

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 623 480**

51 Int. Cl.:

A61K 36/48	(2006.01) A61K 9/00	(2006.01)
A61K 36/889	(2006.01) A61Q 3/00	(2006.01)
A61K 36/185	(2006.01) A61Q 5/00	(2006.01)
A61P 17/02	(2006.01) A61Q 19/00	(2006.01)
A61P 17/14	(2006.01)	
A61K 8/97	(2007.01)	
A61L 15/40	(2006.01)	
A61L 26/00	(2006.01)	
A61Q 7/00	(2006.01)	
A61Q 19/08	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.05.2010 PCT/AU2010/000519**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **11.11.2010 WO10127396**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.05.2010 E 10771898 (3)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.01.2017 EP 2427202**

54 Título: **Uno o más extractos de Vigna marina, Cocos nucifera L. o Terminalia catappa L. para el tratamiento de heridas, trastornos de la piel y pérdida de cabello**

30 Prioridad:

04.05.2009 AU 2009901952

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.07.2017

73 Titular/es:

**CIMTECH PTY LIMITED (100.0%)
763 Hunter Street
Newcastle West, New South Wales 2302, AU**

72 Inventor/es:

MATHESON, GRAHAM

74 Agente/Representante:

SALVA FERRER, Joan

ES 2 623 480 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

Uno o más extractos de *Vigna marina*, *Cocos nucifera* L. o *Terminalia catappa* L. para el tratamiento de heridas, trastornos de la piel y pérdida de cabello

5

CAMPO DE LA INVENCION

[0001] La presente invención se refiere en general al uso de extractos de plantas y composiciones que comprenden los mismos para promover la cicatrización de heridas y para el tratamiento de trastornos de la piel.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0002] La piel tiene una función importante de protección y es la primera defensa del cuerpo contra la enfermedad, proporcionando la epidermis una barrera contra la invasión microbiana. Por consiguiente, el primer objetivo en el tratamiento de heridas, quemaduras, rozaduras y otro daño de la piel es el cierre y cicatrización rápidos de la herida para prevenir la infección.

15

[0003] La cicatrización de heridas es un proceso complejo que, en general, se considera que implica tres fases que se solapan: inflamación, proliferación y remodelado. La primera fase implica la coagulación para obtener hemostasia y el reclutamiento de neutrófilos para destruir bacterias y tejido necrótico, seguido del reclutamiento de macrófagos. Durante la segunda fase se produce angiogénesis en la que células endoteliales entran en el sitio de la herida, simultáneamente entran fibroblastos en el sitio de la herida y ayudan a producir tejido de granulación. La formación de tejido de granulación permite que tenga lugar la reepitelización. Durante la fase final de remodelado, se igualan los niveles de producción de colágeno y degradación y la herida cicatrizada es alterada lentamente para lograr la resistencia máxima. La cicatrización de la herida se retrasa o altera cuando cualquiera de estos procesos no funciona adecuadamente o de manera oportuna. Esto puede conducir a una herida crónica que puede ser tanto un inconveniente importante para el individuo como un problema clínico costoso. Por lo tanto, una composición que acelere el proceso natural del cuerpo de regeneración del tejido dérmico y epidérmico es ventajoso.

20

25

30

[0004] Los autores de la presente invención han encontrado sorprendentemente que extractos de plantas descritos en el presente documento y composiciones que comprenden los mismos, promueven la cicatrización de heridas y reparación de la piel, induciendo la proliferación temprana del epitelio. Además, estas composiciones aumentan el espesor y la resistencia mecánica del sitio de la herida cicatrizada. Además, se ha descubierto que estas composiciones también pueden proporcionar otros beneficios terapéuticos.

35

RESUMEN DE LA INVENCION

[0005] De acuerdo con un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un extracto biológicamente activo que comprende una combinación de un extracto de *Cocos nucifera* L. y al menos un extracto seleccionado de *Vigna marina* (Burm.) Merr. y *Terminalia catappa* L., en el que el extracto de *Cocos nucifera* L. se obtiene de la cáscara.

40

[0006] El extracto puede comprender además *Hibiscus tiliaceus* L.

45

[0007] Los extractos de *Vigna marina* (Burm.) Merr. y *Terminalia catappa* L. pueden ser de uno o más de un extracto de hoja, tallo o grano. Cuando se obtienen de *Vigna marina* (Burm.) Merr., *Terminalia catappa* L. e *Hibiscus tiliaceus* L., típicamente el extracto es un extracto de hoja, tallo y/o grano. Cuando se obtiene de *Cocos nucifera* L., típicamente el extracto es un extracto de cáscara.

50

[0008] El extracto se puede preparar usando, y/o comprende, un aceite vegetal, un hidrocarburo y/o un alcohol. El aceite vegetal se puede obtener, por ejemplo, de semillas o fruto. En una realización particular, el extracto se prepara usando, y/o comprende, aceite de coco. El aceite de coco puede ser aceite de coco virgen, aceite de coco refinado, aceite de coco hidrogenado o aceite de coco fraccionado.

55

[0009] Un segundo aspecto de la presente invención proporciona una composición que comprende dicho extracto biológicamente activo, opcionalmente junto con uno o más vehículos, diluyentes o adyuvantes farmacéuticamente aceptables. La composición puede tener además un extracto derivado de *Hibiscus tiliaceus* L.

[0010] Típicamente la composición se aplica por vía tópica a la piel o a un apéndice epidérmico de un sujeto.

Los apéndices epidérmicos incluyen cabello, folículos pilosos, uñas y cutículas. En una realización, la composición se usa de forma terapéutica y/o cosmética para promover la cicatrización de heridas o en el tratamiento de trastornos de la piel. La herida puede ser una herida quirúrgica o no quirúrgica. Los ejemplos de heridas no quirúrgicas incluyen quemaduras, rozaduras, cortes y abrasiones. Los trastornos de la piel incluyen, pero no se limitan a atrofia cutánea asociada con la edad o atrofia cutánea asociada con esteroides. La atrofia cutánea asociada con la edad se puede asociar con la deficiencia de estrógenos.

5 [0011] En una realización adicional, la composición se usa para la regeneración del cabello. En otra realización más, la composición se usa para aumentar el espesor y/o la resistencia mecánica de la piel y/o un apéndice epidérmico.

15 [0012] Un tercer aspecto de la presente invención, proporciona un extracto de acuerdo con el primer aspecto o una composición de acuerdo con el segundo aspecto, para usar para el tratamiento de heridas y/o para promover la cicatrización de heridas, comprendiendo el procedimiento aplicar a la piel de un sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho extracto o dicha composición. Un cuarto aspecto de la presente invención proporciona un extracto de acuerdo con el primer aspecto o una composición de acuerdo con el segundo aspecto para usar para el tratamiento de un trastorno de la piel. Dichos usos comprenden aplicar una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho extracto o composición a la piel de un sujeto.

20 [0013] También se describe el extracto de acuerdo con el primer aspecto o composición de acuerdo con el segundo aspecto para usar para la regeneración del cabello.

25 [0014] También se describe el extracto de acuerdo con el primer aspecto o composición de acuerdo con el segundo aspecto para usar para promover el crecimiento del cabello.

[0015] También se describe el extracto de acuerdo con el primer aspecto o composición de acuerdo con el segundo aspecto para usar para aumentar el espesor y/o resistencia mecánica de la piel y/o un apéndice epidérmico.

30 [0016] La presente invención proporciona el uso de un extracto de acuerdo con el primer aspecto o una composición de acuerdo con el segundo aspecto para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de trastornos de la piel y/o el tratamiento de heridas y/o la promoción de cicatrización de heridas.

35 [0017] Un aspecto adicional de la presente invención proporciona un procedimiento cosmético que comprende administrar un extracto de acuerdo con el primer aspecto o una composición de acuerdo con el segundo aspecto. Dicho procedimiento es adecuado para aumentar el espesor y/o la resistencia mecánica de la piel y/o un apéndice epidérmico.

40 Breve descripción de los dibujos

[0018] La presente invención ahora se describirá, solo a modo de ejemplo no limitante, con referencia a los dibujos que acompañan, en los que:

45 La figura 1 muestra cambios histológicos en sitios de heridas creados quirúrgicamente tratados (A, C, E y G) y no tratados (B, D, F y H) en ratas hembra sanas de 12 semanas de edad, a los 3, 5, 7 y 10 días después de la operación. Las heridas tratadas se sometieron a una aplicación diaria de extracto combinado de *Vigna marina* (Burm.) Merr., *Cocos nucifera* L., *Terminalia catappa* L. e *Hibiscus tiliaceus* L. en aceite de coco. Las muestras de piel se tiñeron con hematoxilina y eosina y se muestran con x400 aumentos.

50 La figura 2 muestra el aumento de la resistencia mecánica de la herida (A) y la resistencia mecánica media de la herida (B) para sitios de heridas de animales tratados (ensayo) y animales no tratados (control) frente al transcurso de 10 días. Las heridas tratadas se sometieron a una aplicación diaria de una combinación de extracto de *Vigna marina* (Burm.) Merr., *Cocos nucifera* L., *Terminalia catappa* L. e *Hibiscus tiliaceus* L. en aceite de coco. La figura 2A muestra la correlación lineal y la figura 2B se adapta al modelo de curva de cicatrización no lineal.

55 La figura 3 muestra diferencias histológicas en piel tratada (B, D y F) y no tratada (A, C y E) de ratas deficientes en estrógenos (ovarios retirados a las 6 semanas de edad) de 18 meses de edad. La piel tratada se sometió a una aplicación diaria de extracto combinado de *Vigna marina* (Burm.) Merr., *Cocos nucifera* L., *Terminalia catappa* L. e *Hibiscus tiliaceus* L. en aceite de coco, durante 7 días. Las muestras de piel se tiñeron con hematoxilina y eosina y

se muestran con x400 aumentos.

La figura 4 muestra el espesor epitelial de piel deficiente en estrógenos tratada (aplicación diaria de un extracto combinado de *Vigna marina* (Burm.) Merr., *Cocos nucifera* L., *Terminalia catappa* L. e *Hibiscus tiliaceus* L. en aceite de coco) y control (no tratada) después de 7 días de tratamiento (A), y de piel deficiente en estrógenos adyacente a la zona de tratamiento después de 21 días de tratamiento (B).

La figura 5 muestra el porcentaje de cambio en el espesor epitelial en piel deficiente en estrógenos después de 7 días de tratamiento que comprende la aplicación diaria de un extracto combinado de *Vigna marina* (Burm.) Merr., *Cocos nucifera* L., *Terminalia catappa* L. e *Hibiscus tiliaceus* L. Barra 1 (Pre-extracción), el extracto está en aceite de coco; Barra 2 (extracto en etanol), separación del aceite de coco del extracto post-extracción; Barra 3 (post-extracción), la fracción de aceite de coco residual después de extracción en etanol (Barra 2).

La figura 6 muestra perfiles histológicos de la piel de ratas de 10 a 14 semanas de edad después de la aplicación diaria durante 7 días de: A) sin tratamiento; B) aceite de coco; C) *Vigna marina* (Burm.) Merr. en aceite de coco, D) *Vigna marina* (Burm.) Merr. en etanol; E) *Vigna marina* (Burm.) Merr. en aceite de coco después de extracción con etanol e isopentano; F) *Terminalia catappa* L. en aceite de coco; G) *Terminalia catappa* L. en hidrocarburo después de extracción en etanol; I) *Terminalia catappa* L. en aceite de coco después de extracción con etanol e hidrocarburo; y J) *Terminalia catappa* L. en aceite de coco después de extracción con etanol e hidrocarburo. Las muestras de piel se tiñeron con hematoxilina y eosina y se muestra con x400 aumentos.

La figura 7 muestra el porcentaje de cambio en el espesor epitelial de la piel de ratas de 14 semanas de edad después de 7 días de tratamiento con A) extracto de *Vigna marina* (Burm.) Merr. en aceite de coco (Planta P); extracto de *Cocos nucifera* L. en aceite de coco (Planta N); extracto de *Terminalia catappa* L. en aceite de coco (Planta K); e *Hibiscus tiliaceus* L. en aceite de coco (Planta A), y B) combinación en parejas de los extractos mencionados antes.

La figura 8 muestra diferencias histológicas en la piel de ratas de 10 a 14 semanas de edad tratadas con un extracto de *Vigna marina* (Burm.) Merr., *Cocos nucifera* L. y *Terminalia catappa* L. en aceite de coco (100%) preparado como se describe en el ejemplo 10, en concentraciones de A) 0%; B) 1%; C) 5%; D) 10%; E) 50%; y F) 100%. Las muestras de piel se tiñeron con hematoxilina y eosina y se muestra con x400 aumentos.

La figura 9 muestra el espesor epitelial (A) y el porcentaje de cambio en el espesor epitelial (B) de la piel de ratas de 10 a 14 semanas de edad, tratadas con una aplicación diaria de un extracto combinado de *Vigna marina* (Burm.) Merr., *Cocos nucifera* L. y *Terminalia catappa* L. en aceite de coco (NPK en aceite), preparado como se describe en el ejemplo 10, en concentraciones de 0%, 1%, 5%, 10%, 50%, 100%.

La figura 10 muestra la histología de la piel tratada con un extracto de *Vigna marina* (Burm.) Merr., *Cocos nucifera* L. y *Terminalia catappa* L. en aceite de coco al A) 30% en clorhexidina; B) 5% en crema hidratante Hydroderm; C) 25% en disolución de cloranfenicol; D) 50% en pomada de cloranfenicol; y E) 0% en pomada de cloranfenicol.

Descripción detallada de la invención

[0019] Los artículos “un” y “una” se usan en el presente documento para referirse a uno o más de uno (es decir, a al menos uno) del objeto gramatical del artículo. A modo de ejemplo, “un elemento” significa un elemento o más de un elemento. A lo largo de esta memoria descriptiva y las reivindicaciones que siguen, salvo que el contexto requiera otra cosa, la palabra “comprenden” y variaciones tales como “comprende” o “que comprende”, se entenderá que implican la inclusión de un número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas expuestos, pero no la exclusión de cualquier otro número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas.

[0020] Como se usa en el presente documento, el término “extracto” se refiere a una preparación activa obtenida de una o más plantas. En el contexto de la memoria descriptiva, por “activo” se entiende que el extracto es capaz de producir un beneficio terapéutico o cosmético deseado como se describe en el presente documento. Un extracto se obtiene por un procedimiento de “extracción” que los expertos en la materia entenderán, en términos generales, que comprende tratar materia vegetal con un disolvente, un líquido o un fluido supercrítico para disolver la preparación activa y separarla de la materia vegetal residual no deseada. Un extracto puede ser en forma líquida (por ejemplo, como una decocción, solución, infusión o tintura) o forma sólida (por ejemplo, como un polvo o gránulos). La expresión “extracto combinado” como se usa en el presente documento, se refiere a un extracto preparado a partir de más de una especie de planta. En un extracto combinado, la materia vegetal de cada una de

las especies de planta se puede someter al procedimiento de extracción junta o por separado. Es decir, la materia de algunas o de todas las especies se puede combinar antes de la adición del disolvente, líquido o fluido supercrítico, y/o la materia de algunas o de todas las especies se puede tratar independientemente con un disolvente, líquido o fluido supercrítico y posteriormente se combinan las preparaciones así obtenidas. Así pues, se pueden usar los mismos o diferentes disolventes (o líquidos o fluidos supercríticos) para extraer la preparación activa de las diferentes especies. Los términos “extracto” y “extracto combinado” se pueden usar de forma intercambiable a lo largo de esta memoria descriptiva.

10 **[0021]** Los términos “promueve”, “promoción” y variaciones de los mismos como se usan en el presente documento en el contexto de cicatrización de heridas, se refieren a la capacidad de un extracto o composición de la invención para potenciar o aumentar la velocidad o grado de acción del o de los procesos fisiológicos naturales implicados en la cicatrización de heridas y la capacidad de un extracto o composición de la invención para potenciar o aumentar la velocidad de crecimiento del cabello.

15 **[0022]** Como se usa en el presente documento, los términos “tratar”, “tratamiento”, “prevenir” y “prevención” se refieren a todos y cada uno de los usos que curan una afección o síntomas, previenen el establecimiento de una afección o enfermedad, o de otra manera previenen, impiden, retrasan o invierten el progreso de una afección o enfermedad u otros síntomas no deseables en modo alguno. Por lo tanto, los términos “tratar” y “prevenir” y similares, deben considerarse en su contexto más amplio. Por ejemplo, el tratamiento no implica necesariamente
20 que un paciente sea tratado hasta la recuperación total.

[0023] Como se usa en el presente documento, las expresiones “cantidad eficaz” y “dosis eficaz” incluyen en su significado una cantidad o dosis no tóxica pero suficiente de un agente o compuesto para proporcionar el efecto deseado. La cantidad o dosis exacta necesaria variará de un sujeto a otro dependiendo de factores tales como la
25 especie que se está tratando, la edad y estado general del sujeto, la gravedad de la afección que se está tratando, el agente particular que se administra y el modo de administración etc. Por lo tanto, no se puede especificar una “cantidad eficaz” o “dosis eficaz” exacta. Sin embargo, para cualquier caso dado una “cantidad eficaz” o “dosis eficaz” adecuada la puede determinar en experto en la materia usando solo experimentación rutinaria.

30 **[0024]** Como se usa en el presente documento, el término “sujeto” incluyen seres humanos primates, animales de ganadería (p. ej., ovejas, cerdos, vacas, caballos, burros), animales de ensayo de laboratorio (p. ej., ratones, conejos, ratas, cobayas), animales de compañía (p. ej., perros, gatos) y animales salvajes cautivos (p. ej., zorros, canguros, ciervos). Típicamente, el sujeto es un ser humano o animal de ensayo de laboratorio. Incluso más típicamente, el sujeto es un ser humano.

35 **[0025]** La presente invención se basa en el sorprendente descubrimiento de los autores de la invención, como se ilustra en el presente documento, de que el uso de extractos de diferentes plantas de las islas del Pacífico tienen actividad biológica cuando se administran a la piel de mamíferos, promoviendo la cicatrización de heridas y la reparación de la piel, aumentando el espesor epitelial y aumentando la resistencia mecánica de la piel. Sin querer
40 estar limitados por la teoría, se sugiere que estas actividades biológicas resultan de los extractos, sea directa o indirectamente, induciendo la proliferación temprana del epitelio.

[0026] Por consiguiente, un aspecto de la presente invención proporciona un extracto biológicamente activo de *Vigna marina* (Burm.) Merr., *Cocos nucifera* L., *Terminalia catappa* L. y/o *Hibiscus tiliaceus* L.

45 **[0027]** Los autores de la invención han encontrado sorprendentemente que el o los extractos de *Cocos nucifera* L. de cáscara, con uno o más extractos de *Vigna marina* (Burm.) Merr. o *Terminalia catappa* L. promueven el proceso natural del cuerpo de regeneración de tejido dérmico y epidérmico.

50 **[0028]** Por consiguiente, una combinación de un extracto de *Cocos nucifera* L. obtenido de cáscara, con al menos un extracto de *Vigna marina* (Burm.) Merr. y *Terminalia catappa* L., y composiciones que contienen la misma, son terapéutica y/o cosméticamente útiles en la promoción de cicatrización de heridas o en el tratamiento de trastornos de la piel en un sujeto. La combinación puede comprender además *Hibiscus tiliaceus* L. La herida puede ser una herida quirúrgica o no quirúrgica. Los ejemplos de heridas no quirúrgicas incluyen cortes, quemaduras,
55 rozaduras y abrasiones. Los extractos de la invención se pueden usar en la promoción post-quirúrgica de la cicatrización de heridas inducidas quirúrgicamente. Los trastornos de la piel que se pueden tratar de acuerdo con realizaciones de la invención incluyen, pero no se limitan a atrofia cutánea asociada con la edad o atrofia cutánea asociada con esteroides. La atrofia cutánea asociada con la edad puede estar asociada con la deficiencia de estrógenos.

- [0029]** Los expertos en la materia apreciarán que los extractos y composiciones de la invención también tienen aplicación en cualquier circunstancia en la que es deseable promover la generación o regeneración de tejido dérmico o epidérmico o un apéndice epidérmico. Para los fines de la presente invención, apéndices epidérmicos incluyen, pero no se limitan a cabello, folículos pilosos, uñas y cutículas. A modo de ejemplo, se pueden usar extractos y composiciones de la invención para promover la regeneración de folículos pilosos, cabello y uñas. Los extractos y composiciones de la invención también se pueden usar para aumentar el espesor y/o resistencia mecánica de la piel y/o un apéndice epidérmico.
- 10 **[0030]** Los extractos de la invención pueden ser extractos acuosos, basados en aceite y/o disolvente orgánico, obtenidos por extracción única, combinada y/o sucesiva de cualquier materia vegetal disponible tal como hojas, raíces, corteza, frutos, brotes, nueces, semillas, flores y/o madera. Los expertos en la materia conocen los procedimientos de extracción adecuados y los disolventes y líquidos adecuados para la extracción. Los disolventes acuosos (por ejemplo, agua, ácidos, bases); aceites (por ejemplo, de coco); y disolventes orgánicos, que pueden ser polares (tales como alcoholes, por ejemplo, etanol), no polares (por ejemplo, hexano) y/o halogenados (por ejemplo, diclorometano), usados para la extracción se pueden usar de forma secuencial para la extracción o en mezcla en combinación. Es importante, como se ilustra en el presente documento, que la actividad del extracto se mantiene cuando se extrae en aceite de coco, disolventes polares (p. ej., etanol) o disolventes no polares (p. ej., isopentano). La extracción con fluidos supercríticos usando, por ejemplo, nitrógeno o dióxido de carbono supercrítico, también se puede usar de acuerdo con la invención para obtener extractos.
- 20 **[0031]** Además, los expertos en la materia apreciarán que un extracto de la invención se puede someter a una o más etapas de post-extracción para, por ejemplo, aumentar o mantener la estabilidad del extracto, modificar o cambiar la forma física del extracto o ayudar en la formulación del extracto en una composición para la administración a un sujeto. A modo de ejemplo, solo un extracto en forma líquida se puede liofilizar para producir una forma sólida del extracto.
- 30 **[0032]** Los extractos de la presente invención se pueden obtener de cualquier materia vegetal adecuada. La materia vegetal adecuada incluye hojas, raíces, corteza, frutos, brotes, nueces, semillas, flores o madera. La materia vegetal puede ser, por ejemplo, fresca, seca o liofilizada. Para cualquier especie de planta dada, se puede usar más de una materia vegetal para la producción de extractos. Cuando se obtiene de *Vigna marina* (Burm.) Merr., *Terminalia catappa* L. e *Hibiscus tiliaceus* L., típicamente el extracto es un extracto de hojas, tallos y/o granos. Cuando se obtiene de *Cocos nucifera* L., típicamente el extracto es un extracto de cáscara fresca.
- 35 **[0033]** El o los extractos de la invención se pueden administrar de acuerdo con la presente invención en forma de composiciones farmacéuticas, cuyas composiciones pueden comprender uno o más vehículos excipientes o diluyentes farmacéuticamente aceptables. Los extractos se pueden combinar además con otros agentes terapéuticos o cosméticos, por ejemplo, pero no limitado a antibióticos, agentes antimicrobianos, antisépticos, anestésicos, cremas hidratantes o bases cosméticas. Dichas composiciones se pueden administrar por cualquier vía conveniente o adecuada tal como por las vías parenteral, oral, nasal o tópica. Típicamente, para el propósito de lograr los beneficios terapéuticos y cosméticos como se describen en el presente documento, la vía de administración puede ser tópica. Alternativamente, la administración por inyección, por ejemplo, inyección subcutánea, también puede ser adecuada dependiendo del resultado deseado.
- 40 **[0034]** Se entenderá que el nivel de dosis específico de una composición de la invención para cualquier individuo particular, dependerá de una variedad de factores que incluyen, por ejemplo, la actividad del o de los extractos específicos usados, la edad, peso corporal, salud general y dieta del individuo que se va a tratar, el tiempo de administración, la estabilidad del o de los extractos, el sitio de aplicación en el cuerpo, y la combinación con cualquier otro tratamiento o terapia. Las administraciones individuales o múltiples se pueden llevar a cabo con niveles de dosis y un esquema determinado según se requiera dependiendo de las circunstancias y el individuo que se va a tratar. Las posologías adecuadas las puede determinar fácilmente el experto en la materia. Puede ser aplicable un amplio intervalo de dosis. Considerando un sujeto humano, por ejemplo, se puede administrar de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 1 mg de extracto por kilogramo de peso corporal al día. Las posologías se pueden ajustar para proporcionar la respuesta terapéutica óptima. Por ejemplo, se pueden administrar varias dosis divididas cada hora, de forma diaria, semanal, mensual, o en cualquier otro intervalo de tiempo, o la dosis se puede reducir proporcionalmente según indiquen las exigencias de la situación.
- 45 **[0035]** En general, una dosis eficaz se espera que esté en el intervalo de aproximadamente 0,0001 mg a aproximadamente 1000 mg por kg de peso corporal por 24 horas; típicamente, de aproximadamente 0,001 mg a

aproximadamente 750 mg por kg de peso corporal por 24 horas; de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 500 mg por kg de peso corporal por 24 horas; de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 500 mg por kg de peso corporal por 24 horas; de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 250 mg por kg de peso corporal por 24 horas; de aproximadamente 1,0 mg a aproximadamente 250 mg por kg de peso corporal por 24 horas. Más típicamente, un intervalo de dosis eficaz se espera que esté en el intervalo de aproximadamente 1,0 mg a aproximadamente 200 mg por kg de peso corporal por 24 horas; de aproximadamente 1,0 mg a aproximadamente 100 mg por kg de peso corporal por 24 horas; de aproximadamente 1,0 mg a aproximadamente 50 mg por kg de peso corporal por 24 horas; de aproximadamente 1,0 mg a aproximadamente 25 mg por kg de peso corporal por 24 horas; de aproximadamente 5,0 mg a aproximadamente 50 mg por kg de peso corporal por 24 horas; de aproximadamente 5,0 mg a aproximadamente 20 mg por kg de peso corporal por 24 horas; de aproximadamente 5,0 mg a aproximadamente 15 mg por kg de peso corporal por 24 horas.

[0036] Las formulaciones tópicas típicamente comprenden uno o más extractos de la invención junto con uno o más vehículos aceptables, y opcionalmente cualesquiera otros ingredientes terapéuticos. Las formulaciones adecuadas para administración tópica pueden estar en cualquier forma adecuada, formuladas por ejemplo, como linimentos, lociones, cremas, geles, pomadas o pastas. Los ejemplos de vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables son agua desmineralizada o destilada; solución salina; aceites vegetales tales como aceite de cacahuete, aceite de cártamo, aceite de oliva, aceite de semilla de algodón, aceite de maíz, aceite de sésamo, aceite de arachis o aceite de coco; aceites de silicona, incluyendo polisiloxanos, tales como metilpolisiloxano, fenilpolisiloxano y metilfenilpolisiloxano; siliconas volátiles; aceites minerales tales como parafina líquida, parafina blanda o escualeno; derivados de celulosa tales como metilcelulosa, etilcelulosa, carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica o hidroxipropilmetilcelulosa; alcanoles inferiores, por ejemplo etanol o isopropanol; aralcanoles inferiores; polialquilenglicoles inferiores o alquilenglicoles inferiores, por ejemplo, polietilenglicol, polipropilenglicol, etilenglicol, propilenglicol, 1,3-butilenglicol o glicerina; ésteres de ácidos grasos tales como palmitato de isopropilo, miristato de isopropilo u oleato de etilo; polivinilpirrolidona; agar, carragenano; goma de tragacanto o goma arábica, y vaselina. Típicamente, el vehículo o vehículos formarán de 10% a 99,9% en peso de las composiciones.

[0037] Las lociones de acuerdo con la presente invención incluyen las adecuadas para la aplicación en la piel o en un apéndice epidérmico. Las lociones o linimentos para aplicar a la piel también pueden incluir un agente para acelerar el secado y enfriar la piel, tal como un alcohol o acetona, y/o una crema hidratante tal como glicerol, o aceite tal como aceite de coco, aceite de ricino o aceite de arachis.

[0038] Las cremas, pomadas o pastas de acuerdo con la presente invención son formulaciones semisólidas del extracto para la aplicación externa. Se pueden hacer mezclando el extracto en forma finamente dividida o de polvo, solo o en solución o suspensión en un fluido acuoso o no acuoso, con una base grasa o no grasa. La base puede comprender hidrocarburos tales como parafina dura, blanda o líquida, glicerol, cera de abeja, un jabón metálico; un mucílago; un aceite de origen natural tal como aceite de coco, almendra, maíz, arachis, ricino u oliva; lanolina o sus derivados, o un ácido graso tal como ácido esteárico u oleico con un alcohol tal como propilenglicol o Macrogol.

[0039] Los extractos y/o composiciones también pueden impregnar parches transdérmicos, escayolas y apósitos, tales como vendas o apósitos hidrocoloides, preferiblemente en forma líquida o semilíquida. Solo a modo de ejemplo, aplicados de forma tópica, los extractos y composiciones de acuerdo con la presente invención se pueden formular en, o con, productos para el cuidado de las uñas, mascarillas faciales y limpiadores, geles y espumas para el cabello, tintes para el cabello, colorantes y blanqueantes, productos para ondular, alisar y fijar el cabello, productos de limpieza tales como champús, productos acondicionadores tales como lociones y cremas, aceites, productos para el afeitado tales como cremas y geles, lavados para la piel, espumas, preparaciones de baño y ducha tales como aceites y geles, productos hidratantes tales como lociones, cremas, geles y espumas, productos antiarrugas y productos antienvjecimiento.

[0040] En circunstancias particulares, por ejemplo, en la promoción post-quirúrgica de la cicatrización de heridas o el tratamiento de trastornos de la piel particulares, la administración de composiciones por inyección, típicamente inyección subcutánea, puede ser adecuada. Las formas farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen soluciones acuosas estériles (cuando son solubles en agua) o dispersiones y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones inyectables estériles. Deben ser estables en las condiciones de fabricación y almacenamiento y deben preservarse frente a la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos. El vehículo puede ser un disolvente o un medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido, y similares), mezclas adecuadas de los mismos y aceites vegetales. La fluidez adecuada se puede mantener, por ejemplo, usando un recubrimiento tal como lecitina,

manteniendo el tamaño de partículas requerido en el caso de dispersión y mediante el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de microorganismos se puede llevar a cabo mediante diferentes agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenes, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosal y similares. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares o cloruro sódico. La absorción prolongada de las composiciones inyectables se puede llevar a cabo mediante el uso en las composiciones de agentes que retrasan la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

10 **[0041]** Las soluciones inyectables estériles se preparan incorporando los compuestos activos en la cantidad requerida en el disolvente adecuado con varios de los otros ingredientes enumerados antes, según se requiera, seguido de esterilización por filtración. En general, las dispersiones se preparan incorporando el o los diferentes extractos esterilizados en un vehículo estéril que contiene el medio de dispersión básico y los otros ingredientes necesarios de los citados antes. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los procedimientos de preparación preferidos son secado con vacío y la técnica de liofilización que da un polvo del extracto más cualquier extracto deseado adicional de su solución esterilizada por filtración previamente.

15 **[0042]** La presente invención contempla terapias de combinación, en las que los extractos o composiciones como se describen en el presente documento, se coadministran con otros agentes o tratamientos adecuados que pueden facilitar el efecto terapéutico o cosmético adecuado. Por ejemplo, se puede buscar ayudar a cicatrizar heridas con antibióticos, agentes antimicrobianos u otros agentes de cicatrización de heridas en combinación con extractos o composiciones de la invención. Por "coadministrado" se entiende la administración simultánea en la misma formulación o en dos formulaciones diferentes por la misma o diferentes vías, o la administración secuencial por la misma o diferentes vías. Por administración "secuencial" se entiende una diferencia de tiempo de segundos, minutos, horas o días entre la administración de los dos tipos de agentes. Los agentes se pueden administrar en cualquier orden.

25 **[0043]** La referencia en esta memoria descriptiva a cualquier publicación previa (o información derivada de la misma), o a cualquier asunto que es conocido, no es y no debe considerarse como un reconocimiento o admisión o cualquier forma de sugerencia de que la publicación previa (o información derivada de la misma) o asunto conocido, forma parte del conocimiento general común en el ámbito de trabajo al que se refiere esta memoria descriptiva.

30 **[0044]** La presente invención ahora se describirá con referencia a los siguientes ejemplos específicos, que no deben considerarse de ninguna forma limitantes del alcance de la invención.

EJEMPLOS

35 **Ejemplo 1 - Preparación de un extracto combinado de *Vigna marina* (Burm.) Merr., *Cocos nucifera* L., *Terminalia catappa* L. e *Hibiscus tiliaceus* L. en aceite de coco**

40 **[0045]** Se añadió aceite de coco (200 ml) a hojas frescas molidas de *Vigna marina* (Burm.) Merr. (100 g) y hojas frescas molidas de *Terminalia catappa* L. (100 g). La mezcla se puso en un crisol en un baño de agua a 100°C durante 20 min. La mezcla se retiró del calor y se filtró inmediatamente y se prensó para extraer el aceite de coco. El aceite de coco resultante, que contenía extractos de *Vigna marina* (Burm.) Merr., y *Terminalia catappa* L., se añadió a la cascara fresca machacada de una nuez verde de *Cocos nucifera* L. (100 g) y la corteza raspada de *Hibiscus tiliaceus* L. (100 g). La mezcla se dejó reposar durante 4 h y después se filtró y prensó para extraer el aceite de

45 coco.

[0046] El aceite de coco después se invirtió y se almacenó a menos de 20°C hasta que el aceite de coco solidificó. Cualquier resto de humedad o sólido en la mezcla se separó por decantación del aceite de coco solidificado. Después, el aceite de coco se calentó en un baño de agua caliente a aproximadamente 56°C y se filtró. El filtrado resultante contenía un extracto combinado de *Vigna marina* (Burm.) Merr., *Cocos nucifera* L., *Terminalia catappa* L. e *Hibiscus tiliaceus* L.

Ejemplo 2 - Promoción de la cicatrización de heridas

55 **[0047]** Se llevó a cabo un estudio para evaluar la capacidad de cicatrización de heridas de extractos de *Vigna marina* (Burm.) Merr., *Cocos nucifera* L., *Terminalia catappa* L. e *Hibiscus tiliaceus* L. preparados como se describe en el ejemplo 1. Para el estudio, se usaron ratas hembra sanas de 12 semanas de edad como modelo de cicatrización óptima. Las heridas se crearon quirúrgicamente con anestesia y en condiciones estériles, y se cerraron por primera intención (se administró material de sutura a todos los tejidos incluyendo la piel) con antibióticos

intraoperatorios y alojamiento higienizado. Se aplicó una dosis diaria de 1 ml del extracto por vía tópica al sitio quirúrgico. El extracto se aplicó diariamente durante un total de 10 días. Los animales de control no recibieron tratamiento. A los 3, 5, 7 y 10 días después de crear el sitio, se evaluó la histología de la herida y se ensayó en la herida la resistencia mecánica por tracción hasta fallo del ensayo.

5

[0048] La histología de la herida de las heridas no tratadas (control) y las heridas tratadas (ensayo) se muestra en las figuras 1A a 1H. La histología de las heridas tratadas muestra una proliferación temprana del epitelio que cubre la herida en los 3 primeros días, seguido de una infiltración de células en la herida para empezar la regeneración y cicatrización completa el día 7 con pruebas mínimas de herida el día 10. También se observaron pruebas de la cicatrización de la herida en las heridas no tratadas el día 10, pero esto ocurrió a una velocidad más lenta que la observada en las heridas tratadas, demostrando así que el extracto potencia la velocidad del proceso de cicatrización natural.

10

[0049] Se muestra una representación gráfica del cambio en la resistencia mecánica del sitio de la herida durante el tratamiento en la figura 2A. Se encontró que los sitios de heridas tratados tenían una resistencia mecánica un 22% más alta que los sitios de heridas no tratados. La figura 2B muestra que cuando los datos de resistencia mecánica se adaptaron a una curva de cicatrización no lineal (para reflejar el patrón de cicatrización) se mantienen las diferencias.

15

[0050] Los resultados del estudio muestran que el tratamiento de una herida con el extracto combinado del ejemplo 1, promueve la cicatrización de la herida y aumenta la resistencia mecánica de la piel en el sitio de la herida.

20

Ejemplo 3 - Tratamiento de piel deficiente en estrógenos

[0051] Se llevó a cabo un estudio para evaluar el efecto de un extracto de *Vigna marina* (Burm.) Merr., *Cocos nucifera* L., *Terminalia catappa* L. e *Hibiscus tiliaceus* L. preparado como se describe en el ejemplo 1, en piel deficiente en estrógenos. En el estudio se aplicó una dosis diaria de 1 ml de extracto por vía tópica a la superficie epitelial de los lomos de ratas (10 animales) deficientes en estrógenos (ovarios retirados a las 6 semanas de edad), de 18 meses de edad. El extracto se aplicó diariamente durante un total de 7 días. Los animales de control eran ratas deficientes en estrógenos (ovarios retirados a las 6 semanas de edad) sin aplicación tópica del extracto (10 animales). A los 7 días se evaluó la histología de la piel tratada y de control y el espesor epitelial.

25

30

[0052] El perfil histológico de la piel tratada y de control de animales individuales a los 7 días, se muestra en las figuras 3A a 3F. La histología de la piel tratada comparada con el control muestra un epitelio grueso altamente celular y un aumento relativo en la celularidad de la matriz de colágeno.

35

[0053] Se muestra en la figura 4A una representación gráfica del espesor epitelial de la piel de animal tratado y no tratado. Se observó un aumento medio de 145% en el espesor epitelial de la piel en los animales tratados comparado con los no tratados.

40

[0054] Se llevó a cabo un estudio idéntico con excepción de que el extracto se aplicó diariamente durante 3 semanas (10 animales). A los 21 días, se determinó el espesor epitelial de la piel tratada (sitio de aplicación y sitio adyacente) y no tratada (control). Este estudio demuestra que el aumento del espesor epitelial y la celularidad de la matriz de colágeno observados a los 7 días (véase antes) se mantenía a los 21 días de tratamiento. El espesor epitelial después de 21 días de tratamiento se muestra en la figura 4B. Los resultados en la figura 4B muestran que el efecto no se ve solo en la zona de aplicación sino también en las zonas adyacentes a la zona aplicada, lo que implica que solo se requiere una pequeña dosis para producir los efectos a la piel deficiente en estrógenos envejecida.

45

[0055] También se demostró que la actividad biológica del extracto basado en aceite de coco es soluble en etanol. El extracto en aceite de coco (pre-extracción) se mezcló enérgicamente con etanol 1:1 durante 5 min hasta que la mezcla era homogénea y después se dejó reposar durante 5 min, después la mezcla se congeló y se separó el etanol (extracto en etanol) para dejar solo el aceite de coco (post-extracción). A los 7 días, se determinó el espesor epitelial. La figura 5 muestra el porcentaje de cambio en el espesor epitelial de piel deficiente en estrógenos después de tratamiento. Los resultados demuestran que la actividad del extracto se mantiene cuando se extrae en etanol.

50

55

Ejemplo 4 - Preparación de extractos de *Vigna marina* (Burm.) Merr.

4.1: *Vigna marina* (Burm.) Merr., extracto en aceite de coco

[0056] Hojas, tallos y granos frescos triturados de *Vigna marina* (Burm.) Merr. (100 g) se sumergieron en aceite de coco (100 ml). El extracto se preparó por prensado en frío de la mezcla de *Vigna marina* (Burm.) Merr. y aceite de coco; o por calentamiento de la mezcla. El prensado en frío se llevó a cabo poniendo la mezcla de *Vigna marina* (Burm.) Merr. y aceite de coco dentro de una cafetera de émbolo nueva y dejando asentar la mezcla durante 1 h, después se bajó el émbolo extrayendo así el aceite. La mezcla se dejó asentar durante 5 min más y se volvió a bajar el émbolo para liberar más aceite. Este procedimiento se repitió 5 veces, hasta que ya no se obtuvo más aceite. Cuando el extracto se preparó por calentamiento, la mezcla de *Vigna marina* (Burm.) Merr. y aceite de coco se calentó en un crisol en un baño de aceite a 100°C durante 20 min, se retiró del calor y después se filtró y prensó inmediatamente para extraer el aceite de coco. Cualquier humedad o sólido restante en el extracto después del prensado en frío o calentamiento y filtración se separaron por inversión del extracto de aceite de coco y almacenamiento a menos de 20°C hasta que el aceite de coco solidificó y después decantación del aceite de coco solidificado; o por decantación en un embudo de separación.

4.2: Extracto de *Vigna marina* (Burm.) Merr. en aceite de coco después de extracción en etanol

[0057] Las hojas, tallos y granos frescos triturados de *Vigna marina* (Burm.) Merr. (1000 g) se sumergieron en etanol al 95-100% (2000 ml) y se dejaron en remojo durante 24 h. La extracción en etanol de *Vigna marina* (Burm.) Merr. se agitó con aceite de coco (250 ml). El aceite de coco se decantó de la disolución después de dejar en reposo durante al menos 2 h en un recipiente de decantación; o por dilución de la disolución de etanol del 95% a una concentración menor, teóricamente pero no necesariamente etanol al 50% y después se decantó tras asentamiento de las capas. Cualquier humedad o sólido restante en la mezcla se separaron por inversión del extracto de aceite de coco y almacenamiento a menos de 20°C hasta que el aceite de coco solidificó y después decantación del aceite de coco solidificado; o por decantación en un embudo de separación.

4.3: Extracto de *Vigna marina* (Burm.) Merr. en aceite de coco después de extracción en etanol e isopentano

[0058] Las hojas, tallos y granos frescos triturados de *Vigna marina* (Burm.) Merr. (1000 g) se sumergieron en etanol al 95-100% (2000 ml) y se dejaron en remojo durante 6 h, después se separó el etanol y la *Vigna marina* (Burm.) Merr. se dejó en remojo en una segunda parte alícuota de etanol (2000 ml) durante 6 h adicionales.

[0059] El etanol resultante se agitó con hexano, pentano, metilbutano o un hidrocarburo equivalente o fluoro/cloro/bromo-hidrocarburo (250 ml). El hidrocarburo se decantó de la disolución después de reposar durante al menos 2 h en un recipiente de decantación; o por dilución de la disolución de etanol del 95% a una concentración menor, teóricamente pero no necesariamente etanol al 50% y después se decantó después de asentamiento de las capas.

[0060] Se añadió aceite de coco (250 ml) a la disolución de hidrocarburo y se calentó por encima del punto de ebullición del hidrocarburo (por ejemplo, cuando se usó hexano la disolución se calentó a 67°C) para evaporar el hidrocarburo. Se añadió etanol al 95% (250 ml) a la disolución de hidrocarburo y se calentó por encima del punto de ebullición del hidrocarburo.

4.4: Extracto de *Vigna marina* (Burm.) Merr. en hidrocarburo después de extracción en etanol

[0061] Las hojas, tallos y granos frescos triturados de *Vigna marina* (Burm.) Merr. (1000 g) se sumergieron en etanol al 95-100% (2000 ml) y se dejaron en remojo durante 6 h, después se separó el etanol y la *Vigna marina* (Burm.) Merr. se dejó en remojo en una segunda parte alícuota de etanol (2000 ml) durante 6 h adicionales. La disolución de etanol resultante se agitó en hexano, pentano, metilbutano o un hidrocarburo equivalente o fluoro/cloro/bromo-hidrocarburo (250 ml). El hidrocarburo se decantó de la disolución después de reposar durante al menos 2 h en un recipiente de decantación; o por la dilución de la disolución de etanol del 95% a una concentración menor, teóricamente pero no necesariamente etanol al 50% y después se decantó después de asentamiento de las capas.

4.5: Extracto de *Vigna marina* (Burm.) Merr. en etanol después de extracción en etanol e hidrocarburo

[0062] Las hojas, tallos y granos frescos triturados de *Vigna marina* (Burm.) Merr. (1000 g) se sumergieron en etanol al 95-100% (2000 ml) y se dejaron en remojo durante 6 h, después se separó el etanol y la *Vigna marina* (Burm.) Merr. se dejó en remojo en una segunda parte alícuota de etanol (2000 ml) durante 6 h adicionales. La

disolución de etanol resultante se agitó hexano, pentano, metilbutano o un hidrocarburo equivalente o fluoro/cloro/bromo-hidrocarburo (250 ml). El hidrocarburo se decantó de la disolución después de reposar durante al menos 2 h en un recipiente de decantación; o por la dilución de la disolución de etanol del 95% a una concentración menor, teóricamente pero no necesariamente etanol al 50% y después se decantó después de asentamiento de las 5 capas. Se añadió etanol al 95% (250 ml) a la disolución de hidrocarburo y se calentó por encima del punto de ebullición del hidrocarburo (por ejemplo, cuando se usó hexano la disolución se calentó a 67°C) para evaporar el hidrocarburo.

Ejemplo 5 - Preparación de extractos de *Cocos nucifera* L.

10

5.1: Extracto de *Cocos nucifera* L. en aceite de coco

[0063] El extracto se preparó como se ha descrito para *Vigna marina* (Burm.) Merr. en el ejemplo 4.1 con la excepción de que se usó la cáscara fresca de nuez joven de *Cocos nucifera* L. (100 g).

15

5.2: Extracto de *Cocos nucifera* L. en aceite de coco después de extracción en etanol

[0064] El extracto se preparó como se ha descrito para *Vigna marina* (Burm.) Merr. en el ejemplo 4.2 con la excepción de que se usó la cáscara fresca de nuez joven de *Cocos nucifera* L. (1000 g).

20

5.3: Extracto de *Cocos nucifera* L. en aceite de coco después de extracción en etanol e hidrocarburo

[0065] El extracto se preparó como se ha descrito para *Vigna marina* (Burm.) Merr. en el ejemplo 4.3 con la excepción de que se usó la cáscara fresca de nuez joven de *Cocos nucifera* L. (1000 g).

25

5.4: Extracto de *Cocos nucifera* L. en hidrocarburo después de extracción en etanol

[0066] El extracto se preparó como se ha descrito para *Vigna marina* (Burm.) Merr. en el ejemplo 4.4 con la excepción de que se usó la cáscara fresca de nuez joven de *Cocos nucifera* L. (1000 g).

30

5.5: Extracto de *Cocos nucifera* L. en etanol después de extracción en etanol e hidrocarburo

[0067] El extracto se preparó como se ha descrito para *Vigna marina* (Burm.) Merr. en el ejemplo 4.5 con la excepción de que se usó la cáscara fresca de nuez joven de *Cocos nucifera* L. (100 g).

35

Ejemplo 6 - Preparación de extractos de *Terminalia catappa* L.

6.1: Extracto de *Terminalia catappa* L. en aceite de coco

40

[0068] El extracto se preparó como se ha descrito para *Vigna marina* (Burm.) Merr. en el ejemplo 4.1 con la excepción de que se usaron hojas, tallos y granos frescos triturados de *Terminalia catappa* L. (100 g).

6.2: Extracto de *Terminalia catappa* L. en aceite de coco después de extracción en etanol

45

[0069] El extracto se preparó como se ha descrito para *Vigna marina* (Burm.) Merr. en el ejemplo 4.2 con la excepción de que se usaron hojas, tallos y granos frescos triturados de *Terminalia catappa* L. (1000 g).

6.3: Extracto de *Terminalia catappa* L. en aceite de coco después de extracción en etanol e hidrocarburo

50

[0070] El extracto se preparó como se ha descrito para *Vigna marina* (Burm.) Merr. en el ejemplo 4.3 con la excepción de que se usaron hojas, tallos y granos frescos triturados de *Terminalia catappa* L. (1000 g).

6.4: Extracto de *Terminalia catappa* L. en hidrocarburo después de extracción en etanol

55

[0071] El extracto se preparó como se ha descrito para *Vigna marina* (Burm.) Merr. en el ejemplo 4.4 con la excepción de que se usaron hojas, tallos y granos frescos triturados de *Terminalia catappa* L. (1000 g).

6.5: Extracto de *Terminalia catappa* L. en etanol después de extracción en etanol e hidrocarburo

[0072] El extracto se preparó como se ha descrito para *Vigna marina* (Burm.) Merr. en el ejemplo 4.5 con la excepción de que se usaron hojas, tallos y granos frescos triturados de *Terminalia catappa* L. (1000 g).

Ejemplo 7 - Preparación de extractos de *Hibiscus tiliaceus* L.

5

7.1: Extracto de *Hibiscus tiliaceus* L. en aceite de coco

[0073] El extracto se preparó como se ha descrito para *Vigna marina* (Burm.) Merr. en el ejemplo 4.1 con la excepción de que se usaron hojas, tallos y granos frescos triturados de *Hibiscus tiliaceus* L. (100 g).

10

Ejemplo 8 - Efecto de extractos individuales de *Vigna marina* (Burm.) Merr. y *Terminalia catappa* L. en el espesor epitelial de la piel

[0074] Se llevó a cabo una evaluación del efecto de cada uno de los extractos (preparados como se describe en los ejemplos 4 a 7) en el espesor epitelial de la piel. Se aplicó una dosis diaria de 1 ml del extracto por vía tópica a la superficie epitelial de los lomos de ratas hembra de 10 a 14 semanas de edad durante 7 días. Un primer control se trató con una dosis diaria de 1 ml de aceite de coco. Un segundo control era la superficie no tratada de los lomos de ratas hembra de 10-14 semanas de edad. A los 7 días se evaluó la histología de la piel tratada y de control.

20 [0075] Las figuras 6A a 6J muestran la histología de la piel tratada y de control. Los resultados muestran que el aceite de coco solo (figura 6B) no tenía efecto obvio en el perfil histológico de la piel. La histología de la piel tratada con aceite de coco solo es comparable a la piel no tratada (figura 6A).

[0076] Las figuras 6C a 6E muestran la histología después de una aplicación diaria de un extracto de *Vigna marina* (Burm.) Merr. en aceite de coco (figura 6C); en etanol (figura 6D); y en aceite de coco después de extracción con etanol e hidrocarburo (figura 6E). Los resultados muestran un cambio notable en el espesor de células epiteliales. Además, hay pruebas de estructuras vasculares en la dermis y no hay infiltrado inflamatorio. En resumen, se observó el efecto de *Vigna marina* (Burm.) Merr. en la piel en todas las disoluciones de extracción, indicando la capacidad de concentrar el extracto en alcohol, y extracciones en hidrocarburo.

30

[0077] Las figuras 6F a 6J muestran la histología después de una aplicación diaria de una preparación de extracto de *Terminalia catappa* L. en aceite de coco (figura 6F); en hidrocarburo (figura 6G); en etanol (figura 6H); aceite de coco después de extracción con etanol (figura 6I); y aceite de coco después de extracción con etanol e hidrocarburo (figura 6J). Los perfiles histológicos muestran que los extractos tienen actividad limitada en el extracto en etanol o hidrocarburo solos, pero la actividad se mantiene si *Terminalia catappa* L. se extrae directamente en aceite de coco, o en etanol o hidrocarburo y después se extrae en aceite de coco.

35

Ejemplo 9 - Efecto de extractos individuales y combinados de *Vigna marina* (Burm.) Merr., *Cocos nucifera* L., *Terminalia catappa* L. e *Hibiscus tiliaceus* L. en el espesor epitelial de la piel

40

[0078] Se llevó a cabo una evaluación de la actividad de cada uno de los extractos preparados como se ha descrito en los ejemplos 4.1, 5.1, 6.1 y 7.1. Se administró por vía tópica una dosis diaria de 1 ml de extracto de *Vigna marina* (Burm.) Merr. en aceite de coco (ejemplo 4.1); 1 ml de extracto de *Cocos nucifera* L. en aceite de coco (ejemplo 5.1); 1 ml de extracto de *Terminalia catappa* L. en aceite de coco (ejemplo 6.1); y/o 1 ml de extracto de *Hibiscus tiliaceus* L. en aceite de coco (ejemplo 7.1). Cada extracto se aplicó solo o en combinación con un segundo extracto, por ejemplo 0,5 ml de extracto de *Vigna marina* (Burm.) Merr. en aceite de coco + 0,5 ml de extracto de *Cocos nucifera* L. en aceite de coco para dar una dosis de 1 ml. Los extractos se aplicaron por vía tópica a la superficie epitelial de los lomos de ratas hembra de 10-14 semanas de edad. A los 7 días se determinó el espesor epitelial de la piel.

45

[0079] Las figuras 7A y 7B muestran el porcentaje de cambio del espesor epitelial a los 7 días comparado con la piel de control no tratada en el mismo animal. La figura 7A muestra que la aplicación tópica de extracto de *Vigna marina* (Burm.) Merr. en aceite de coco y extracto de *Terminalia catappa* L. en aceite de coco, produce el mayor aumento de espesor epitelial a lo largo de un periodo de 7 días cuando el extracto se aplica solo. La figura 7B detalla el porcentaje de cambio en el espesor epitelial cuando se aplica cada extracto en combinación con otro extracto. Los resultados muestran que el extracto de *Cocos nucifera* L. tiene un efecto sinérgico tanto con el extracto de *Vigna marina* (Burm.) Merr. como con el extracto de *Terminalia catappa* L. y que *Hibiscus tiliaceus* L. tiene un efecto sinérgico con *Vigna marina* (Burm.) Merr.

50

55

[0080] Se llevó a cabo una evaluación adicional (no se muestran los datos) usando cada uno de los extractos preparados como se ha descrito en los ejemplos 4 a 7, y se confirmaron los resultados mostrados en las figuras 6A a 6J y 7A y 7B. La evaluación usó 303 ratas hembra Sprague Dawley y 34 conejos blancos de Nueva Zelanda. Los extractos se aplicaron por vía tópica en la superficie epitelial de los lomos de ratas de 18 meses de edad sometidas a ovariectomía y a ovariectomía simulada, y ratas de 12 semanas de edad durante hasta 21 días y a la piel de conejos blancos de Nueva Zelanda de 12 semanas de edad durante 7 días.

[0081] En un estudio paralelo se aplicaron una crema hidratante (Hydroderm), el antibiótico tópico cloromicetina (cloranfenicol), aceite de coco o aceite de coco extraído en etanol, en la superficie epitelial de los lomos de ratas de 18 meses de edad sometidas a ovariectomía y a ovariectomía simulada, y se comparó con la superficie epitelial de un sitio adyacente no tratado. No se registraron diferencias significativas entre el espesor de la piel tratada comparada con la piel adyacente no tratada para los animales tratados con Hydroderm, cloromicetina (cloranfenicol), aceite de coco o aceite de coco extraído en etanol. Los resultados indican que los cambios observados en el epitelio se deben a la aplicación de los extractos, y no están relacionados con los efectos de hidratación de, por ejemplo, el aceite de coco en los extractos. Los resultados también indican que los cambios observados en el epitelio no están relacionados con ninguna capacidad antimicrobiana de los extractos, ya que los cambios no eran reproducibles por el cloranfenicol.

[0082] Todos los animales toleraron bien el tratamiento. No hubo muertes o enfermedad asociada con los tratamientos tópicos. La región de la piel de la aplicación no aparecía inflamada macroscópica o microscópicamente en ninguno de los tratamientos activos. Se observaron cambios histológicos en el epitelio en la región de la aplicación de los extractos. La diferencia entre las regiones de aplicación y las regiones de control puso de manifiesto un cambio en la estructura epitelial con hipertrofia de muchas capas del epitelio y un aumento en el aspecto estratificado. El aumento del espesor del epitelio era mayor de 100% y era tanto reproducible como estadísticamente cuantificable.

[0083] El efecto observado en el epitelio de la piel a la que se aplicaron los extractos, era el mismo en animales jóvenes que en los animales envejecidos y animales deficientes en estrógenos envejecidos. Esto es a pesar de las diferencias en la histología inicial de los animales no tratados en cada uno de estos grupos. El efecto de los extractos en la piel de conejos era similar al visto en las ratas con cambios similares observados en el epitelio y las estructuras epiteliales tales como folículos pilosos.

Ejemplo 10 - Preparación de extracto combinado de *Vigna marina* (Burm.) Merr. y *Cocos nucifera* L.

[0084] Las hojas, tallos y granos frescos triturados de *Vigna marina* (Burm.) Merr. (2,5 kg), cáscara fresca de nuez joven de *Cocos nucifera* L. (2,5 kg) y las hojas, tallos y granos frescos triturados de *Terminalia catappa* L. (1 kg) se maceraron por separado.

[0085] *Vigna marina* (Burm.) Merr. se añadió a etanol al 95% (5 litros) y se agitó, y la mezcla se dejó reposar durante 12 h. La materia macerada de *Vigna marina* (Burm.) Merr. se separó y se añadió un segundo depósito de etanol al 95% (5 litros) y la mezcla se dejó reposar durante 12 h. Los primeros 5 litros de etanol se añadieron a un depósito grande.

[0086] La materia macerada de *Vigna marina* (Burm.) Merr. se separó de la segunda parte alícuota de etanol y se añadió a una tercera parte alícuota de etanol al 95% (5 litros). La materia macerada de *Cocos nucifera* L. se añadió al segundo recipiente de etanol al 95% (5 litros) y se dejó reposar durante 12 h. La materia macerada de *Vigna marina* (Burm.) Merr. (ahora casi incoloro) se separó de la tercera parte alícuota de etanol al 95% y se descartó. La materia macerada de *Cocos nucifera* L. se separó del segundo recipiente y se puso en la tercera parte alícuota de etanol al 95%. La tercera parte alícuota se dejó reposar durante 12 h. La segunda parte alícuota de etanol al 95% se añadió a la primera parte alícuota.

[0087] La materia macerada de *Cocos nucifera* L. se separó de la tercera parte alícuota de etanol al 95% y se puso en una cuarta parte alícuota de etanol al 95% (5 litros). La materia macerada de *Terminalia catappa* L. se añadió a la tercera parte alícuota de etanol al 95%. Tanto la tercera como la cuarta parte alícuota se dejaron reposar durante 12 h.

[0088] La materia macerada de *Cocos nucifera* L. se separó de la cuarta parte alícuota y se descartó. La materia macerada de *Terminalia catappa* L. se separó de la tercera parte alícuota de etanol al 95% y se puso en la cuarta parte alícuota de etanol al 95% y se dejó reposar durante 12 h. La tercera parte alícuota de etanol al 95% se

añadió a la primera y segunda partes alícuotas.

[0089] La materia macerada de *Terminalia catappa* L. se separó de la cuarta parte alícuota, se añadió a una quinta parte alícuota de etanol al 95% (5 litros) y se dejó reposar durante 12 h. La materia macerada de *Terminalia catappa* L. (ahora incoloro) se separó de la quinta parte alícuota. Tanto la cuarta como la quinta partes alícuotas de etanol al 95% se añadieron a las tres primeras partes alícuotas. A la mezcla extraída resultante se añadió aceite de coco virgen (1 litro). La mezcla se mezcló enérgicamente durante 5 min cada 15 min durante un periodo de 4 h. Después la mezcla se calentó a ebullición y se mantuvo a más de 80°C hasta que el volumen de la mezcla se redujo de 26 litros a 3 litros. La mezcla resultante se dejó enfriar y asentar. El aceite de coco se decantó de la parte superior de la mezcla y se puso en recipientes sellados invertidos en un frigorífico. El aceite de coco se dejó solidificar y los componentes acuosos restantes se separaron y descartaron. El aceite de coco después se calentó en un baño de agua caliente a aproximadamente 56°C y se filtró.

Ejemplo 11 - Dependencia de la dosis del extracto combinado de *Vigna marina* (Burm.) Merr., *Cocos nucifera* L. y *Terminalia catappa* L.

[0090] Para evaluar la dependencia de la dosis del extracto combinado preparado como se ha descrito en el ejemplo 10, se aplicó por vía tópica una dosis diaria de 1 ml del extracto a la superficie epitelial de los lomos de ratas hembra de 10-14 semanas de edad. La concentración del extracto era 100%. El extracto también se aplicó al 50%, 10%, 5% y 1%. Los extractos se prepararon por dilución del extracto al 100% con aceite de coco. La piel se trató con una aplicación tópica diaria durante 7 días. Los animales de control eran ratas hembra de 10-14 semanas de edad no tratadas. Las figuras 8A a 8F muestran la histología de la piel a los 7 días. Los resultados demuestran la relación dependiente de la dosis del extracto con el espesor epitelial y la celularidad, más evidente después de una aplicación diaria del extracto al 50% o 100%. Las figuras 9A y 9B muestran el espesor epitelial y el porcentaje de cambio en el espesor epitelial de la piel a los 7 días. Se observó un aumento de más de 130% en el espesor epitelial de la piel para animales tratados con el extracto combinado al 50% o 100%.

Ejemplo 12 - Efecto del extracto combinado de *Vigna marina* (Burm.) Merr., *Cocos nucifera* L. y *Terminalia catappa* L. en mezclas

[0091] El extracto de *Vigna marina* (Burm.) Merr., *Cocos nucifera* L. y *Terminalia catappa* L. en aceite de coco (100%) preparado como se ha descrito en el ejemplo 10, se mezcló con clorhexidina; crema hidratante Hydroderm, cloranfenicol al 15% y cloranfenicol al 50%. Cada mezcla se aplicó (1 ml) por vía tópica a la superficie epitelial de los lomos de ratas hembra de 10-14 semanas de edad durante 7 días. A los 7 días se evaluó la histología de la piel tratada.

[0092] Los perfiles histológicos se muestran en las figuras 10A a 10E y muestran que la eficacia del extracto no es atenuada por la presencia de pomadas o soluciones comerciales y que el extracto es compatible con aplicaciones de antiséptico y antibiótico.

REIVINDICACIONES

1. Un extracto biológicamente activo que comprende una combinación de un extracto de *Cocos nucifera* L. y al menos un extracto seleccionado de *Vigna marina* (Burm.) Merr. y *Terminalia catappa* L., en el que el extracto de *Cocos nucifera* L. se obtiene de cáscara.
5
2. El extracto de la reivindicación 1, en el que los extractos de *Vigna marina* (Burm.) Merr. y *Terminalia catappa* se obtienen de uno o más de una hoja, tallo o grano.
- 10 3. Un extracto de la reivindicación 1 o 2, en el que el extracto se prepara usando y/o comprende un aceite vegetal, un hidrocarburo y/o un alcohol.
4. Un extracto de la reivindicación 3, en el que el aceite vegetal se obtiene de semillas o fruto.
- 15 5. Un extracto de la reivindicación 4, en el que el aceite vegetal es aceite de *Cocos nucifera* L., opcionalmente aceite de *Cocos nucifera* L. virgen, aceite de *Cocos nucifera* L. refinado, aceite de *Cocos nucifera* L. hidrogenado o *Cocos nucifera* L. fraccionado.
6. Una composición que comprende un extracto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, y un
20 vehículo, diluyente y/o excipiente farmacéuticamente aceptable.
7. Una composición de la reivindicación 6, en la que la composición se aplica por vía tópica a la piel o a un apéndice epidérmico, opcionalmente cabello, folículos pilosos, uñas o cutículas de un sujeto.
- 25 8. Una composición de la reivindicación 6 o reivindicación 7, para usar en el tratamiento terapéutico de un trastorno de la piel.
9. Una composición según la reivindicación 6 o 7, para usar en el tratamiento de una herida y/o para usar en la promoción terapéutica y/o cosmética de cicatrización de heridas, en el que la herida es herida quirúrgica o no
30 quirúrgica, opcionalmente una quemadura, corte, rozadura o abrasión.
10. Un extracto biológicamente activo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para usar en el tratamiento de una herida y/o para usar en la promoción terapéutica de la cicatrización de una herida, en el que la herida es una herida quirúrgica o no quirúrgica, opcionalmente una quemadura, rozadura, corte o abrasión.
35
11. Un extracto biológicamente activo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para usar en el tratamiento terapéutico de un trastorno de la piel.
12. El uso de un extracto o una composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para la
40 preparación de un medicamento para curar un trastorno de la piel o para la cicatrización de heridas.
13. Un procedimiento cosmético para curar trastornos de la piel y/o promover la cicatrización de heridas, que comprende administrar un extracto o una composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.
- 45 14. El procedimiento de la reivindicación 13, en el que el trastorno de la piel es atrofia cutánea asociada con la edad o atrofia cutánea asociada con esteroides.
15. El procedimiento de la reivindicación 13 o reivindicación 14, en el que el extracto o composición
50 aumenta el espesor y/o la resistencia mecánica de la piel.

3 Días



Figura 1A

Figura 1B

5 Días



Figura 1C

Figura 1D

7 Días



Figura 1E

Figura 1F

10 Días



Figura 1G

Figura 1H

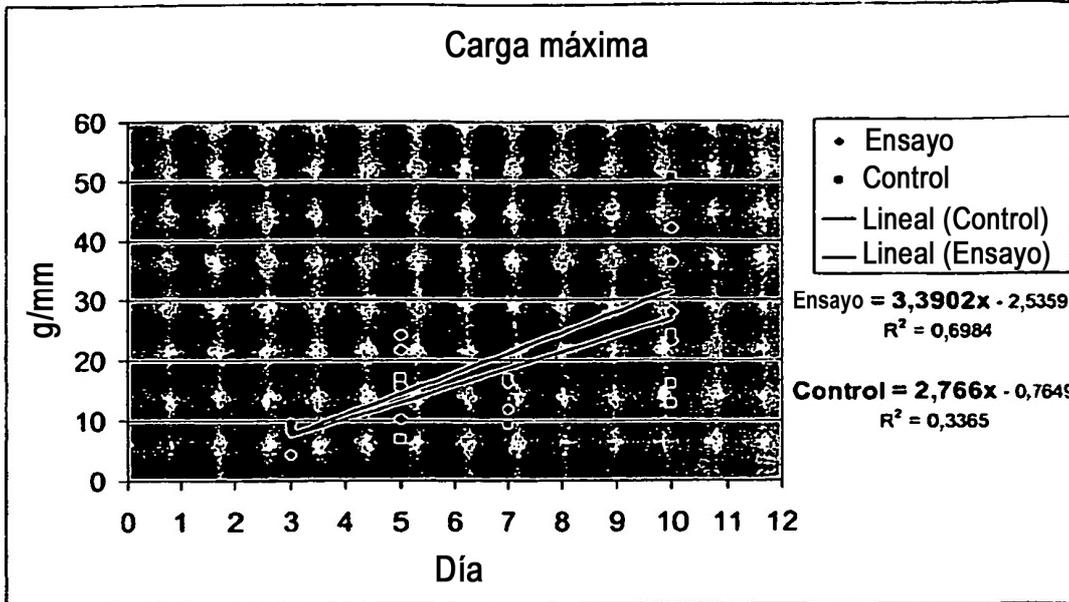


Figura 2A

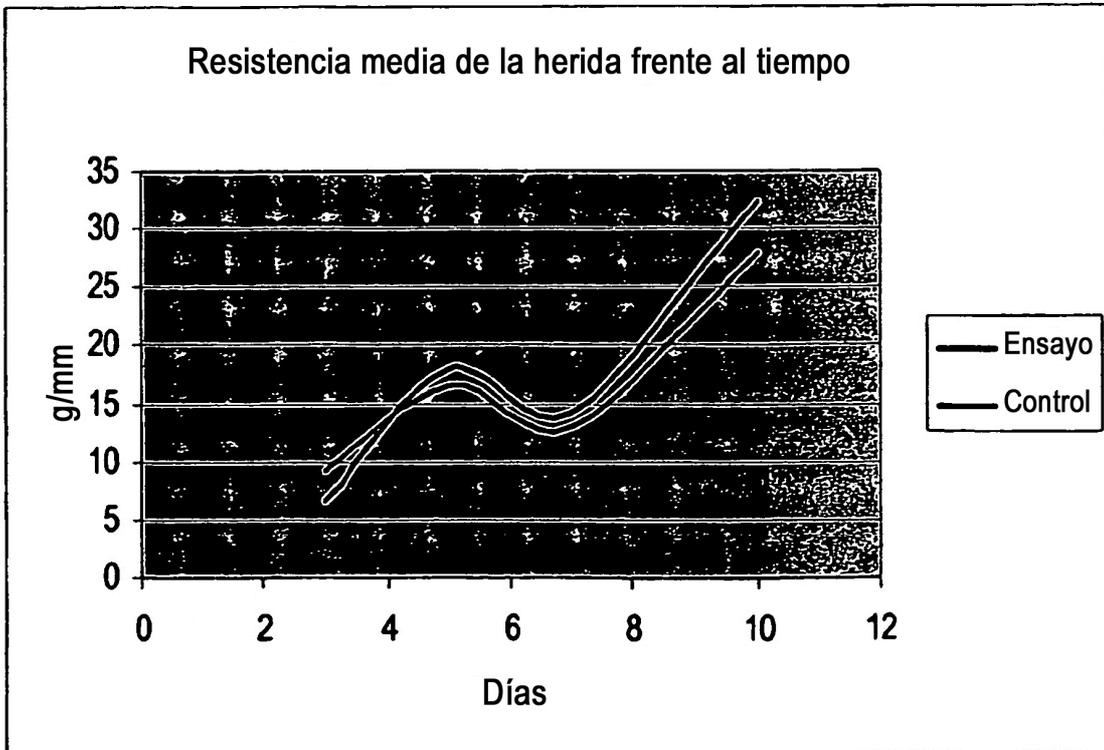


Figura 2B

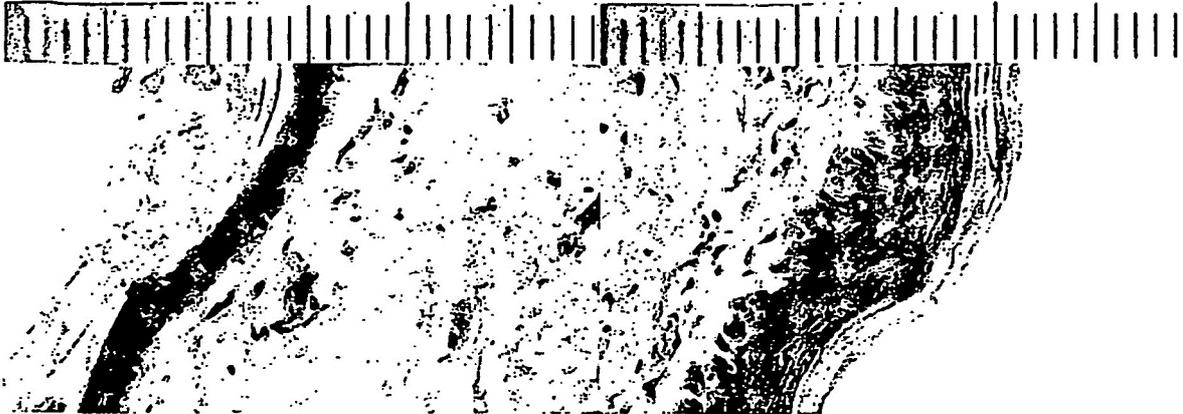


Figura 3A

Figura 3B

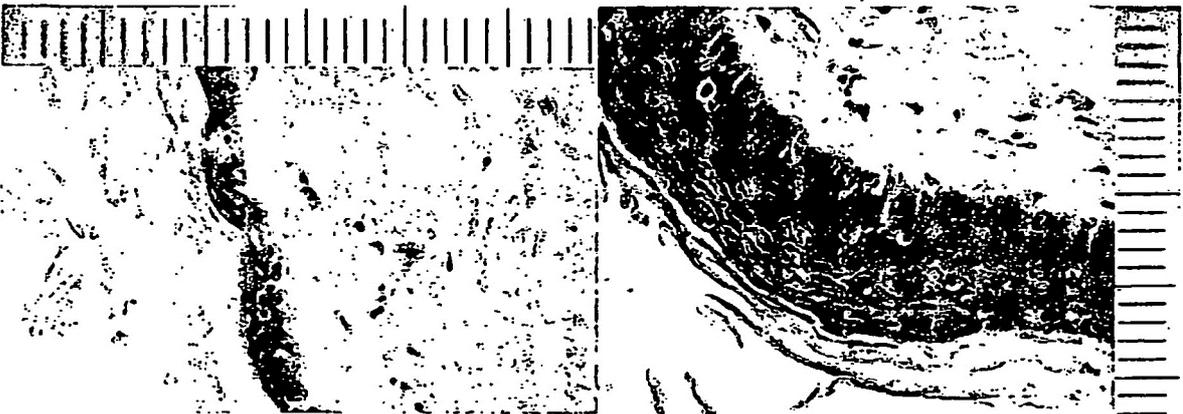


Figura 3C

Figura 3D



Figura 3E

Figura 3F

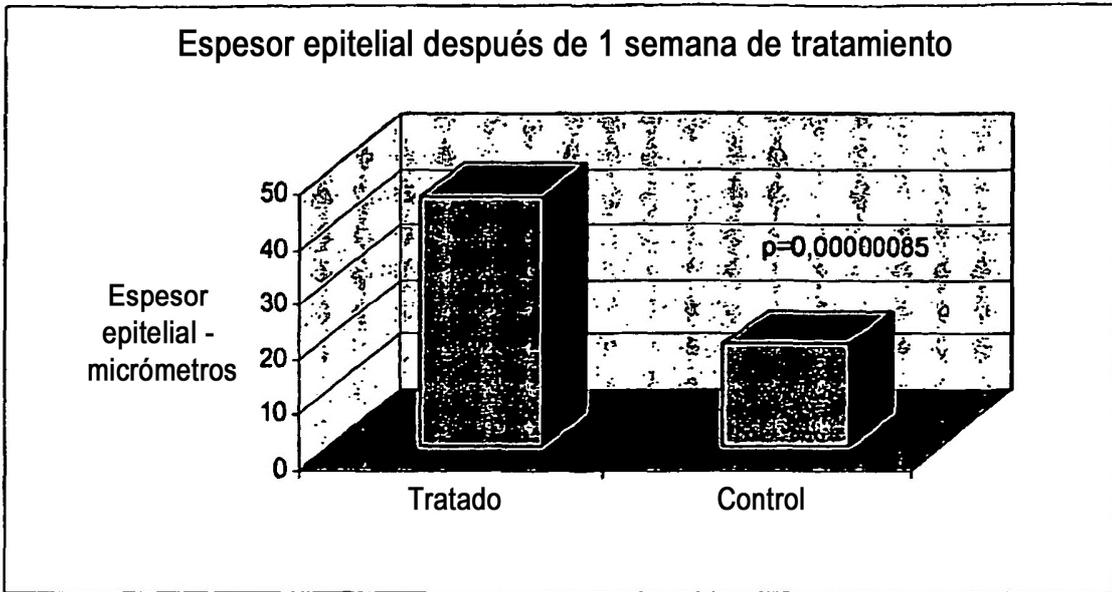


Figura 4A

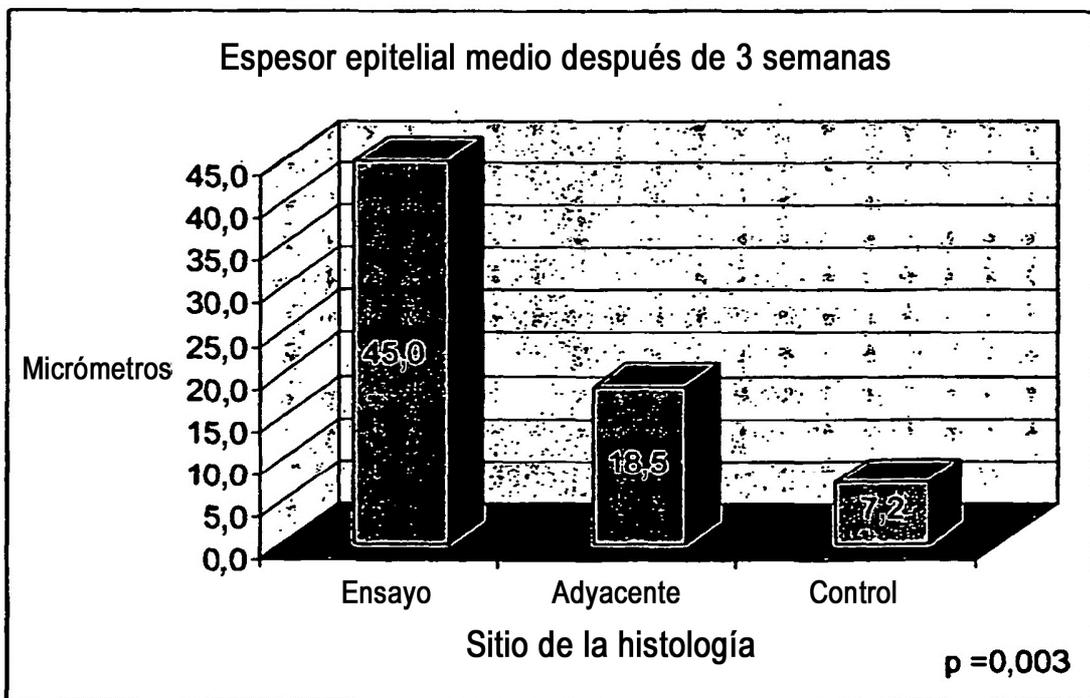


Figura 4B

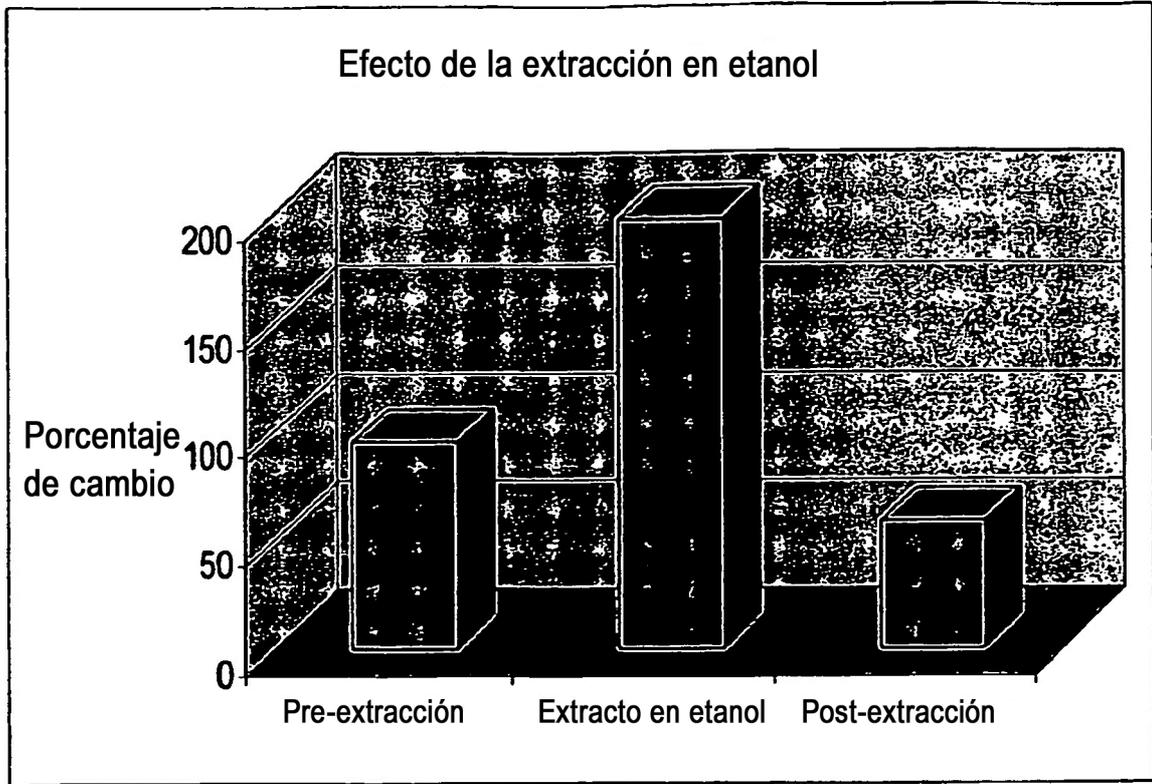


Figura 5



Figura 6A

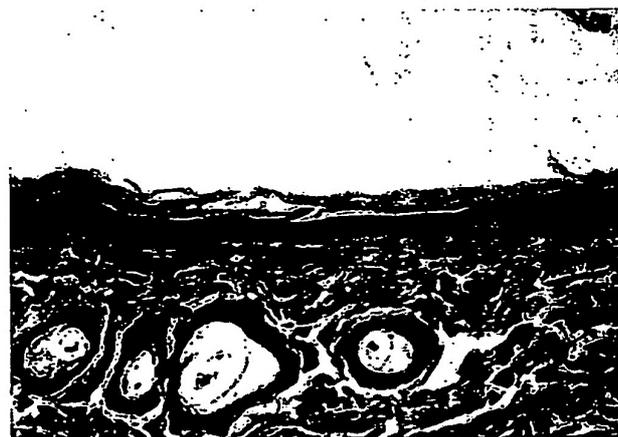


Figura 6B



Figura 6C



Figura 6D

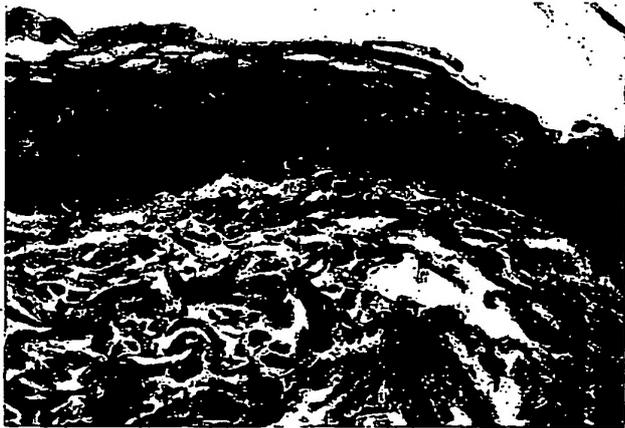


Figura 6E



Figura 6F

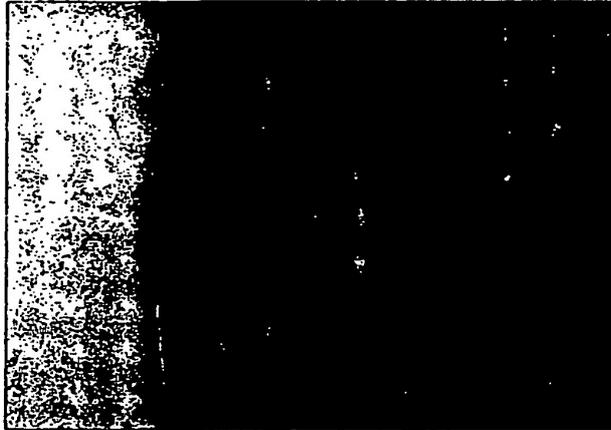


Figura 6G



Figura 6H



Figura 6I

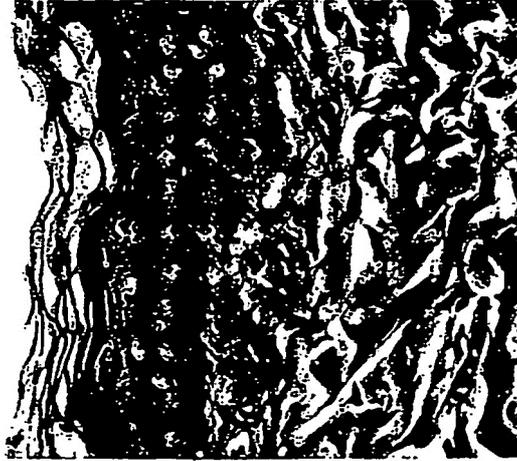
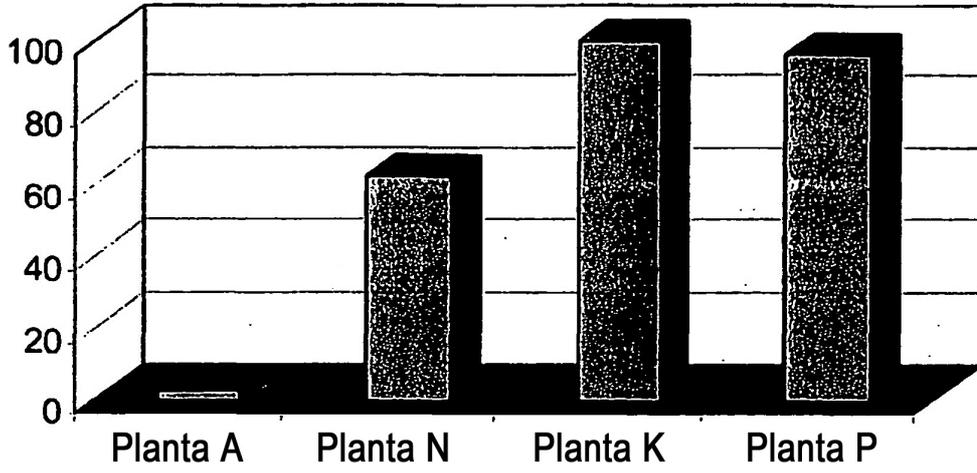


Figura 6J

Porcentaje de cambio del epitelio 1 semana



Ingrediente

FIG. 7A

Porcentaje de cambio del espesor epitelial

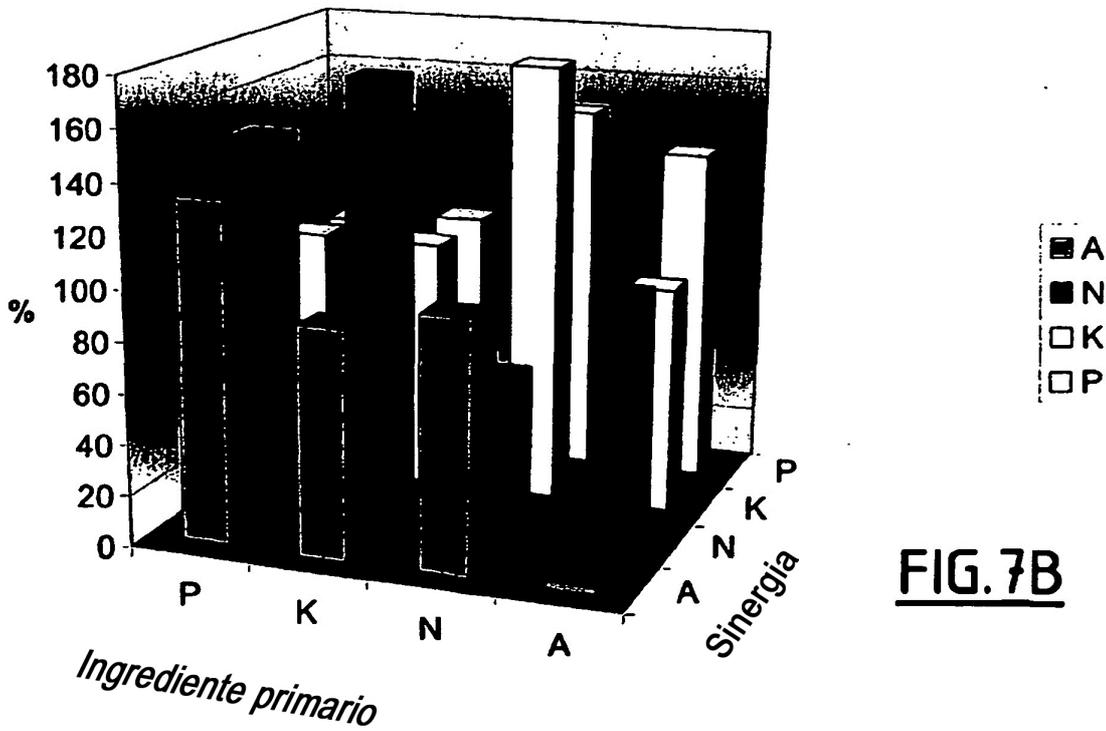


FIG. 7B



Figura 8A

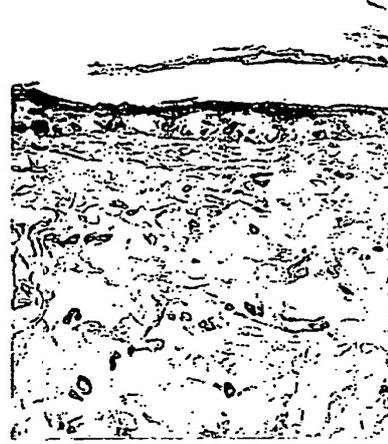


Figura 8B



Figura 8C



Figura 8D



Figura 8E



Figura 8F

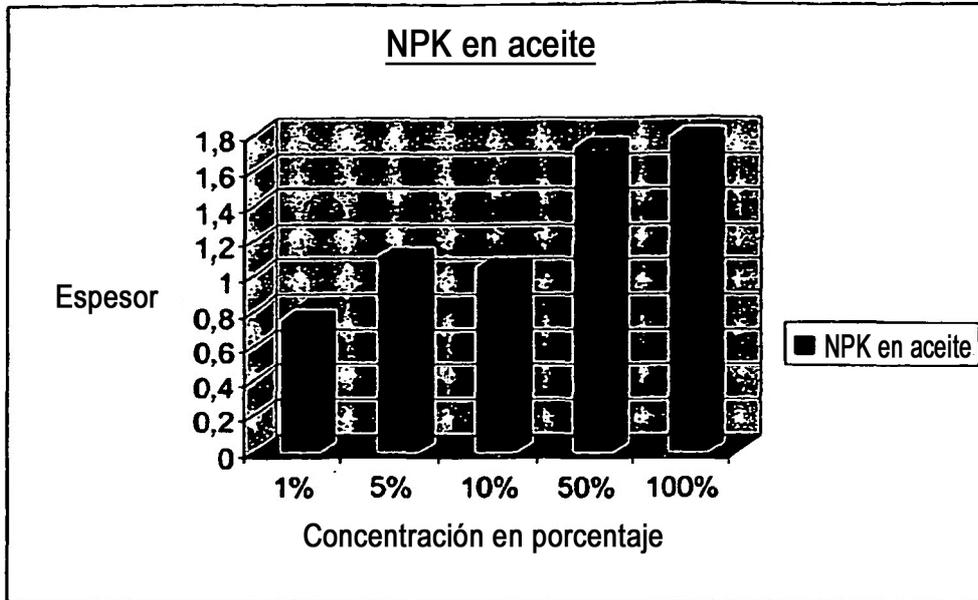


Figura 9A

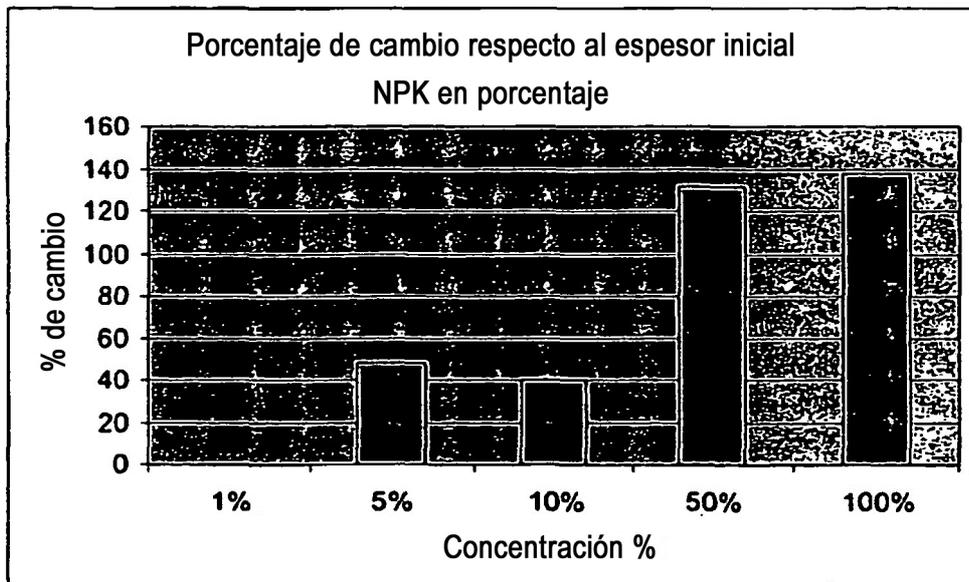


Figura 9B



Figura 10A

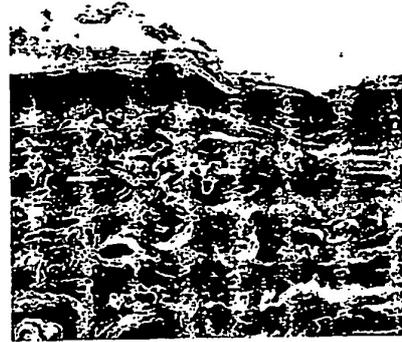


Figura 10B



Figura 10C



Figura 10D



Figura 10E