% 20% o un 30% (v/v).

En una realización particular el porcentaje de MCLP en la composición está comprendido entre un 1 y 8% (v/v).

En otra realización particular, el porcentaje de MCLP en la composición está comprendido entre un 8 y 15% (v/v).

El porcentaje del extracto de Aloe vera en la composición de la invención puede ser del 0,10% 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15% 20% o un 30% (v/v). En una realización particular el porcentaje de Aloe vera en la composición de la invención está comprendido entre un 7 y 15 % (v/v).

En otra realización particular adicional, el porcentaje de MCLP en la composición de la invención está comprendido entre un 8 y 15% (v/v) y el porcentaje de Aloe vera en la composición de la invención está comprendido entre un 7 y 15% (v/v).

En otra realización particular, el porcentaje de MCLP en la composición de la invención es 10% (v/v) y el porcentaje de Aloe vera en la composición de la invención es 10% (v/v).

5 En otra realización particular, el porcentaje de MCLP en la composición de la invención es 5 % (v/v) y el porcentaje de Aloe vera en la composición de la invención es 10% (v/v).

10 Como entenderá un experto en la materia, los porcentajes expresados en (v/v) se refieren a los porcentajes de los componentes en la composición cuando no está liofilizada.

En una realización particular las composiciones de la invención comprenden adicionalmente un adyuvante.

15 Por “adyuvante” según se emplea en la presente invención se refiere a compuestos que administrados junto con las composiciones de la invención hacen que el efecto deseado se obtenga de manera más efectiva.

Ejemplos de adyuvantes que se pueden utilizar acompañando las composiciones de la invención incluyen, aunque sin limitarse, compuestos para curar heridas, agentes antiinflamatorios y/o analgésicos, agentes protectores de la piel, agentes antiinfecciosos o agentes antiprurito.

20 Ejemplos ilustrativos de compuestos para curar heridas incluyen, sin limitar extractos vegetales seleccionados del grupo de *Equisetum anense*, *Aloe barbadensis*, *Amica montana*, *Amica chamissonis*, *Symphytum officinales*, *Solanum dulcamara*, *Echinacea pallida*, *Potentilla erecta*, *Trigonella foenum graecum*, *Juglans regia*, *Linum usitatissimum*, *Terminalia sericea*, *Oenothera biennis*, *Centella asiatica*, *Arctium lappa*, *Capsella bursa-pastoris*, *Hypericum perforatum*, *Matricaria recutita*, *Chamomille recutita*, *Agrimonia eupatoria*, *Centaurea cyanus*, *Larrea tridentata*, *Populus spec.*, *Echinacea pupurea*, *Calendula officinalis*, *Aesculus hippocastanum*, *Salvia officinalis*, *Plantago lanceolata*, *Quercus robot*, *Glycyrrhiza glabra*, *Quercus petraea*, *Hamamelis virginian*, *Cardiospermum halicacabum*, *Betuna*, *Urtica dioica*, *Buxus chinensis*, *Lavandula angustifolia*, *Lavandula hybrida*, *Crocus sativus*, *Smilax aspera*, *Melaleuca alternifolia* o *Viola tricolor* o sus sales o derivados o mezclas de al menos dos de las mencionadas.

30 Ejemplos ilustrativos de agentes antiinflamatorios y/o analgésicos incluyen, aunque no se limitan, a madecacosido, equinacina, aceite de semilla de amaranto, aceite de madera de sándalo, extracto de hoja de melocotonero, extractos de *Arnica montana*, *Artemisia vulgaris*, *Asarum maximum*, *Calendula officinalis*, *Capsicum*, *Centipeda cunninghamii*, *Chamomilla recutita*, *Crinum asiaticum*, *Hamamelis virginiana*, *Harpagophytum procumbens*, *Hypericum perforatum*, *Lilium candidum*, *Malva sylvestris*, *Melaleuca alternifolia*, *Origanum majorana*, *Origanum vulgare*, *Prunus laurocerasus*, *Rosmarinus officialis*, *Salix alba*, *Silybum marianum*, *Tanacetum parthenium*, *Thymus vulgaris*, *Uncaria guianensis* o *Vaccinium myrtillus*, furoato de mometasona y prednisolona, anti-inflamatorios no esteroideos, inhibidores de ciclooxigenasa o lipoxigenasa, benzidamina, ácido acetilsalicílico, ácido rosmarínico, ácido ursólico, derivados de glicirricinato,  $\alpha$ -bisabolol, azuleno y análogos, sericosida, ruscogenina, escina, escolina, rutina y análogos, hidrocortisona, clobetasol, dexametasona, prednisona, paracetamol, amoxiciprin, benorilato, salicilato de colina, diflunisal, faislamina, salicilato de metilo, salicilato de magnesio, salsalato, diclofenaco, aceclofenaco, acemetacina, bromfenaco, etodolaco, indometacina, oxametacina, proglumetacina, sulindaco, tolmetina, ibuprofeno, dexibuprofeno, carprofeno, fenbufén, fenoprofeno, flurbiprofeno, ketoprofeno, dexketoprofeno, ketorolaco, loxoprofeno, naproxeno, mioprofeno, oxaprozina, pranoprofeno, ácido tiaprofénico, suprofeno, ácido mefenámico, meclofenamato, ácido meclofenámico, ácido flufenámico, ácido tolfenámico, nabumetona, fenilbutazona, azapropazona, clofezona, kebuzona, metamizol, mofebutazona, oxifenbutazona, fenazona, sulfpirazona, piroxicam, lornoxicam, meloxicam, tenoxicam, celecoxib, etoricoxib, lumiracoxib, parecoxib, rofecoxib, valdecoxib, nimesulida, naproxcinod, fluprocuazona o licofelona; morfina, codeína, oxicodona, hidrocodona, diamorfina, 50 petidina, tramadol, brupenorfina, benzocaína, lidocaína, cloroprocaina, tetracaína, procaína, antidepresivos tricíclicos, amitriptilina, carbamazepina, gabapentina, pregabalina, pantenol, biotina, fosfato lauriminodipropionato de tocoferilo y disodio, ciclopirox olamina, ácido nordihidroguaiarético y éteres de alquiglicerina.

55 Ejemplos ilustrativos de agentes protectores de la piel incluyen, aunque no se limitan, aceites y ungüentos que forman una barrera oleaginoso que puede ayudar a retener la humedad y filtros solares que crean una pantalla contra la luz ultravioleta.

60 Ejemplos ilustrativos de agentes antiinfecciosos de la piel incluyen, aunque no se limitan a antibióticos para evitar el crecimiento de infecciones causadas por gérmenes de la flora habitual de la piel o debidos a los usualmente responsables (particularmente *S. aureus* y *S. pyogenes* grupo A) procedentes de otras fuentes, entre ellos penicilina G y aminopenicilina, aminopenicilinas/IBL, cefalosporinas (cefalexina, cefradina, cefrazolina), macrólidos, clindamicina, fluoroquinolonas, metronidazol, aminoglucósidos (gentamicina, amilacina), glucopéptidos (vancomicina y teicoplanina) y agentes para tratar infecciones fúngicas como clotrimazol, ketoconazol y miconazol.

65

Ejemplos ilustrativos de agentes antiprurito incluyen, aunque no se limitan, a la manzanilla, el eucalipto, el alcanfor, el mentol, el óxido de zinc, el talco, la glicerina y la calamina.

5 Asimismo, las composiciones de la invención pueden administrarse conjuntamente con medios protectores de la piel como las vitaminas o similares, sulfato de glucosamina, alantoína, biotina, sulfato de chondroitina, coenzima Q10, dexpanthenol, miel/extracto de miel, niacinamida, propolis, vitamina A o sus ésteres, vitamina E y sus ésteres o sus sales o derivados o mezclas de al menos dos de los mencionados.

10 En otro aspecto, la invención se relaciona con una composición farmacéutica en adelante composición farmacéutica de la invención, que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

15 En el contexto de la presente invención se entiende por "cantidad terapéuticamente eficaz" la cantidad de la composición de la invención necesaria para conseguir el efecto deseado. En general, la cantidad terapéuticamente efectiva de la composición según la presente invención a administrar dependerá, entre otros factores, del individuo que vaya a ser tratado, de la severidad de la enfermedad que padezca dicho individuo, de la forma de administración elegida, etc. Por este motivo, las dosis que se administrarán serán ajustadas por un experto en la materia, según las circunstancias.

20 El término "vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a un vehículo que debe estar aprobado por una agencia reguladora del gobierno federal o un gobierno estatal o enumerado en la Farmacopea Estadounidense o la Farmacopea Europea, u otra farmacopea reconocida generalmente para su uso en animales, y más concretamente en humanos.

25 En otro aspecto, la invención se relaciona con una composición cosmética en adelante composición cosmética de la invención, que comprende una cantidad cosméticamente eficaz de la composición de la invención y un vehículo cosméticamente aceptable.

30 Por "cantidad cosméticamente eficaz" se entiende la cantidad de la composición necesaria para conseguir el efecto deseado. Tal y como se ha mencionado anteriormente en relación a la cantidad terapéuticamente eficaz, la cantidad efectiva depende de diversos factores y será ajustada por un experto en la materia.

35 Por "vehículo cosméticamente aceptable" se refiere a un vehículo que debe estar aprobado por una agencia reguladora del gobierno federal o un gobierno estatal o enumerado en la Farmacopea Estadounidense o la Farmacopea Europea, u otra farmacopea reconocida generalmente para su uso en animales, y más concretamente en humanos.

40 El término "vehículo" se refiere a un diluyente, coadyuvante, excipiente o portador con el que se deben administrar la composición de la invención; obviamente, dicho vehículo debe ser compatible con dichas composiciones. Tales vehículos farmacéuticos pueden ser líquidos, tales como agua, disolventes, aceites o surfactantes, incluyendo los de origen petrolífero, animal, vegetal o sintético, como por ejemplo, y sin sentido limitativo, aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo, aceites de ricino, polisorbatos, ésteres de sorbitano, éter sulfatos, sulfatos, betaínas, glucósidos, maltósidos, alcoholes grasos, nonoxinoles, poloxámeros, polioxietilenos, polietilenglicoles, dextrosa, glicerol, digitonina y similares. En *"Remington's Pharmaceutical Sciences"* por E.W. Martin se describen diluyentes, adyuvantes o excipientes como vehículos adecuados.

50 Las composiciones de la invención se pueden administrar junto con un vehículo de liberación sostenida. El término "liberación sostenida" se utiliza en sentido convencional refiriéndose a un sistema de vehiculización de un compuesto que proporciona la liberación gradual de dicho compuesto durante un período de tiempo y preferiblemente, aunque no necesariamente, con niveles de liberación del compuesto relativamente constantes a lo largo de un período de tiempo.

55 Ejemplos ilustrativos de vehículos o sistemas de liberación sostenida incluyen, aunque no se limitan, a liposomas, liposomas mixtos, oleosomas, niosomas, etosomas, milicápsulas, microcápsulas, nanocápsulas, esponjas, ciclodextrinas, vesículas, micelas, micelas mixtas de tensioactivos, micelas mixtas fosfolípido-tensioactivo, miliesferas, microesferas, nanoesferas, lipoesferas, microemulsiones, nanoemulsiones, minipartículas, milipartículas, micropartículas, nanopartículas, nanopartículas sólidas lipídicas y soportes lipídicos nanoestructurados.

60 En una realización particular, las composiciones de la invención se pueden presentar en forma de una formulación seleccionada del grupo formado por cremas, emulsiones múltiples, composiciones anhidras, dispersiones acuosas, aceites, leches, bálsamos, espumas, lociones, geles, geles crema, soluciones hidroalcohólicas, soluciones hidroglicólicas, hidrogeles, linimentos, sueros, jabones, champús, acondicionadores, 65 serums, ungüentos, mousses, pomadas, polvos, barras, lápices, vaporizadores, aerosoles, cápsulas, cápsulas de

gelatina, cápsulas blandas, cápsulas duras, comprimidos, comprimidos recubiertos de azúcar, formas granuladas, gomas de mascar, soluciones, suspensiones, emulsiones, jarabes, films de polisacáridos, jaleas y gelatina.

5 En una realización particular, las composiciones farmacéuticas o cosméticas de la invención se encuentran incorporadas en un tejido, un tejido-no-tejido o un producto sanitario. Ejemplos ilustrativos de dicho tejido, tejido-no-tejido o producto sanitario incluyen, aunque no se limitan, a vendas, gasas, camisetas, medias, calcetines, ropa interior, fajas, guantes, pañales, compresas, apósitos, cubrecamas, toallitas, parches adhesivos, parches no adhesivos, parches oclusivos, parches microeléctricos y mascarillas faciales.

10 La composición farmacéutica o cosmética de la invención puede estar, por ejemplo, en forma semisólida (geles, cremas, etc.), líquida o espuma y puede contener cualquiera de los excipientes conocidos por un experto en la materia.

15 De acuerdo con una realización preferida, las composiciones farmacéuticas de la presente invención son formulaciones semisólidas, por ejemplo geles, cremigeles o cremas.

En una realización preferida, son geles, cremigeles o cremas mucoadhesivas que contienen al menos un polímero bioadhesivo (gelificante y/o espesante).

20 Los polímeros bioadhesivos útiles para las formulaciones de la presente invención son elegidos entre polímeros celulósicos, gomas naturales, alginato sódico, polioxietilenos, homo o copolímeros acrílicos y sus mezclas.

25 Los polímeros celulósicos pueden ser seleccionados entre metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica (CMC), hidroxietilcelulosa (HEC), hidroxipropilcelulosa (HPC) e hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC). Las gomas naturales pueden ser elegidas por ejemplo entre goma guar, goma karaya, goma xantano y veegum. Los polímeros acrílicos son preferiblemente seleccionados entre polímeros del tipo ácido acrílico entrecruzado con divinilglicol (comercializados bajo la marca Noveon® AA-1 Polycarbophil) y polímeros derivados del ácido acrílico entrecruzado con alilsacarosa o alilpentaeritritol denominados polímeros de tipo carbómero (comercializados bajo la marca Carbopol®).

30 Carbómero es el nombre genérico adoptado por varias agencias, incluyendo el Formulario Nacional de la Farmacopea Estadounidense ("*United States Pharmacopeia-National Formulary*") (USP-NF), Consejo de Nombres Adoptado por los Estados Unidos ("*United States Adopted Names Council*") (USAN) y la Farmacopea Europea, para definir diversos tipos de polímeros a base de ácido acrílico entrecruzado de alto peso molecular, que se comercializan como polímeros Carbopol®. Las patentes estadounidenses n<sup>os</sup> 2.798.053, 4.267.103, 5.349.030, 4.996.274, 4.509.949, 5.373.044 describen estos polímeros de poli(ácido acrílico), que incluyen el tipo Carbopol®, que se incorporan en el presente documento como referencia. El "Handbook of Pharmaceutical Excipients", 2006, también describe los polímeros de tipo Carbopol® con el título "Carbomer", estando esta monografía incluida en el presente documento como referencia.

En una realización particular, las composiciones de la invención comprenden adicionalmente carbopol.

45 Los polímeros de tipo carbómero y el polímero de policarbófilo se fabrican mediante un procedimiento de entrecruzamiento. Dependiendo del grado de entrecruzamiento y las condiciones de fabricación, están disponibles diversas calidades de Carbopol. El Carbopol® 934 P está entrecruzado con alilsacarosa y se polimeriza en un disolvente de benceno. El Carbopol 5984 EP está entrecruzado con alilsacarosa y se polimeriza en acetato de etilo y ciclohexano. Carbopol® 71G, 971 P, 974 P están entrecruzados con alilpentaeritritol y se polimerizan en acetato de etilo. Carbopol® 980 y 981 están entrecruzados con alilpentaeritritol y se polimerizan en una mezcla de codisolvente de acetato de etilo y ciclohexano. El policarbófilo es un polímero entrecruzado en divinilglicol y se polimeriza en disolvente de benceno o acetato de etilo. Todos los polímeros fabricados en acetato de etilo se neutralizan mediante hidróxido de potasio al 1-3%.

55 Aunque Carbopol® 971 P y Carbopol® 974 P se fabrican mediante el mismo procedimiento en condiciones similares, la diferencia entre los mismos es que el Carbopol® 971 P (USP29/NF24 Carbomer Homopolymer Type A) tiene un nivel ligeramente inferior de agente de entrecruzamiento que el Carbopol® 974 P (USP29/NF24 Carbomer Homopolymer Type B). Como resultado, el Carbopol® 971 P NF tiene una viscosidad de entre 4.000 y 11.000 cP (medida en un viscosímetro Brookfield RTV a 20 rpm, 25°C, en un mucílago al 0,5% en peso, neutralizado hasta pH 7,3-7,8), mientras el Carbopol® 974 P NF tiene una viscosidad de entre 29.400 y 39.400 cP (medida en un viscosímetro Brookfield RTV a 20 rpm, 25°C, en un mucílago al 0,5% en peso, neutralizado hasta pH 7,3-7,8). Por motivos similares, el Carbopol® 981 NF tiene una viscosidad de entre 4.000 y 10.000 cP (medida en un viscosímetro Brookfield RTV a 20 rpm, 25°C, en un mucílago al 0,5% en peso, neutralizado hasta pH 7,3-7,8), mientras el Carbopol® 980 NF tiene una viscosidad de entre 40.000 y 60.000 cP (medida en un viscosímetro Brookfield RTV a 20 rpm, 25°C, en un mucílago al 0,5% en peso, neutralizado hasta pH 7,3-7,8).

65

Las composiciones y componentes de la invención pueden ser conservadas, por ejemplo mediante ultracongelación o liofilización entre otras. La ultracongelación consiste en una congelación muy rápida (120 minutos como máximo) a una temperatura muy baja (inferior a -40°C). La liofilización, también conocida como criodeshidratación o secado por congelación, es un método de separación del agua de una sustancia, entendiéndose por sustancia productos puros, mezclas, o preparaciones, incluyendo disoluciones acuosas que por congelación y posterior sublimación del hielo formado, generalmente a presión reducida, da lugar, en general, a un material sólido y seco (liofilizado) que puede ser reconstituido e hidratarse con facilidad. Un liofilizado, tal como aquí se menciona, puede estar constituido únicamente por una sola sustancia, en forma liofilizada que forma parte de la composición, o bien puede estar compuesto por los diversos compuestos que forman la composición de la invención, todos ellos en forma liofilizada. El proceso de liofilización se lleva a cabo, en general, en un liofilizador.

La cantidad de composición de la invención que puede estar presente en la composición farmacéutica o cosmética de la invención es entre un 0,1% y un 99,9% en volumen. Preferiblemente al menos 0,1%, al menos 0,5%, al menos 1%, al menos 5%, menos 10 %, al menos 20%, al menos 30 %, al menos 40%, al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, al menos 90 % o al menos un 99% en volumen.

## USO TERAPÉUTICO DE LA COMPOSICIÓN DE LA INVENCION

En otro aspecto la invención se refiere al uso de la composición de la invención en la elaboración de una composición farmacéutica para la curación de heridas, o expresado alternativamente a una composición de la invención para su uso en la curación de heridas.

El término "herida" se refiere a la pérdida de la continuidad de la piel o de las mucosas provocando la comunicación del interior del cuerpo con el exterior. Usado en el presente contexto significa cualquier herida (véase más adelante para una clasificación de las heridas) y en cualquier fase particular del proceso de curación, incluyendo la fase antes de haberse iniciado cualquier curación o incluso antes de producirse una herida específica, como una incisión quirúrgica (tratamiento profiláctico). Las heridas se clasifican típicamente en uno de cuatro grados dependiendo de la profundidad de la herida. Así, heridas de grado I son aquellas limitadas al epitelio, heridas de grado II son aquellas que se extienden a la dermis, heridas de grado III son aquellas que se extienden al tejido subcutáneo y heridas de grado IV son aquellas en las que el hueso queda expuesto.

Las heridas y/o las úlceras se encuentran normalmente sobresaliendo de la piel o sobre una superficie mucosa o como resultado de un infarto en un órgano ("accidente vascular"). Una herida puede ser el resultado de un defecto o una lesión de los tejidos blandos o de una condición subyacente.

En el presente contexto, el término "piel" se relaciona con la superficie más externa del cuerpo de un animal, incluido un humano, y abarca la piel intacta o casi intacta, así como una superficie cutánea lesionada. El término "mucosa" se relaciona con una mucosa no dañada o dañada de un animal, tal como un humano, y puede tratarse de la mucosa oral, bucal, aural, nasal, pulmonar, ocular, gastrointestinal, vaginal o rectal.

Son ejemplos de heridas que se pueden prevenir y/o tratar según la presente invención, por ejemplo, las heridas abiertas y las heridas cerradas. Heridas abiertas que pueden ser tratadas con las composiciones de la invención incluyen, sin limitación, quemaduras por frío o calor, incisiones, úlceras, laceraciones, abrasiones, acné, mordeduras, pinchazos o heridas de bala o heridas cerradas tales como contusiones o hematomas, lesiones de los vasos sanguíneos y linfáticos tales como enfermedad de Buerger, linfedema y ulcus cruris, heridas post-cirugía tales como heridas tras un trasplante de piel y heridas suturadas, úlcera decúbito, úlcera por presión, úlcera diabética, úlceras post-herpéticas y lesiones por irradiación. Heridas cerradas que pueden ser tratadas con las composiciones de la invención incluyen sin limitación contusiones o hematomas.

Los tipos de heridas para tratamiento según la invención incluyen también i) heridas generales, tales como, por ejemplo, heridas quirúrgicas, traumáticas, infecciosas, isquémicas, térmicas, químicas y bullosas ; ii) heridas específicas de la cavidad oral, tales como, por ejemplo, heridas posteriores a extracciones, heridas endodónticas especialmente en relación con el tratamiento de quistes y abscesos, úlceras y lesiones de origen bacteriano, vírico o autoinmune, heridas mecánicas, químicas, térmicas, infecciosas y liquenoides ; las úlceras herpéticas, la estomatitis aftosa, la gingivitis ulcerosa necrosante aguda y el síndrome de la boca ardiente son ejemplos específicos; y iii) heridas sobre la piel, tales como, por ejemplo, quemaduras (por ejemplo, químicas o térmicas), lesiones (bacterianas, víricas), mordeduras e incisiones quirúrgicas. Otra forma de clasificar las heridas es como i) pequeña pérdida de tejido debida a incisiones quirúrgicas, abrasiones menores y mordeduras menores, o como ii) pérdida significativa de tejido. Este último grupo incluye las úlceras isquémicas, las llagas por presión, las fístulas, las laceraciones, las mordeduras graves, las quemaduras térmicas y las heridas en sitios donantes (en tejidos blandos y duros) e infartos.

Según se usa en la presente invención “curación” de una herida se refiere al proceso fisiológico en donde el área herida (dañada) vuelve a su estado normal. Si se trata de una herida abierta, la curación se refiere al proceso por el que la piel o mucosa vuelve a formar una barrera continua mediante el aumento de tejido conectivo y de células epiteliales. El experto en la materia apreciará que, tras la curación, la zona de la herida puede comprender tejido de cicatriz que no es idéntico al tejido de lo rodea. Según se usa en la presente invención, el término curación de una herida implica la cicatrización.

Por “cicatrización” según se emplea en la presente invención se refiere al proceso natural para regenerar los tejidos de la dermis y epidermis que han sufrido una herida. Cuando se sufre una herida se producen una serie de complejos fenómenos bioquímicos que se suceden para reparar el daño. Estos fenómenos ocurren con cierto solapamiento temporal y pueden ser divididos para su estudio en las siguientes fases: inflamatoria, proliferativa y de remodelación. En la fase inflamatoria, se fagocitan y eliminan las bacterias y suciedad, y se liberan factores que producen la migración y división de las células que toman parte en la fase proliferativa. La fase proliferativa se caracteriza por la angiogénesis, la deposición de colágeno, la formación de tejido granular, la epitelialización, y la contracción de la herida. En la angiogénesis, crecen nuevos vasos sanguíneos a partir de células endoteliales. En la fibroplasia y formación de tejido granular, los fibroblastos crecen y forman una nueva matriz extracelular provisoria (ECM, por las siglas en inglés: ExtraCellular Matrix) mediante la excreción de colágeno y fibronectina. En la epitelialización, las células epiteliales se desplazan sobre la herida cubriéndola. En la contracción, los miofibroblastos ayudan a reducir el tamaño la herida; ellos se toman de los bordes de la herida y se contraen utilizando un mecanismo similar al que poseen las células de los músculos lisos. Cuando las células han cumplido con su cometido, las células no utilizadas sufren una apoptosis. En la fase de maduración y remodelado, el colágeno es remodelado y realineado a lo largo de las líneas de tensión y las células que ya no se precisan son eliminadas mediante una apoptosis.

En otro aspecto, la invención se relaciona con el uso de la composición de la invención en la elaboración de una composición farmacéutica para la estimulación del crecimiento de fibroblastos, o expresado alternativamente, a la composición de la invención para su uso en la estimulación del crecimiento de fibroblastos.

En una realización particular la composición farmacéutica de la invención se administra por vía tópica.

Por “vía tópica” según se emplea en la presente invención, se refiere a la aplicación directa de la composición de la invención sobre la piel y mucosas de orificios naturales con el objetivo de obtener un efecto local en el sitio de aplicación.

### USO COSMÉTICO DE LA COMPOSICIÓN DE LA INVENCION

Las composiciones de la invención pueden emplearse en el tratamiento de condiciones no patológicas en las que es necesario aumentar la reparación tisular en la piel o mucosa de un individuo. Así, en otro aspecto, la invención se relaciona con un uso cosmético que comprende la administración de una composición de acuerdo a la invención para mejorar el aspecto, tersura y elasticidad de la piel mediante la bioestimulación de los fibroblastos.

Los fibroblastos de la dermis son los responsables de la secreción de componentes de la matriz extracelular, como el colágeno y glucosaminoglicanos (por ejemplo el ácido hialurónico), que funcionan de relleno intercelular natural y mejoran la hidratación de la piel. También son los responsables de secretar otros factores de crecimiento que activan otros tipos celulares como las células endoteliales, y en ese caso, por ejemplo mejoran la vascularización del tejido.

Por “bioestimulación” según se usa en la presente invención se refiere al efecto que produce sobre los fibroblastos la acción de estímulos que aumentan la secreción de componentes de la matriz extracelular y de secretar otros factores de crecimiento que activan otros tipos celulares, entre otros efectos.

Por “tratamiento cosmético”, según se usa en la presente invención, se entiende cualquier tratamiento que mejora la apariencia física o el olor de un sujeto.

Los defectos que pueden ser tratados de forma cosmética usando las composiciones de la invención incluyen, sin limitación, piel no estética, defectos en la piel tales como acné, celulitis, cicatrices, envejecimiento prematuro de la piel producido por la exposición al sol o a la radiación ultravioleta, defectos en la piel asociados al envejecimiento tales como arrugas, estiramiento, marcas de envejecimiento y similares.

En una forma preferida de realización, las composiciones de la invención se aplican de forma tópica, es decir, directamente a la piel y a otras superficies epiteliales del cuerpo.

Preferiblemente, el uso del extracto de la invención en un método cosmético requiere de su formulación como parche, una cápsula, una crema, un detergente, un champú, un jabón o dermojabón, sales de baño, una loción corporal acuosa, alcohólica o grasa, un aerosol, un gel, una emulsión, una barra de labios, esmalte de uñas,

manicuras, espuma de afeitar, un desodorante, un *aftershave* y similares. Alternativamente, el extracto de la invención se formula en forma de liposomas o de cualquier otro tipo de formulación que permite una liberación sostenida del extracto. Las formulaciones cosméticas comprenden, además uno o más principios activos adicionales y uno o más excipientes cosméticamente aceptables.

5 La expresión “excipiente cosméticamente aceptable”, según se usa aquí, se refiere a un excipiente que puede ser usado en distintas partes del cuerpo sin provocar toxicidad, irritación, alergia o cualquier otra reacción indeseada. Excipientes adecuados para su uso en la presente invención incluyen, sin limitación, fragancias, perfumes, emolientes, antisépticos, pigmentos, colorantes, humectantes, formadores de películas, vitaminas y  
10 otros tipos de materiales cuya presencia puede resultar interesante desde el punto de vista cosmético, dermatológico, farmacéutico. Ejemplos de este tipo de agentes se pueden encontrar en CTFA International Cosmetic Ingredient Dictionary 12th Edition, The Cosmetic, Toiletry, and Fragrance Association, Inc., Washington, D.C., 2004.

15 En otro aspecto, la invención se relaciona con un método cosmético de regeneración de la piel que comprende la administración a un individuo de la composición cosmética de la invención.

En otro aspecto, la invención se relaciona con un método cosmético para mejorar el aspecto, tersura y elasticidad de la piel que comprende la administración a un individuo de una composición cosmética

20 En una realización particular, la composición cosmética es administrada por vía tópica.

El término “vía tópica” ha sido definido anteriormente.

25 La invención se ilustra a continuación en base a los siguientes ejemplos que se proporcionan a modo ilustrativo y no limitativo del alcance de la invención.

### EJEMPLO 1

#### 30 OBTENCIÓN DEL MCLP

La extracción de sangre se realizó en condiciones asépticas mediante punción en la vena yugular de caballos estabulados dentro de una cabaña bajo control veterinario. La cantidad de sangre extraída no comprometió la salud de los animales. La extracción se realizó directamente a bolsas de sangre sin anticoagulante y bolsas de  
35 sangre precargadas con el anticoagulante CPDA-1 (citrato-fosfato-dextrosa-adenina). En el caso de las bolsas con anticoagulante, las bolsas se mantuvieron en continua agitación durante la extracción para evitar la coagulación de la sangre. Todas las muestras de sangre se conservaron en refrigeración durante un máximo de 24 horas hasta su procesamiento.

40 Para la obtención del plasma con plaquetas, parte de la sangre anticoagulada se homogeneizó y centrifugó a baja velocidad para evitar la activación plaquetaria. En una preparación particular, se centrifugó a 200 x g durante 20 min. El sobrenadante, que contenía las plaquetas resuspendidas en el plasma, se separó y conservó a temperatura ambiente hasta su utilización.

45 Para la obtención del suero, la sangre coagulada se centrifugó para separar la fracción celular de la fracción líquida y obtener el suero. En una preparación particular se centrifugó a 1.400 x g durante, 15 min. Opcionalmente, puede ser incubado a 37°C antes de centrifugar. El sobrenadante se conservó en refrigeración hasta su utilización.

50 Las plaquetas resuspendidas en medio plasmático se mezclaron con el suero en relación 1:2 (v/v), junto a una solución de cloruro de calcio estéril de grado inyectable a una concentración final de 22,5 mM. La mezcla se incubó hasta la lisis y liberación de los factores de crecimiento plaquetarios. En una preparación particular se incubó a 37°C durante 90 min. Opcionalmente la muestra puede ser congelada y descongelada para romper las plaquetas y extraer los factores de crecimiento.

55 Tras la incubación, la mezcla se centrifugó a alta velocidad para retirar las fracciones celulares y recoger el sobrenadante. En una preparación particular, se centrifugó a 9.000 x g durante 30 min. El sobrenadante rico en los factores de crecimiento plaquetarios y séricos, se sometió posteriormente a una filtración final esterilizante mediante filtros de membrana hidrofílica de baja adsorción proteica (por ejemplo, PVDF) con tamaño de poro de  
60 0,22 µm o menor para retirar toda partícula mayor de dicho tamaño de poro.

El producto final que se denominó MCLP, se alicuotó y ultracongeló (-86°C) para su conservación y/o para su posible posterior liofilización.

La esterilidad de los lotes productivos se testó mediante ensayos de esterilidad en laboratorios externos, siguiendo procedimientos descritos y validados según la Farmacopea Europea.

#### **OBTENCIÓN DEL ALOE VERA**

5 La obtención del Aloe vera se realiza partiendo de la hoja de Aloe vera previamente higienizada mediante lavado y desinfección, tras lo cual se elimina la corteza. El gel de Aloe vera se extrae mecánicamente y se estabiliza por métodos físicos y químicos convencionales. Finalmente se somete a una filtración que da lugar al extracto fresco de Aloe vera. Opcionalmente, dicho extracto fresco puede ser sometido a atomización para obtener el extracto seco de Aloe vera. El extracto se envasa en contenedores opacos o de color topacio para protegerlo de la luz y se almacena en refrigeración.

#### **CARACTERIZACIÓN DE LA COMPOSICIÓN**

El producto MCLP líquido y/o liofilizado es hidrosoluble y puede ser mezclado con al menos un ingrediente farmacéutico o cosmético para ser usado para formar cremas, spray o cualquier tipo de mezcla o preparado.

15 La solución acuosa derivada de sangre equina contiene:

- agua (aproximadamente 91%),
- proteínas séricas y plasmáticas (aproximadamente 7%, p/v), siendo la albúmina y globulinas las más abundantes. Contiene otras proteínas presentes en concentraciones menores como lipoproteínas y factores de coagulación, además de múltiples factores de crecimiento (FC). La cantidad y la variedad de dichos factores de crecimiento se encuentran por encima de los niveles basales circulantes, y
- trazas de otros materiales tales como nutrientes (glucosa, aminoácidos, y lípidos), productos de desecho del metabolismo (urea, creatinina, bilirrubina), hormonas, y sustancias inorgánicas y electrolitos (sales minerales de sodio y cloro, potasio y calcio). Sus niveles corresponden a los niveles circulantes basales presentes en el animal en el momento de la extracción (niveles fisiológicos).

Los factores de crecimiento del MCLP son moléculas que se encuentran enmascaradas, en concentraciones muy bajas respecto a las proteínas mayoritarias como la albúmina o las globulinas. Entre los factores de crecimiento presentes en el MCLP se encuentran el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF- $\beta$ 1), TGF- $\beta$ 2, factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-I), factor de crecimiento fibroblástico (FGF) y factor de crecimiento de hepatocitos (HGF). La técnica analítica que permite la detección y cuantificación de los factores de crecimiento es el ELISA, inmunoensayo enzimático que determina la concentración de los factores de crecimiento empleando anticuerpos específicos frente a las moléculas de interés. Sin embargo, no existen en el mercado ELISAs frente a los principales factores de crecimiento equinos; el empleo de ELISAs humanas para la detección de factores de crecimiento equinos puede resultar erróneo por falta de especificidad de los anticuerpos por lo que los inventores se han centrado en realizar además ensayos de eficacia del MCLP para caracterizar el producto.

40 La comprobación del estado del TGF- $\beta$ 1 en el MCLP se realizó mediante ELISA de tipo sándwich, usando el kit comercial desarrollado con anticuerpos frente a proteína humana, con la que comparte un 99% de homología (Penha-Goncalves et al. DNA Seq. 1997;7(6):375-8) cuyos anticuerpos también han empleado otros autores (Charan et al. Immunology 1997, 90(4):586-591, Carter et al. Exp Mol Pathol 2003; 74: 244-255; y Sutter et al Am J Vet Res 65:924-930, 2004). Las muestras fueron analizadas en el ELISA directamente y tras la activación de la proteína de interés en medio ácido, para detectar TGF- $\beta$ 1 inactivo y activo respectivamente.

#### **EJEMPLO 2** **ENSAYO DE EFICACIA**

50 Para la realización de los ensayos de eficacia se empleó Aloe vera líquido a pH=3,5, conservado en refrigeración y MCLP líquido a pH=7, conservado en congelación, obtenidos tal y como se ha indicado en el Ejemplo 1.

55 Previa utilización del material, éste fue esterilizado, para evitar contaminaciones que pudiesen interferir en el crecimiento/homeostasis normal de las células sometidas al tratamiento y, por tanto, en los resultados del experimento.

La esterilización consistió en el filtrado de las sustancias problema, una vez añadidas al medio de cultivo, con filtros de 0,22  $\mu$ m. Como control del ensayo se utilizó medio de cultivo estándar para células adherentes.

60 Las líneas celulares elegidas fueron:

- HaCaT (queratinocitos humanos de piel de adulto inmortalizadas, no tumorogénicas), es una línea celular de queratinocitos adultos con bajo calcio dependientes de temperatura.
- Fibroblastos humanos primarios.

El medio de cultivo utilizado fue el estándar (Dulbecco's Modified Eagle's Medium, DMEM, suplementado con suero fetal bovino al 10% (v/v), glutamina 1x, y cocktail de antibióticos 1x).

5 Tras las pruebas preliminares para la determinación de las concentraciones óptimas de experimentación se realizó un primer ensayo "Wound Healing" (Cierre de herida), para evaluar la capacidad regeneradora de los productos problema, mediante la valoración *de visu* del cierre de las heridas realizadas de forma artificial en una monocapa de células. Además, se realizaron ensayos de MTT, para valorar objetivamente el aumento del número de células en estas zonas respecto de las heridas de las muestras control. Este ensayo se basa en la reducción metabólica del bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT) realizada por la enzima mitocondrial succinato-deshidrogenasa en un compuesto coloreado de color azul (formazán), permitiendo determinar la funcionalidad mitocondrial de las células tratadas. Este método ha sido muy utilizado para medir supervivencia y proliferación celular. La cantidad de células vivas es proporcional a la cantidad de formazán producido.

15 El material utilizado fue siempre estéril y de grado de cultivo celular. El proceso de manipulación celular se llevó a cabo dentro de una cabina de seguridad biológica y las células fueron cultivadas en incubadores de CO<sub>2</sub> al 5%, 37°C de temperatura y 90% de humedad.

### 2.1. Determinación de concentraciones óptimas de trabajo

20 Una vez estabilizado el cultivo de células, las células fueron expandidas y de nuevo estabilizadas, para sembrarlas en placas de 24 pocillos. Una vez alcanzada una confluencia del 40% aproximadamente (Figura 1), se administraron los productos problemas a diferente concentración.

### 2.2. "Wound Healing" o Cierre de Heridas

Una vez estabilizado el cultivo de células, las células fueron expandidas y de nuevo estabilizadas, para sembrarlas en placas de 12 pocillos.

30 Cuando alcanzaron una confluencia del 90% aproximadamente (Figura 2), se realizaron las heridas de tamaño controlado (1 mm) por triplicado, en cada uno de los pocillos. Después de realizar un lavado con PBS 1X estéril para eliminar los restos celulares, se añadió 1 ml a cada pocillo con el tratamiento correspondiente a cada grupo muestral (Figura 3). Como control negativo se emplearon células crecidas en medio de cultivo estándar, es decir, sin tratamiento con productos adicionales.

35 La evaluación del cierre de las heridas, es decir, de la eficacia de los productos, se realizó *de visu* cada 24 h y mediante ensayo MTT una vez se detectó el primer cierre de herida en cualquiera de los pocillos (HaCaT a las 72 h y fibroblastos a las 48 h). Para el ensayo del MTT, una vez preparada la solución stock de MTT (1 mg/ml) en PBS, se diluyó (1:10) en medio de cultivo completo, que se añadió a las células, después de retirar los tratamientos.

40 Tras incubar a 37°C durante 3 horas, se retiró la solución, se añadió dimetilsulfóxido (DMSO), y se midió la absorbancia a 542 nm en lector de placas (SpectraFluor, Tecan). Como método de calibrado del lector de placas, se determinó la densidad óptica correspondiente a la absorbancia del disolvente (DMSO).

45 La prueba de interacción de las sustancias con el MTT fue negativa, tanto para el Aloe vera como para el MCLP. Esta evaluación se realiza para comprobar que las sustancias no provocan ningún cambio de color y, por tanto, para descartar falsos positivos.

50 Los criterios de evaluación utilizados fueron de dos tipos:

- cierre de herida mediante análisis *de visu*; y
- regeneración celular mediante ensayo MTT.

### 2.3. Resultados

#### Determinación de concentraciones óptimas de experimentación

60 La determinación de las concentraciones óptimas de experimentación se realizó únicamente para los principios activos Aloe vera y MCLP. También se realizaron ensayos con otros aditivos como el carbómero y el agente neutralizante, trietanolamina (TEA); se observó que el TEA alteraba la morfología celular (Figura 4) con todas las concentraciones evaluadas, y la viabilidad celular en altas concentraciones (Figura 5) debido a la alcalinización de las condiciones de cultivo.

Tal y como muestra la Figura 6, para ambos tipos celulares la mejor concentración de Aloe vera fue el 10% y para MCLP fue el 10%. Sin embargo, MCLP 5% parece ejercer un efecto óptimo similar al del Aloe vera. Por este motivo, se decidió probar esta concentración al evaluar la mezcla de ambos ingredientes.

## 5 Ensayo “Wound Healing” o Cierre de la herida

### A. Análisis de *visu*

10 El análisis del tamaño de herida cada 24 h permitió seguir la correcta evolución del experimento (Figura 7), así como determinar el momento de realización del MTT.

### B. Cuantificación de la regeneración celular

15 El ensayo MTT se realizó a las 72 h, después de la administración del tratamiento, en el caso de los queratinocitos, y tras 48 h en el caso de los fibroblastos humanos primarios.

20 En la Figura 8 se observa que, en el caso de los queratinocitos, existe mayor regeneración en respuesta al tratamiento con Mezcla de aloe vera y MCLP, respecto al tratamiento con los ingredientes sin combinar. De igual forma ocurre en el caso de los fibroblastos donde, además, la proporción de regeneración achacable a la Mezcla de Aloe vera y MCLP es más de tres veces superior a la de queratinocitos.

## 2.4 Conclusiones

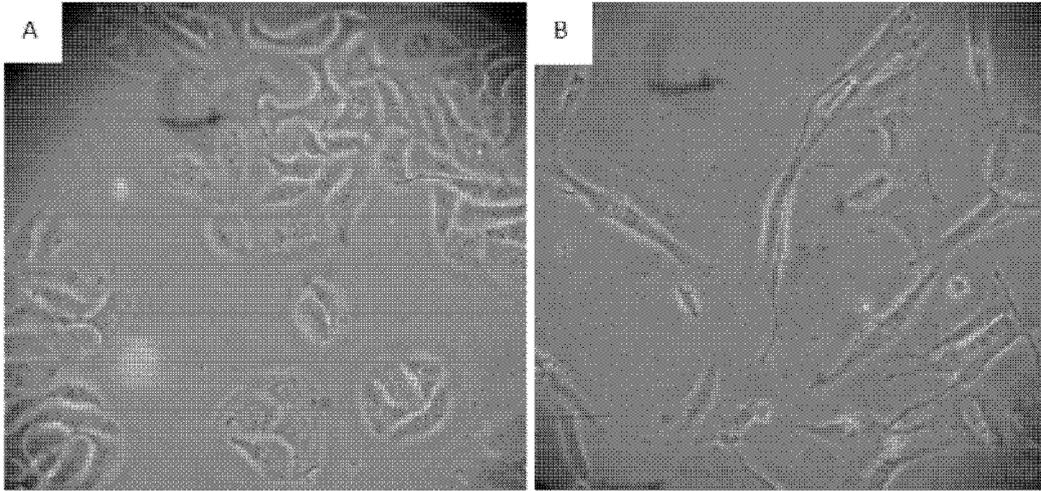
25 Tanto el Aloe vera como MCLP promueven la proliferación y la capacidad migratoria de los fibroblastos y los queratinocitos respectivamente. Además la combinación de Aloe vera y MCLP promueve una mayor regeneración que la administración de los ingredientes por separado.

30 El efecto regenerativo observado *in vitro* es más potente en células de capas más internas (fibroblastos) que en células de capas superficiales (queratinocitos).

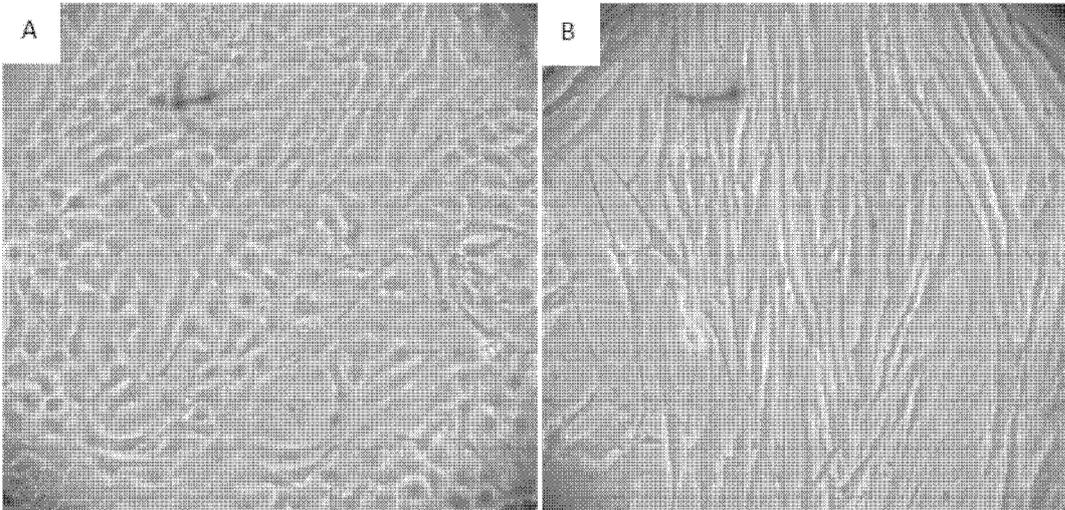
35 El hecho de que la estimulación de los fibroblastos se produzca más rápidamente (48 h) que la de los queratinocitos (72 h), indica que el primer tipo celular es más susceptible de estimulación por la mezcla de Aloe vera y MCLP, lo que podría indicar una mayor eficacia procesos de regeneración en los que estuviesen implicados los fibroblastos.

## REIVINDICACIONES

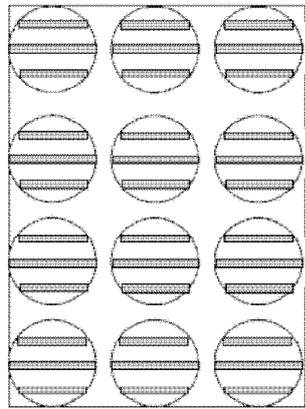
1. Una composición que comprende:
  - (i) un componente A, en la que dicho componente A es una mezcla de compuestos liberados de plaquetas (MCLP) que se obtiene mediante un procedimiento que comprende las etapas de:
    - a) dividir en dos fracciones A y B una cantidad de sangre total de un sujeto,
    - b) permitir la formación del coágulo de la fracción A y separar el coágulo del suero, descartando el coágulo y reservando el suero,
    - c) anticoagular la fracción B con una cantidad de anticoagulante,
    - d) separar la fracción B anticoagulada procedente de la etapa c) en una fracción celular que contiene principalmente células rojas y leucocitos y una fracción de plasma enriquecido en plaquetas que comprende una pluralidad de plaquetas, descartar la fracción celular y reservar la fracción de plasma enriquecido en plaquetas que comprende una pluralidad de plaquetas,
    - e) combinar la fracción de plasma enriquecido en plaquetas y suero procedente de la fracción A para obtener una mezcla,
    - f) inducir la lisis de la pluralidad de plaquetas de la fracción del plasma enriquecido en plaquetas para obtener una fracción de plasma enriquecido en plaquetas que contiene plaquetas lisadas comprendiendo productos almacenados en estructuras de las plaquetas, citosol y fragmentos estructurales de las plaquetas y suero procedente de la fracción A, y
    - g) eliminar los fragmentos estructurales de las plaquetas presentes en dicha mezcla ; y
  - (ii) un componente B, en el que dicho componente B es un compuesto emoliente o cicatrizante.
2. Composición según la reivindicación 1, en la que la sangre procede de un mamífero.
3. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en la que dicho compuesto emoliente o cicatrizante se selecciona del grupo de los compuestos emolientes o cicatrizantes mencionados en la Tabla 1, o cualquier combinación de los mismos.
4. Composición según la reivindicación 3, en la que el compuesto emoliente o cicatrizante es Aloe vera.
5. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el porcentaje de MCLP está comprendido entre 1% y 8% (v/v).
6. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el porcentaje de MCLP está comprendido entre 8% y 15% (v/v).
7. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6, en la que el porcentaje de Aloe vera está comprendido entre 7% y 15% (v/v).
8. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 que comprende, adicionalmente, un adyuvante.
9. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad farmacéuticamente eficaz de una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
10. Una composición cosmética que comprende una cantidad cosméticamente eficaz de una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 y un vehículo cosméticamente aceptable.
11. Uso de una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 en la elaboración de un medicamento para la curación de heridas.
12. Uso de una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 en la elaboración de un medicamento para la bioestimulación de fibroblastos.
13. Uso de una composición según cualquiera de las reivindicaciones 11 ó 12, en el que dicha composición es administrada por vía tópica.
14. Método cosmético de regeneración de la piel que comprende la administración a un individuo de una composición cosmética según la reivindicación 10.
15. Método cosmético para mejorar el aspecto, tersura y elasticidad de la piel que comprende la administración a un individuo de una composición cosmética según la reivindicación 10.
16. Método cosmético según cualquiera de las reivindicaciones 14 ó 15, en el que la composición cosmética es administrada por vía tópica.



**FIGURA 1**



**FIGURA 2**



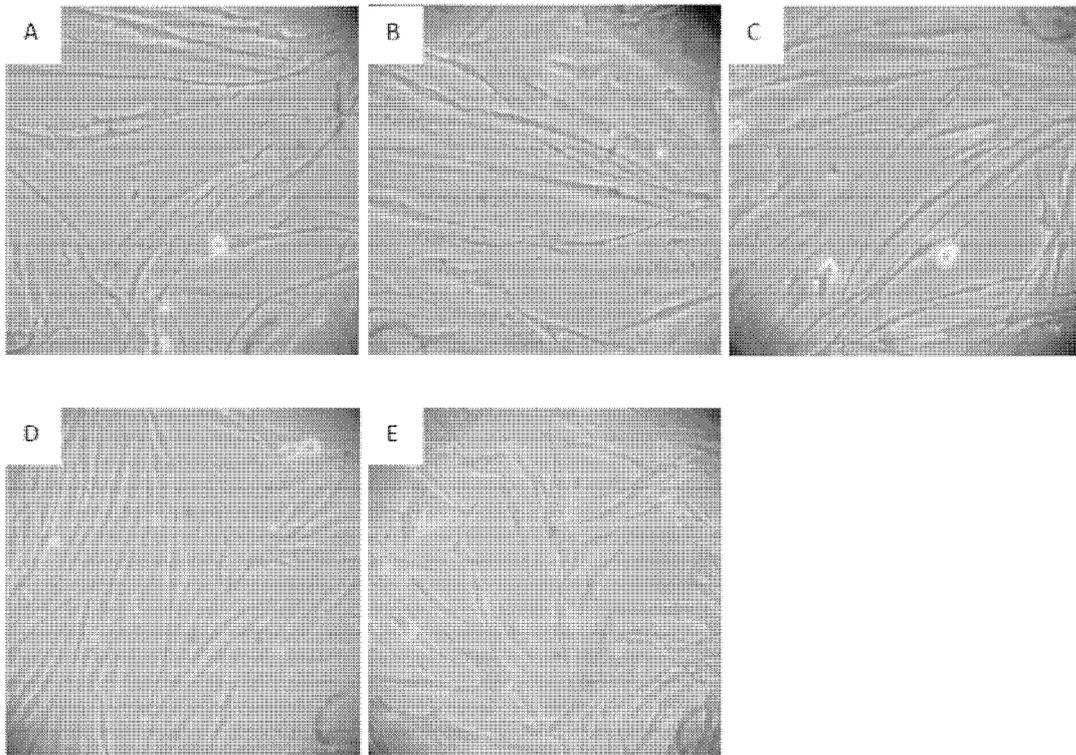
Control: células sin tratamiento (medio de cultivo estándar)

AV 10%: células tratadas con Aloe vera al 10%

MCLP 5%: células tratadas con MCLP al 5%

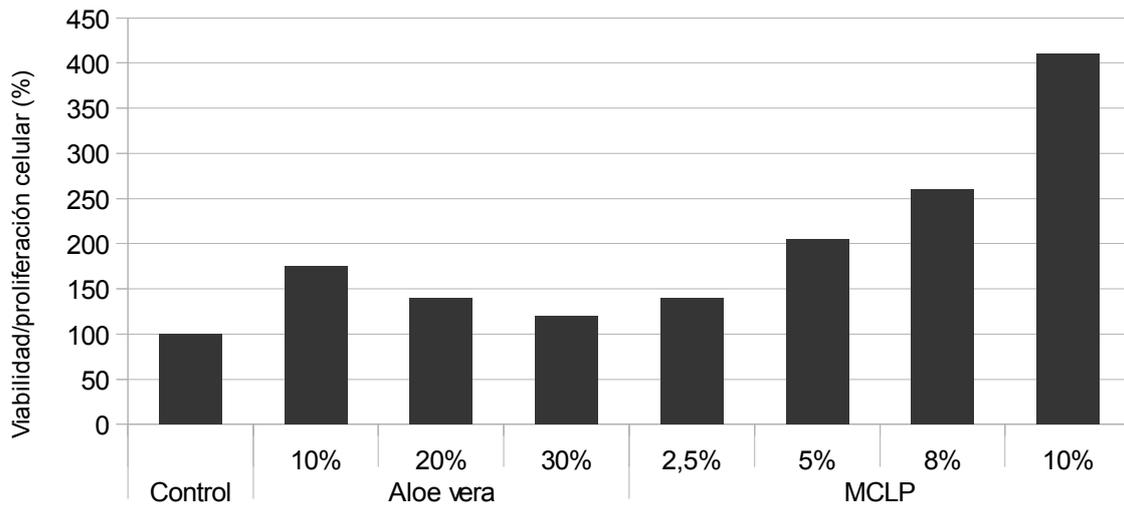
Mezcla: células tratadas con AV 10% + MCLP al 5%

**FIGURA 3**



**FIGURA 4**

### Proliferación Fibroblastos Humanos



### Mortalidad Fibroblastos

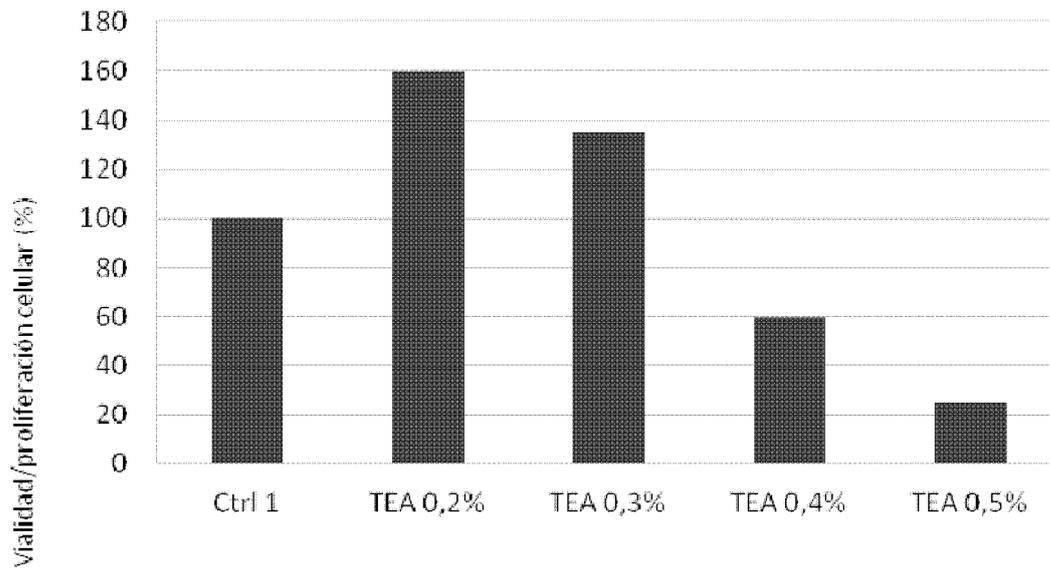


FIGURA 5

Proliferación Queratinocitos Humanos

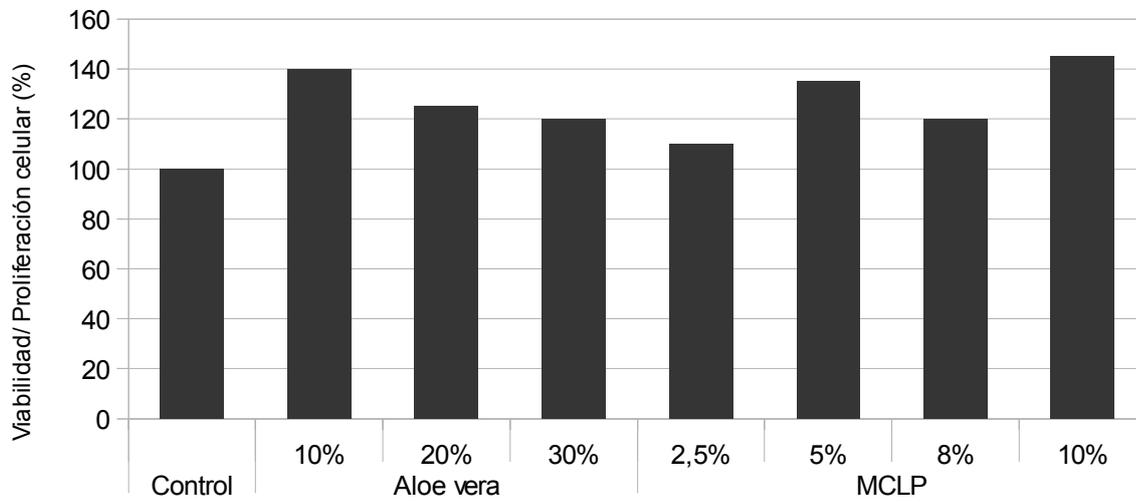


FIGURA 6

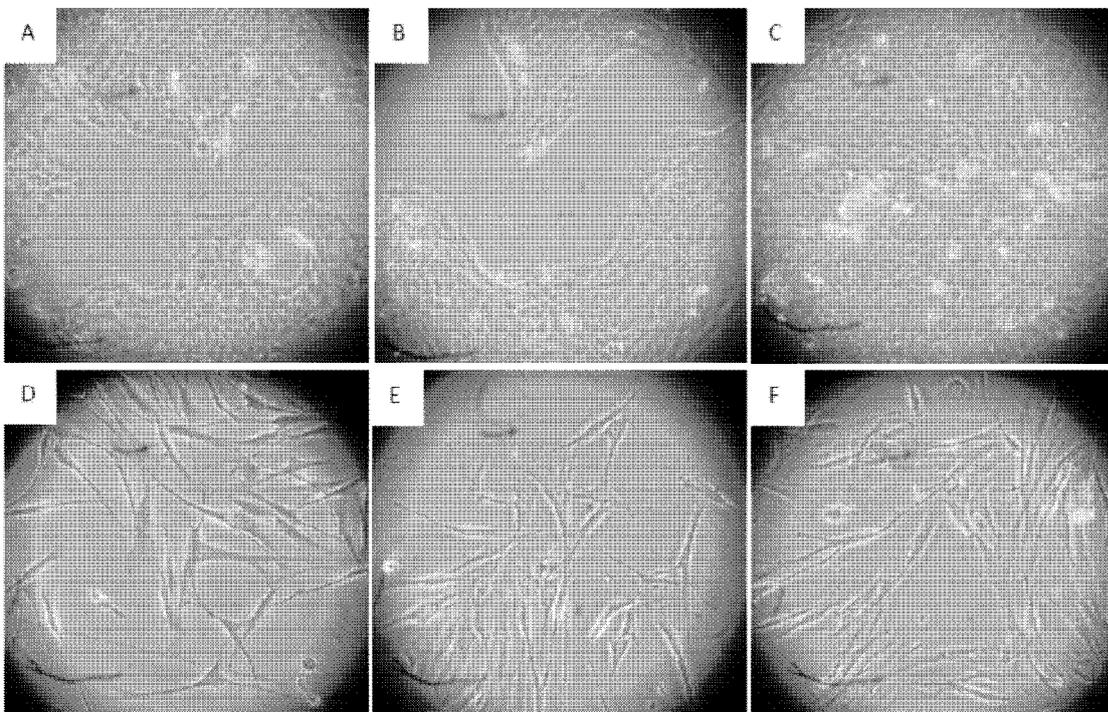
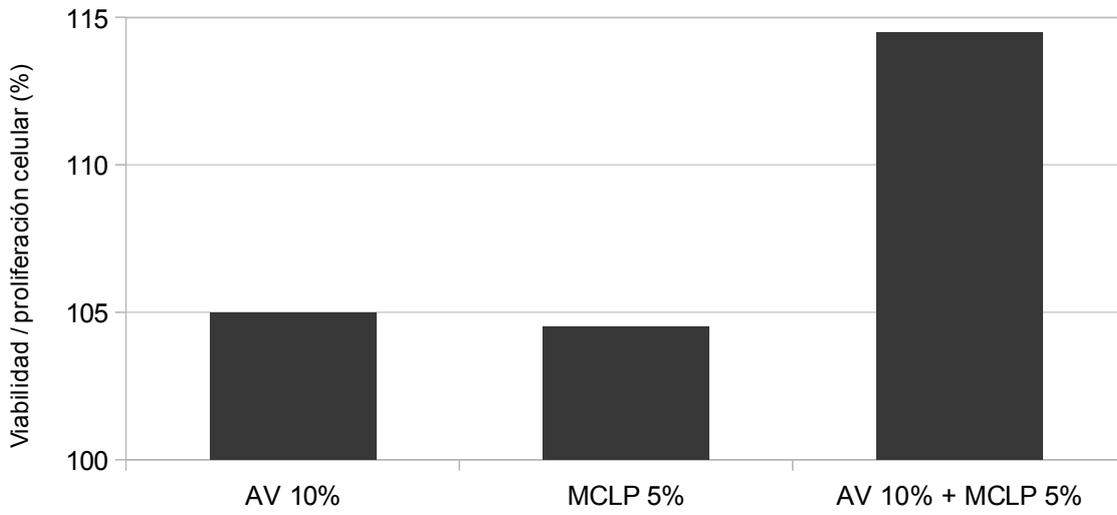
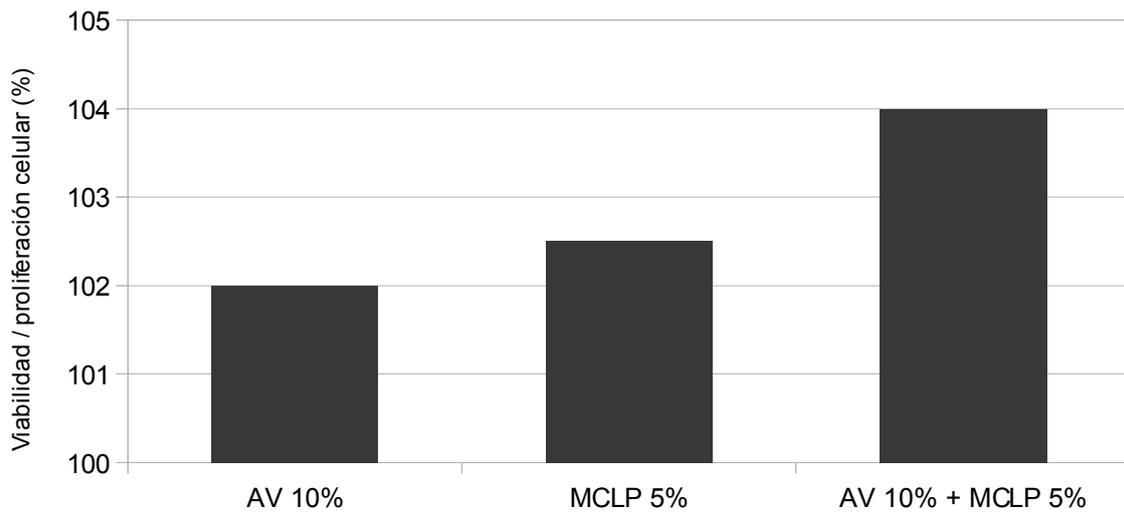


FIGURA 7

### Regeneración de Fibroblastos



### Regeneración de Queratinocitos



**FIGURA 8**