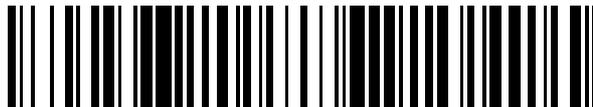


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 536 418**

51 Int. Cl.:

A61K 31/343 (2006.01)
A61K 31/34 (2006.01)
A61K 36/54 (2006.01)
A61K 36/00 (2006.01)
A61P 7/10 (2006.01)
A61P 17/16 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
A61K 38/18 (2006.01)
A61K 38/45 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.06.2009 E 09766685 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.04.2015 EP 2319537**

54 Título: **Estabilizador de vasos linfáticos**

30 Prioridad:

18.06.2008 JP 2008159623

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

25.05.2015

73 Titular/es:

**SHISEIDO COMPANY, LTD. (100.0%)
5-5 Ginza 7-chome Chuo-ku
Tokyo 104-8010, JP**

72 Inventor/es:

**KAJIYA, KENTARO y
OTA, MASAHIRO**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 536 418 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Estabilizador de vasos linfáticos

Campo técnico

5 La presente invención proporciona un activador de Tie2 (agente de fosforilación) de empleo en el tratamiento o prevención de enfermedades de la piel atribuibles a difusión de linfa ocasionada por inestabilidad estructural de los vasos linfáticos.

Antecedentes de la técnica

10 La sangre se emite desde el corazón y atraviesa capilares y venas después de lo cual retorna al corazón. Los vasos linfáticos son vasos que forman caminos para descargar fluido de tejidos separados de este sistema de circulación. Los vasos linfáticos sostienen el volumen de la sangre en un nivel constante y mantienen un sistema circulatorio cerrado devolviendo fluido intersticial, proteína, grasa, células y similares que han difundido de los vasos sanguíneos a tejidos periféricos con respecto al sistema vascular. En los capilares presentes en la piel, las superficies de las células endoteliales están rodeadas por una membrana de base y hay pericitos unidos además a ellas. Por otra parte, en los capilares linfáticos, apenas hay apenas membrana de base que rodee las superficies de las células del endotelio y no hay pericitos fijados a ella. Esta estructura es útil para incorporar eficazmente fluido y células corporales que proceden del intersticio (Documento no patente, 1). Se ha expuesto anteriormente que el receptor relacionado con tirosinasa, receptor 3 del factor de crecimiento del endotelio (VEGER-3), está expresado específicamente en células linfáticas endoteliales, y se ha expuesto que sus ligandos en la forma de VEGF-C y VEGF-D inducen la linfangiogénesis. Además, se ha demostrado claramente que el VEGF-A induce linfangiogénesis por medio de VEGFR2 expresado en células linfáticas endoteliales (Documento no patente, 2). Además, se describe más adelante un ejemplo de un informe que describe función de conductos de linfa. Aun cuando se observó linfangiogénesis prominente en la oreja de ratón infectada con adenovirus que expresan VEGF-A, aparte de adición a anomalías estructurales, se determinó claramente que la función de recuperación de los vasos linfáticos estaba inhibida considerablemente en base a los resultados de un experimento en el que se inyectó carbono coloidal (negro de humo) en la oreja (Documento no patente, 3). En otras palabras, se cree que se requieren vasos linfáticos para estar adecuadamente situados y alineados con células linfáticas endoteliales con objeto de actuar. Se ha definido esto como "estabilización de vasos linfáticos".

30 La estimulación física o química de la piel induce permeabilidad vascular debido a angiogénesis, VEGF-A y similares, dando por resultado la acumulación de fluido de tejidos y la ocurrencia de edema. Por otra parte, se sabe también que estos estímulos inducen directamente neogénesis y dilatación de vasos linfáticos. La dilatación de vasos linfáticos se ha observado que es inducida por inflamación por radiación ultravioleta, al tiempo que experimentos que llevan consigo inyección de colorante han demostrado claramente que se inhibe la función de los vasos linfáticos. Se cree que los vasos linfáticos se dilatan en un intento de recuperar fluido intersticial que acompaña a la difusión de humedad en la dermis que va junto con vasodilatación. No obstante, se piensa asimismo que una dilatación excesiva de los vasos linfáticos retarda el edema al hacer disminuir a la inversa su función de recuperación (Documento no patente, 4). En otras palabras, se cree que la "estabilización de vasos linfáticos" que no induce una dilatación excesiva de los vasos linfáticos, se requiere para una recuperación rápida de fluido intersticial.

40 Ejemplos de estados patológicos que se ha sabido anteriormente que llevan consigo disfunción de los vasos linfáticos, incluyen el linfedema congénito así como el linfedema secundario asociado con filariasis, cirugía, tumores malignos e inflamación. Como ejemplos de linfedema congénito se incluyen la enfermedad de Milroy, la enfermedad de Meige y el síndrome de distiquiasis de linfedema. La aplasia o hipoplasia de vasos linfáticos ha sido descrita en la enfermedad de Milroy, mientras que hiperplasia de vasos linfáticos ha sido indicada en el síndrome de distiquiasis de linfedema. También se piensa sobre la base estos descubrimientos, que es necesario retener la función de recuperación a través no solo en la linfangiogénesis, sino también en la estabilización de los vasos linfáticos (Documento no patente, 5).

Documentos de la técnica anterior

Documentos no patente.

Documento no patente, 1: Jikken Igaku (Experimental Medicine, Vol. 24, No. 18 (2006), páginas 133-138.

50 Documento no patente, 2: Jussila, L. y Alitalo, K.: (2006). Vascular growth factors and lymphangiogenesis, *Physiol. Rev.*, 82, 673-700.

Documento no patente, 3: Nagy, et al.: (2002) Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor induces lymphangiogenesis as well as angiogenesis, *J. Exp. Med.*, 196, 1497-1506.

55 Documento no patente, 4: Kajiyama, K., Hirakawa, S. y Detmar, M.: (2006) VEGF-A mediate UVB-induced impairment of lymphatic vessel function, *Am. J. Pathol.*, 169, 1496-1503.

Documento no patente, 5: Experimental Medicine, Vol. 24, No. 18 (2006), páginas 139-143.

Documento no patente, 6: Kajiya, K., et al.: (2005) Hepatocyte growth factor promotes lymphatic vessel formation and function, EMBO. J., 24, 2.885-95.

Documento no patente, 7: Experimental Medicine, Vol. 20, No. 8 (2002), páginas 52-57.

5 NN: "Habb Waasli", TKDL, no. MH5/2791 1 enero 1811 (1811-01-01),
 XP002666404, Recuperado de Internet
 URL:http://www.tkdil.res.in/tkdil/LangDefault/Formulation/Member_Docs/BC/unani/highlight.asp?a=/tkdil/langdefault/formulation/member_docs/bc/unani/mh5-2791.asp&b=mh5-2791.asp&b=mh5/2791&c=F&stypePrint=GLOBAL-SIMPLE-SEARCH?str=Global [recuperado el 2011-12-28], se refiere a una formulación que contiene *Cinnamomum cassia* junto con 13 ingredientes nuevos empleados para el tratamiento de linfadenitis cervical y de linfadenitis por administración oral.

10 NN: "Itreefai Ghudadi", TKDL, no. MH/3719 1 enero 1811 (1811-01-01),
 XP002666405, Recuperado de Internet
 URL:http://www.tkdil.res.in/tkdil/LangDefault/Formulation/Member_Docs/BC/unani/highlight.asp?a=/tkdil/langdefault/formulation/member_docs/bc/unani/mh1-3719.asp&b=mh1/3719&c=F&stypePrint=GLOBAL-SIMPLE-SEARCH?str=Global [recuperado en 2011-12-28], se refiere a una formulación que contiene *Cinnamomum cassia* junto con 20 ingredientes nuevos empleados para el tratamiento de linfadenitis cervical por administración oral.

15 NN: "Kukkilathy Vaadakam", TKDL, no. GP03/245 1 enero 1911 (1911-01-01),
 20 XP002666406, Recuperado del Internet
 URL:http://www.tkdil.res.in/tkdil/LangDefault/Formulation/Member_Docs/BC/Siddha/highlight.asp?a=/tkdil/langdefault/formulation/member_docs/bc/siddha/gp03-245.asp&b=gp03/245&c=F&stypePrint=GLOBAL-SIMPLE-SEARCH?str=Global [recuperado en 2011-12-28], se refiere a una formulación que contiene *Cinnamomum cassia* junto con 13 ingredientes nuevos empleados para el tratamiento de edema e inflamación por administración oral.

Compendio de la invención

Problema técnico

Un objeto de la presente invención es proporcionar un fármaco eficaz para mantener y acelerar la función de recuperación de vasos linfáticos por estabilización de los vasos linfáticos

30 Medios para resolver los problemas

Siguiendo la clonación molecular de VEGF, moléculas de la familia de VEGF y de la familia de angiopoyetina (ANG) han sido identificadas sucesivamente como factores que actúan específicamente en la formación de vasos sanguíneos. El VEGF y sus receptores están implicados en un intervalo sumamente amplio de formación de vasos sanguíneos que se extiende desde la formación inicial de vasos sanguíneos a lo que se alude como vasculogénesis, a la subsiguiente angiogénesis. Por otra parte, Ang funciona en la formación de lumen que acompaña a fenómenos celulares tales como en brote, ramificación, invaginación y regresión mediante células vasculares del endotelio que siguen a la vasculogénesis. Ang regula la adhesión entre las células vasculares del endotelio y las células de la pared vascular tales como pericitos, y las células vasculares de la musculatura lisa que median por tirosina quinasa relacionada con el receptor, con el dominio 2 (Tie 2) de homología de Ig y EGF, expresado en células vasculares del endotelio, y aun cuando ha de entenderse que actúan estabilizando la estructura vascular (Documento no patente, 7), la relación entre Tie2 y los vasos linfáticos no ha sido esclarecida adecuadamente.

40 Cuando los inventores de la presente invención llevaron a cabo una investigación enfocada hacia la relación existente entre Ang-1 y Tie2 expresada en células linfáticas endoteliales, se encontró que Ang-1 favorece la función de recuperación de vasos linfáticos que media por activación de Tie2, llevando con ello a la terminación de la presente invención según se describe seguidamente:

(1) un activador de Tie2 de empleo en el tratamiento o prevención de enfermedades de la piel atribuibles a difusión de linfa ocasionada por inestabilidad estructural de vasos linfáticos en donde el activador de Tie2 es un extracto de plantas de la especie *Cinnamomum*;

(2) el activador de empleo según (1), en donde el extracto se deriva de *Cinnamomum cassia* Blume;

50 (3) el activador de empleo según (1) ó (2) en donde el extracto se deriva de vástago de canela o de corteza de canela;

(4) el activador de empleo según una cualquiera de (1) a (3), en donde el extracto es un extracto acuoso; y

(5) el activador de empleo según una cualquiera de (1) a (4), en donde la enfermedad es edema o hinchazón.

Efectos de la invención

El empleo de un extracto de planta de especie *Cinnamomum* como un activador de Tie2 hace posible tratar y/o evitar enfermedades de la piel atribuibles a difusión de linfa ocasionada por inestabilidad estructural de vasos linfáticos tales como, por ejemplo, edema o hinchazón.

5 Descripción breve de los dibujos

La FIG. 1 es una gráfica en la que están puntuados cambios en la función de recuperación de vasos linfáticos inducida por Ang-1 basados en una valoración visual.

La FIG. 2 expone los resultados de fosforilación de Tie2 por extracto de la corteza de canela.

La FIG. 3 expone los resultados de fosforilación de Tie2 por Ginseng siberiano.

10 Realizaciones de la invención

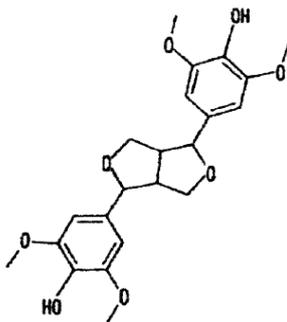
Como ejemplos de activadores de Tie2 se incluyen activadores de Tie2 conocidos comúnmente tales como angiopoyetina 1 que tienen actividad que activa Tie2, y activadores de Tie2 que se había encontrado nuevamente que tienen esa actividad por los inventores de la presente solicitud de patente, tales como extractos de plantas de especie de *Cinnamomum*, extracto de Ginseng siberiano (no según la presente invención) o siringaresinol (no según la presente invención). Además, la activación de Tie2 como se describe en la presente memoria se refiere a la aptitud para poder convertir Tie2 en su forma activa (Tie2 fosforilado) por fosforilación.

Los miembros del género *Cinnamomum* se refieren a plantas que pertenecen al orden de las Lauráceas, familia Lauráceas, y consisten en más de 300 especies, ejemplos conocidos de los cuales incluyen *Cinnamomum cassia* Blume, *C. camphora*, *C. daphnoides*, *C. doederleinii*, *C. japonicum*, *C. pseudopedunculatum*, *C. sieboldii*, *C. verum* y *C. zeylanicum*. Preferiblemente, se emplea un extracto derivado de *Cinnamomum cassia* Blume, y particularmente preferiblemente, un extracto que deriva de vástago de canela, que es una rama joven de *Cinnamomum cassia* Blume, o de corteza de canela, para el activador de Tie2 de la presente invención. Aun cuando se sabe que extractos de corteza de canela son útiles como ingrediente activo de tónicos del cabello (publicación de Patente japonesa sin examinar, No. H10-265.350), su actividad de estabilización de vasos linfáticos ha sido completamente desconocida hasta ahora.

Se ha dicho tradicionalmente que el extracto de Ginseng siberiano era eficaz para la restauración física o mental. Este extracto es sumamente eficaz para capacidades mentales y físicas disminuidas tales como debilitación, fatiga extrema o concentración disminuida, así como recuperación de la dolencia que sigue. Se emplea en EE.UU. como suplemento de dietas.

El extracto citado puede obtenerse según los métodos ordinarios, y por ejemplo, puede obtenerse sumergiendo o calentando a reflujo una planta origen como un disolvente de extracción, o bien a temperaturas normales o mientras se está calentando, seguido de filtración y concentración. Puede emplearse cualquier disolvente como el disolvente de extracción procurando que sea uno de los disolventes que se emplean ordinariamente para la extracción, ejemplos de los cuales incluyen disolventes acuosos tales como agua, solución salina fisiológica, tampón de fosfato o tampón de borato, y disolventes orgánicos que incluyen alcoholes tales como etanol, propilenglicol, 1,3-butilenglicol o glicerina, alcoholes que contienen agua, cloroformo, dicloroetano, tetracloruro de carbono, acetona, acetato de etilo y hexano, y estos pueden utilizarse solos o en combinación, El agua se emplea preferiblemente como el disolvente. Los extractos obtenidos por extracción con los disolventes mencionados pueden utilizarse tal como son, pueden utilizarse en forma de un extracto concentrado obtenido por concentración por liofilización y similares, pueden utilizarse después de eliminar las impurezas empleando adsorción o una resina de intercambio iónico y similares, o pueden adsorberse con una columna de un polímero poroso (tal como Amberlite XAD-2), seguido de elución con un disolvente deseado y después concentración adicional.

El siringaresinol es un compuesto de lignano antioxidante único para vegetales, y se emplea en alimentos, bebidas y compuestos farmacéuticos debido a su efecto de mejoría de la hipertensión y su efecto inhibitor sobre el *Helicobacter pylori* (véanse, por ejemplo, la publicación de la Patente japonesa sin examinar No. H8-268.887 y la 887 y la publicación de la Patente japonesa sin examinar No. 2004-352.652). El siringaresinol posee la estructura química indicada seguidamente.



El siringaresinol es un compuesto conocido y está contenido en *Cinnamomum cassia* Blume del orden Laurales, familia Laureáceas, y en particular en ramas jóvenes (vástago de canela) o corteza (corteza de canela) de las mismas. Sin embargo, sus efectos de estabilización de vasos linfáticos y de activación de Tie2 están completamente desconocidos. El siringaresinol puede extraerse de un origen natural tal como vástago de canela o corteza de canela, o puede sintetizarse.

El siringaresinol puede tener la forma de una sal inorgánica o de una sal orgánica. Como ejemplos de sales se incluyen, pero no se limitan a, sales inorgánicas tales como hidrocloruros, sulfatos, fosfatos, hidrobromuros, sales de sodio, sales de potasio, sales de magnesio, sales de calcio o sales de amonio. Como ejemplos de sales orgánicas se incluyen acetatos, lactatos, maleatos, fumaratos, tartratos, citratos, metanosulfonatos, p-toluenosulfonatos, sales de trietanolamina, sales de dietanolamina y sales de aminoácidos.

Según la presente invención, el activador de Tie2 se emplea como un compuesto farmacéutico o cosmético eficaz para tratar y/o evitar diversas enfermedades de la piel tales como edema (hinchazón) atribuible a dispersión de linfa ocasionada por inestabilidad estructural de vasos linfáticos. Como ejemplos de edema se incluyen el linfedema secundario asociado con la radiación ultravioleta, filariasis, cirugía, tumores malignos e inflamación, y el linfedema congénito tal como la enfermedad de Milroy, la enfermedad de Meige y el síndrome de distiquiasis de linfedema.

El activador de Tie2 puede emplearse también en un método cosmético para disminuir y/o evitar la hinchazón o bolsas bajo los ojos. Este método cosmético puede llevarse a cabo, por ejemplo, aplicando el activador de Tie2 en un sitio en que haya hinchazón y similares, y o bien dejándole estar tal como es o favoreciendo la circulación de linfa por masaje en la dirección de la circulación de la linfa. Como ejemplos de posiciones en que se aplica este método se incluyen sitios que cubren el cuerpo entero tales como la cara, cuello, manos y pies.

La dosis, método de aplicación y forma del activador de Tie2 pueden determinarse adecuadamente según el propósito de empleo del mismo. Por ejemplo, no existen limitaciones particulares en cuanto a la forma de administración del activador de Tie2, y aun cuando puede tener la forma de administración oral, administración parenteral o aplicación externa, es preferiblemente en la forma de aplicación externa. Como ejemplos de formas farmacéuticas se incluyen preparaciones externas tales como pomada, crema, loción lechosa, loción, aditivo de envase para aplicación o baño facial, preparaciones parenterales tales como una preparación de inyección, preparación de infusión o supositorios, y preparaciones orales tales como comprimidos, polvos, cápsulas, gránulos, extracto o jarabe. Además, otro ejemplo de una aplicación del activador de Tie2 es un alimento funcional.

Aun cuando la cantidad de activador de Tie2 de una preparación que contiene el activador de Tie2 puede determinarse adecuadamente correspondiendo a la aplicación es, típicamente, 0,0001 a 20 % en moles y, preferiblemente, 0,0001 a 10,0 % en moles, basada en la cantidad total de la preparación.

Además de esto, un vehículo, agente desecante, conservante, agente de refuerzo, espesante, emulgente, antioxidante, edulcorante, aromatizante de sabor agrio, condimentos, colorante o fragancia, utilizados ordinariamente en alimentos y compuestos farmacéuticos, o un agente que comunica blancura, un humidificador, un componente oleoso, un absorbente de radiación ultravioleta, tensioactivo, espesante, alcohol, componente pulverulento, colorante, componente acuoso, agua o diversos tipos de nutrientes de la piel utilizados típicamente en cosmética, pueden incorporarse adecuadamente según sea necesario en una preparación, además del activador de Tie2.

Aun más, en el caso de utilizar el activador de Tie2 en la forma de una preparación externa para la piel, puede incorporarse adecuadamente un auxiliar en la preparación externa para la piel, ejemplos de los cuales incluyen agentes quelantes de metales tales como edetato disódico, edetato trisódico, citrato sódico, polifosfato sódico, metafosfato sódico o ácido glucónico, fármacos tales como cafeína, tanino, verapamilo, ácido tranexámico y sus derivados, extracto de regaliz, glabridina, extracto con agua caliente de fruta de membrillo, diversas medicinas herbales, acetato de tocoferol o ácido glicirricico y derivados o sales de los mismo, agentes que comunican blancura tales como vitamina C, fosfato de ascorbilo y magnesio, glucósido del ácido ascórbico, albutina o ácido kójico,

azúcares tales como glucosa, fructosa, manosa, sacarosa o trehalosa, y sustancias de vitamina A tales como ácido retinoico, retinol, acetato de retinol o palmitato de retinol.

Ejemplos

5 La exposición que sigue proporciona una explicación más detallada de la presente invención mediante ejemplos de la misma. Las cantidades incorporadas se indican como tanto por ciento en peso (%p)

Métodos experimentales

Ensayo de drenaje de linfa

10 Los pabellones auriculares de ratones de 8 semanas de edad fueron infectadas con adenovirus (1×10^9 ifu/ratón), en los que se había incorporado angiopoyetina-1 (Ang-1) derivada de ratón en un vector AdenoX, con una jeringuilla Hamilton (Hamilton, Reno, NV). Los ratones fueron infectados también con adenovirus que incorporaban solamente vector AdenoX como control. Se inyectó 1 μ l de solución de negro de humo coloidal (Kamei Co., Ltd., Japón) en la punta del pabellón auricular con una jeringuilla Hamilton, seguido del análisis de los cambios basados con el tiempo en la corriente de linfa. Como resultado, se observó función de recuperación de vasos linfáticos fomentada en las orejas de ratones que expresaban altamente Ang1 (resultados no expuestos). Además, se observó también una puntuación visual de cambios en la función de recuperación de vasos linfáticos, y se realizaron comparaciones puntuando los niveles (5: toda la tinta permanecía en los vasos linfáticos, 1: toda la tinta recuperada y no presente más tiempo en los vasos linfáticos), cuyos resultados se exponen en la FIG. 1. En base a la FIG. 1, se observó una promoción notable de la función de recuperación de los vasos linfáticos en comparación con la del control debida a expresión del activador de Tie2, Ang-1, lo que demuestra de este modo que los vasos linfáticos son estabilizados por activación de Tie2.

15 Además, después de sacrificar los animales por anestesia, las orejas de los animales fueron recogidas simultáneamente y trituradas en nitrógeno líquido seguido de extracción de proteína con Phosphosafe Extraction Reagent (Novagen, Madison, WI). La cantidad total de proteína se determinó con el RC DC Protein Assay Kit (BIO-RAD, Hercules, CA) y se detectó por transferencia Western del modo descrito seguidamente. Una cantidad igual de proteína total se sometió a SDS-PAGE con gel de acrilamida al 15% (NPU-7.5L, ATTO, Japón), y se confirmó la expresión de proteína de Ang-1 por tinción con un kit ECL que utiliza anticuerpo de Ang-1 (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA).

Transferencia Western de células linfáticas endoteliales

20 Se aislaron células linfáticas endoteliales de prepucio infantil humano como células CD31-positivas, CD34-negativas, CD-45-negativas (Documento no patente, 6). Las células linfáticas endoteliales se cultivaron en EBM-2 (Cambrex, Verviers, Bélgica) suplementado con factores de adición, y se extrajo la proteína con Phosphosafe Extraction Reagent (Novagen Madison, WI) en presencia de varios fármacos (Ang-1, extracto de corteza de canela, extracto de Ginseng siberiano y siringaresinol). Se prepararon como control células suplementadas con DMSO.

25 Además, el extracto de corteza de canela y siringaresinol se prepararon del modo indicado seguidamente. El extracto de Ginseng siberiano (Ask, Intercity) se obtuvo por extracción de raíz de Ginseng siberiano con etanol de 30%. Se confirmó que este extracto contenía 1,01% en peso de siringaresinol por HPLC. Este extracto se disolvió luego con DMSO para uso en cada una de las muestras de ensayo. La cantidad total de proteína se determinó con el RC DC Protein Assay Kit (BIO-RAD, Hercules, CA), y se detectó por transferencia Western del modo descrito más seguidamente. Una cantidad igual de proteína total se sometió a SDS-PAGE empleando gel de acrilamida al 7,5% (NPU-7.5L, ATTO, Japón), y se confirmó la expresión de proteína Tie2 y proteína Tie2 fosforilada por tinción con un kit ECL utilizando anticuerpo de Ang-1 (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA). La FIG. 2 expone que el extracto de corteza de canela fosforila (activa) Tie2 del mismo modo que Ang-1. La FIG. 3 expone que el extracto de Ginseng siberiano fosforila (activa) Tie2 del mismo modo que Ang-1.

30 Además, aun cuando los resultados no se exponen, se confirmó también que el siringaresinol activaba Tie2 del mismo modo que Ang-1,

Preparación de residuo seco de extracto con agua caliente de vástagos de canela.

35 400,7 g de vástagos de canela (*Cinnamomum cassia* Blume) se añadieron a 2 litros de agua seguido de calentamiento y extracción durante 3 horas y filtración. Se añadieron 2 litros de agua al residuo resultante seguido de repetición del mismo procedimiento operatorio y calentamiento y extracción dos veces más. El líquido que resultó se liofilizó obteniendo 37,9 g de un residuo seco de extracto con agua caliente.

Fraccionamiento y aislamiento de residuo seco de extracto con agua caliente.

40 31,0 g del residuo seco de extracto con agua caliente se sometieron a fraccionamiento del crudo utilizando Sephadex LH-20 (Amersham Pharmacia Biotech AB). Se obtuvieron una fracción de una solución acuosa (2,7 g), una fracción eluída con metanol de 50% (8,5 g), una fracción eluída con metanol (4,9 g), una fracción eluída con

ES 2 536 418 T3

acetona (0,5 g) y una fracción sin eluir (7,4 g). Se aisló siringaresinol (2,08 mg) por fraccionamiento de la fracción eluída con metanol con una columna de Amberlite XAD2 (Organo) seguido de HPLC preparativa (columna: Capcell Pak C18 AQ, Shiseido, detección: UV 210 nm, fase móvil: mezcla de CH₃CN/H₂O).

REIVINDICACIONES

- 1.- Activador de Tie2 de empleo en el tratamiento o prevención de enfermedades de la piel atribuibles a difusión de linfa ocasionada por inestabilidad estructural de vasos linfáticos, en donde dicho activador de Tie2 es un extracto de plantas de especie de Cinnamomum.
- 5 2.- El activador de empleo según la reivindicación 1, en donde el extracto se deriva de Cinnamomum cassia Blume.
- 3.- El activador de empleo según la reivindicación 1 ó 2, en donde el extracto se deriva de vástago de canela o de corteza de canela.
- 4.- El activador de empleo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el extracto es un extracto acuoso.
- 10 5.- El activador de empleo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la enfermedad es edema o hinchazón..

Fig. 1

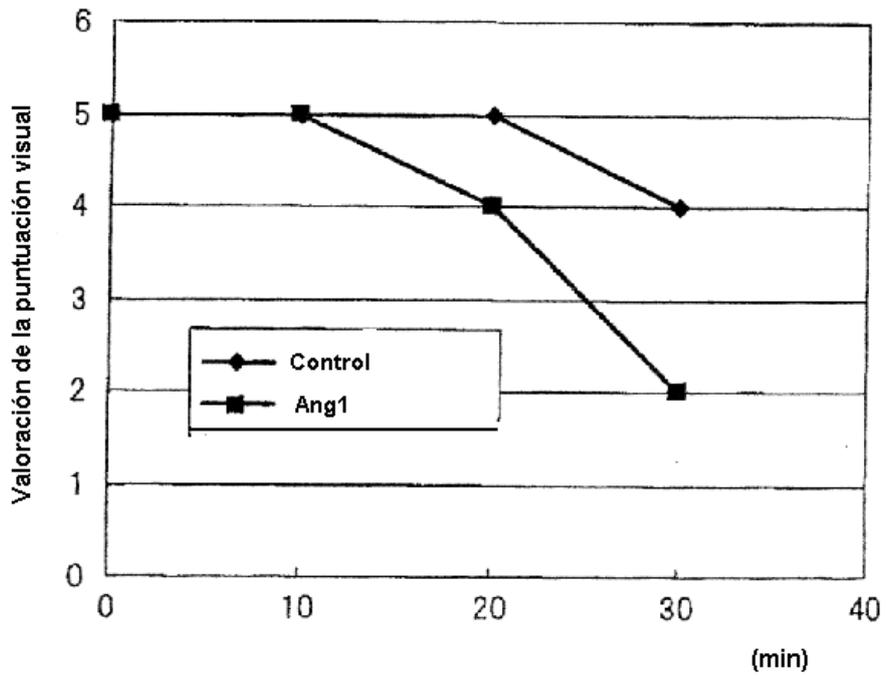


Fig. 2

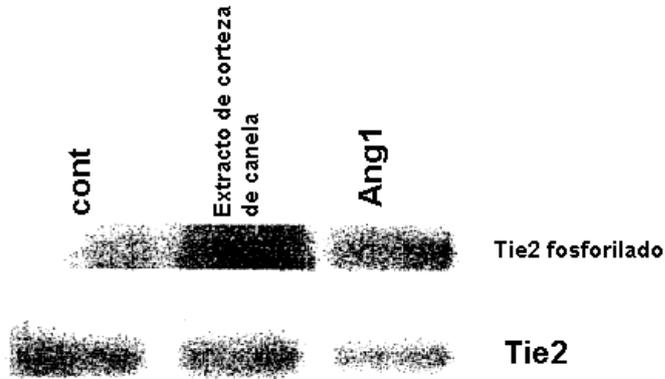


Fig. 3

