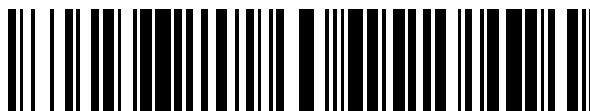


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 665 620**

51 Int. Cl.:

A61K 36/185 (2006.01)
A61K 8/97 (2007.01)
A61P 17/00 (2006.01)
A61P 31/10 (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)
A61Q 5/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.08.2014** **PCT/CA2014/050804**
87 Fecha y número de publicación internacional: **26.02.2015** **WO15024128**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.08.2014** **E 14837861 (5)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.03.2018** **EP 2988764**

54 Título: **Composiciones anticasca, y métodos de uso de las mismas**

30 Prioridad:

22.08.2013 US 201361868744 P
18.11.2013 US 201361905372 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.04.2018

73 Titular/es:

LUCAS MEYER COSMETICS CANADA INC.
(100.0%)
Place de la Cité, Tour de la Cité 2600 Boulevard
Laurier, Suite 900
Québec, QC G1V 4W2, CA

72 Inventor/es:

LOING, ESTELLE

74 Agente/Representante:

CAMPELLO ESTEBARANZ, Reyes

ES 2 665 620 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

Composiciones anticasca, y métodos de uso de las mismas

5 CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a composiciones anticasca y a métodos de uso de las mismas. Más específicamente, la presente invención se refiere a composiciones anticasca que comprenden un extracto de *Epilobium angustifolium*, a métodos de uso de los mismos y a kits de las mismas.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La caspa o *pityriasis capitis* es el problema del cuero cabelludo sin diagnosticar y más extendido de todo el mundo. Afectará aproximadamente a la mitad de los caucásicos hasta cierto punto antes de que alcancen los 20 años.

15

Se caracteriza por la capa córnea desechada agrupada en escamas blancas oleosas. En el cuero cabelludo normal, la migración de la piel es de aproximadamente 28 días y las células se desprenden como células individuales, mientras que en el cuero cabelludo con caspa, la migración celular es de aproximadamente 7 a 21 días y las células se desprenden en cúmulos de aproximadamente 100-1000 células. Aunque el vínculo preciso entre el hongo *Malassezia* y la caspa no está claro, se reconoce que este hongo contribuye a la caspa de la siguiente manera: *Malassezia* que requiere grasa para crecer, usa diferentes tipos de lipasa para hidrolizar los triglicéridos sobre la superficie del cuero cabelludo (por ejemplo, en los corneocitos), la hidrólisis libera ácidos grasos insaturados que a su vez aumentan el crecimiento de *Malassezia* y pueden causar inflamación y picazón. *Malassezia* representa aproximadamente el 46 % de la microflora en sujetos normales, y aproximadamente el 74 % de la microflora en sujetos con caspa. Se informa que las especies *Malassezia globosa* y *restricta* son las especies dominantes presentes en el cuero cabelludo humano, siendo *M. globosa* la especie con mayor actividad de lipasa. Sin embargo, se informa que la presencia de *Malassezia* no es suficiente para causar caspa.

Otros factores contribuyentes incluyen predisposición genética, metabolismo androgénico (es decir, cambio hormonal), estrés psicológico, irritantes ambientales (contaminación, alta humedad, temperatura, radiación UV) y productos cosméticos.

Los ingredientes anticasca actuales intentan controlar la actividad de la lipasa, el sebo, los hongos o la inflamación, y/o incluyen agentes queratolíticos, antimicrobianos/antifúngicos o antiproliferativos. Los agentes queratolíticos (por ejemplo, ácido salicílico (Sebex™, Sebulex™, Neutrogena™ T/Sal)) eliminarán una proporción considerable de escamas en pacientes con afecciones más leves. La mayoría de los tratamientos para la caspa disponibles en el mercado incluyen agentes antimicrobianos/antifúngicos, que han demostrado mejorar el síntoma visible de descamación y restaurar la condición subyacente de la piel (Warner et al., 2001). Por ejemplo, estos agentes incluyen piritiona de cinc (Selsun Blue™ para el cuero cabelludo seco con picazón, Neutrogena™ T/Gel Daily Control champú anticasca, Head & Shoulders™), sulfuro de selenio (Dandrex™, Head & Shoulders™ Clinical Strength, Selsun™), ketoconazol (Extina™, Nizoral™ A-D, Xolegel™), y ciclopirox. Los agentes antiproliferativos (por ejemplo, alquitrán de hulla (Denorex Therapeutic Protection™, Neutrogena™ T/Gel, Scytera™)) disminuyen la proliferación epidérmica y los infiltrados dérmicos (Schwartz et al., 2004). El tratamiento adyuvante con esteroides tópicos también puede ser útil en pacientes cuyo estado incluye evidencia un componente inflamatorio. Dado que muchos sujetos con caspa pueden requerir el uso regular y a largo plazo de agentes terapéuticos, es importante que los tratamientos se formulen de manera que sean estética y cosméticamente aceptables para el paciente.

Hay una serie de desventajas potenciales asociadas con los tratamientos actuales para la caspa. Por ejemplo, aunque el alquitrán de hulla funciona tanto como agente anticasca como biocida, es un carcinógeno conocido que puede ser tóxico para la salud de la piel. De hecho, la base de datos de seguridad cosmética del Environmental Working Group la clasifica en 10 en una escala de 0 a 10, siendo 10 la más peligrosa para la salud. En consecuencia, el alquitrán de hulla está prohibido en diversas regiones geográficas, tales como Canadá y la Unión Europea, aunque está disponible en los champús de venta libre en los Estados Unidos. Algunas personas pueden ser alérgicas a la piritiona de cinc, o pueden experimentar irritación de la piel causada por este ingrediente, aunque ambos efectos secundarios son muy poco frecuentes, según la Drug Information Online. La piritiona de cinc también puede irritar los ojos al contacto y puede causar náuseas si se ingiere, según la National Library of Medicine's Households Products Database. El ácido salicílico puede ayudar con la caspa al desprender las costras de piel muerta. Sin embargo, puede experimentarse una sensación de escozor o ardor al aplicar un champú que contiene el ácido, y puede irritar la piel, de acuerdo con los National Institutes of Health. Los efectos secundarios más graves y

potenciales pueden incluir vómitos, mareos y cambios en la frecuencia respiratoria, aunque dichos efectos son raros. Algunas personas pueden ser alérgicas al selenio de acuerdo con los National Institutes of Health (NIH). El NIH también informa que la irritación de la piel, las erupciones cutáneas y otros efectos secundarios tópicos se asocian más a menudo con los champús que contienen selenio a una concentración del 2,5 % o superior. El ketoconazol puede provocar picazón en la piel, urticaria y erupción cuando se usa por vía tópica, según el NIH. Los efectos secundarios más graves, tal como un mayor riesgo de cáncer, están relacionados con la ingestión interna del producto químico.

Aunque se ha informado que los productos químicos mencionados anteriormente muestran cierta eficacia, puede ser ventajoso reducir su concentración en un tratamiento anticasca (por ejemplo, combinándolos con otros principios activos) para disminuir el riesgo de desencadenar sus efectos secundarios potenciales. Además, debido a las preocupaciones ambientales y de salud, así como a la creciente presión de los consumidores, serían muy deseables principios activos anticasca de origen natural y/o respetuosos con el medio ambiente.

15 RESUMEN DE LA INVENCION

Más específicamente, de acuerdo con la presente invención, se proporciona una composición anticasca que comprende un extracto de *Epilobium angustifolium*. En otra realización específica, el extracto de *Epilobium angustifolium* es un extracto acuoso. En otra realización específica, el extracto de *Epilobium angustifolium* está presente a una concentración suficiente para inhibir el crecimiento de un hongo *Malassezia*. En otra realización específica, el hongo *Malassezia* es: *Malassezia furfur*, *Malassezia globosa*, *Malassezia restricta*, o cualquier combinación de los mismos. En realizaciones específicas, la composición mencionada anteriormente comprende al menos un 0,23 %, al menos un 0,25 %, o al menos un 0,46 % (p/v) de de peso seco de extracto *Epilobium angustifolium*.

En una realización específica, la composición comprende además un vehículo fisiológicamente aceptable. En otra realización específica, la composición comprende un aceite emulsionado. En otra realización específica, la composición comprende un conservante (por ejemplo, metabisulfito de sodio y/o fenoxietanol). En otra realización específica, la composición se formula como un champú, una pulverización, una crema, una loción, una máscara, o un gel. En otra realización específica, la composición comprende además al menos otro agente útil para tratar o prevenir una afección o trastorno del cuero cabelludo o al menos uno de sus síntomas. En otra realización específica, el al menos otro agente útil para tratar o prevenir una afección o trastorno del cuero cabelludo o al menos uno de sus síntomas, es un agente anticasca, un agente antisebo, un agente antiirritante, un agente antioxidante, un agente antieritema, un agente antifúngico, un agente antiinflamatorio, o un agente antilipasa.

En una realización específica, la composición mencionada anteriormente es para su uso en la reducción o prevención de la caspa, tal como caspa adherente; caspa no adherente; o una combinación de las mismas. En otra realización específica, la composición mencionada anteriormente es para su uso adicional en la reducción o prevención de al menos uno de: reengrase del cabello; irritación del cuero cabelludo; eritema del cuero cabelludo; y picazón en el cuero cabelludo.

De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se proporcionan composiciones para reducir o prevenir la caspa aplicando la composición como se ha definido anteriormente sobre el cuero cabelludo de un sujeto que lo necesite, en el que la caspa se reduce en el cuero cabelludo del sujeto en comparación con antes de la administración. En algunas realizaciones, la caspa es: caspa adherente; caspa no adherente; o una combinación de las mismas. En algunas realizaciones, la composición mencionada anteriormente es además para reducir o prevenir al menos uno de: reengrase del cabello; irritación del cuero cabelludo; eritema del cuero cabelludo; y picazón en el cuero cabelludo.

De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se proporciona un método para usar (i) la composición de la presente invención; o (ii) un extracto de *Epilobium angustifolium*; para reducir o prevenir (a) la caspa adherente; (b) la caspa no adherente; o (c) una combinación de (a) y (b), que comprende administrar la composición o extracto en el cuero cabelludo de un sujeto que lo necesite, por lo que (a), (b) o (c) se reduce en el sujeto en comparación con antes de dicha administración. En una realización específica, la composición o extracto es además para reducir o prevenir al menos uno de (e) reengrase del cabello; (f) irritación del cuero cabelludo; (g) eritema del cuero cabelludo; y (h) picazón en el cuero cabelludo. En otra realización específica, dicha composición o extracto se aplica al menos tres veces en el cuero cabelludo del sujeto.

En otra realización específica, dicha composición o extracto se aplica cada 3 días durante al menos 9 días. En otra

realización específica, dicha composición o extracto se aplica cada 3 días durante al menos 12 días. En otra realización específica, dicha composición o extracto se aplica cada 3 días durante al menos 15 días. En otra realización específica, dicha composición o extracto se aplica cada 3 días durante al menos 18 días. En otra realización específica, dicha composición o extracto se aplica cada 3 días durante al menos 21 días. En otra realización específica, dicha composición o extracto se aplica cada 3 días durante al menos 24 días. En otra realización específica, dicha composición o extracto se aplica cada 3 días durante al menos 27 días. En otra realización específica, dicha composición o extracto se aplica cada 3 días durante al menos 30 días.

De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se proporciona (i) una composición de la presente invención; o (ii) un extracto de *Epilobium angustifolium*; para reducir o prevenir (a) la caspa adherente; (b) caspa no adherente; o (c) una combinación de (a) y (b). En una realización específica, la composición o extracto es además para reducir o prevenir al menos uno de (e) reengrase del cabello; (f) irritación del cuero cabelludo; (g) eritema del cuero cabelludo; y (h) picazón en el cuero cabelludo.

En algunos aspectos, la presente invención se refiere al uso de la composición como se ha definido anteriormente, para reducir o prevenir la caspa. En algunos aspectos, la presente invención se refiere al uso de la composición como se ha definido anteriormente, para la fabricación de un medicamento para reducir o prevenir la caspa. En algunas realizaciones, la caspa es: caspa adherente; caspa no adherente; o una combinación de las mismas. En algunas realizaciones, el uso mencionado anteriormente es además para reducir o prevenir al menos uno de: reengrase del cabello; irritación del cuero cabelludo; eritema del cuero cabelludo; y picazón en el cuero cabelludo.

De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se proporciona una composición que comprende (i) la composición de la presente invención; o (ii) un extracto de *Epilobium angustifolium*; para reducir o prevenir o para la fabricación de un medicamento para reducir o prevenir (a) la caspa adherente; (b) caspa no adherente; o (c) una combinación de (a) y (b). En una realización específica, la composición o extracto es además para reducir o prevenir al menos uno de (e) reengrase del cabello; (f) irritación del cuero cabelludo; (g) eritema del cuero cabelludo; y (h) picazón en el cuero cabelludo.

De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se proporciona un kit que comprende (A) la composición de la presente invención o un extracto de *Epilobium angustifolium*; y (B) al menos uno de: (i) instrucciones para usar (A) para reducir o prevenir la caspa (por ejemplo, caspa adherente, caspa no adherente, o una combinación de las mismas); y (ii) al menos otro agente para su uso para tratar o prevenir una afección o trastorno del cuero cabelludo o al menos uno de sus síntomas. En una realización específica, el al menos otro agente para su uso para tratar o prevenir una afección o trastorno del cuero cabelludo, o al menos uno de sus síntomas, es un agente anticaspa, un agente antiirritante; un agente antioxidante, un agente antisebo, un agente antifúngico, un agente antiinflamatorio, un agente antilipasa.

Otras características de la presente invención se harán más evidentes tras la lectura de la siguiente descripción no restrictiva de realizaciones específicas de la misma, dadas a modo de ejemplo solamente con referencia a los dibujos adjuntos.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

En los dibujos adjuntos:

La **Figura 1** presenta esquemáticamente una línea temporal del protocolo clínico seguido para ensayar la actividad anticaspa del champú activo que contiene extracto de *E. angustifolium* preparado como se describe en el Ejemplo 2. El champú neutro se usó cada 3 días durante el periodo de lavado, mientras que el champú activo (que comprende el extracto de *E. angustifolium*) se usó a partir de D3 cada tres días.

La **Figura 2** presenta la evolución de la puntuación promedio ($n = 24$) para la caspa no adherente (± 2 SEM) en el tiempo en sujetos humanos tratados con un champú activo que comprende el extracto de *E. angustifolium* preparado como se describe en el Ejemplo 2.

La **Figura 3** presenta la evolución de la puntuación promedio ($n = 24$) para la caspa adherente (± 2 SEM) en el tiempo en sujetos humanos tratados con un champú activo que comprende el extracto de *E. angustifolium* preparado como se describe en el Ejemplo 2.

La **Figura 4** presenta fotografías del cuero cabelludo de sujetos representativos (sujetos n.º 20, n.º 14 y n.º 22, véase la Tabla I a continuación) tratados con un champú activo que comprende el extracto de *E. angustifolium* en D0, D3 y D30 preparado como se describe en el Ejemplo 2.

La **Figura 5** presenta la evolución de la secreción promedio de sebo ($n = 24$) (± 2 SEM) en el tiempo en

sujetos humanos tratados con un champú activo que comprende el extracto de *E. angustifolium* preparado como se describe en el Ejemplo 2.

La **Figura 6** presenta el efecto de una dilución al 3 % v/v de la solución de *E. angustifolium* preparada como se describe en el Ejemplo 1 en piel humana previamente irritada.

- 5 La **Figura 7** presenta el efecto de la solución de *E. angustifolium* preparada como se describe en el Ejemplo 1 (también conocida como Canadian Willowherb™ (CW)) sobre la actividad de depuración de DPPH.

DESCRIPCIÓN DE REALIZACIONES ILUSTRATIVAS

10 Composiciones anticaspa

Las composiciones anticaspa de la presente invención comprenden un extracto de *Epilobium angustifolium* (también denominado a veces *Chamerion angustifolium*, sauce-hierba, adelfilla (principalmente en América del Norte), o epilobio velludo (algunas partes de Canadá)).

- 15 Pueden adoptar la forma de un champú en húmedo o en seco, de una formulación sin aclarado (por ejemplo, pulverización, crema, etc.), una mascarilla, una loción, etc.

Componentes de composiciones anticaspa

- 20 Ciertas realizaciones de las composiciones anticaspa de la presente invención pueden incluir además uno o más componentes opcionales conocidos para su uso en el cuidado del cabello, siempre que los componentes opcionales sean química y físicamente compatibles con las composiciones descritas en el presente documento, o no perjudiquen indebidamente de otra manera la estabilidad del producto, la estética o el rendimiento. Las
25 concentraciones individuales de dichos componentes opcionales pueden variar típicamente de aproximadamente el 0,001 % a aproximadamente el 10 % p/p de la composición.

- En algunas realizaciones, las composiciones de la presente invención comprenden una concentración de extracto de *Epilobium angustifolium* suficiente para depurar radicales libres. En algunas realizaciones, las composiciones de la
30 presente invención comprenden una concentración de extracto de *Epilobium angustifolium* suficiente para inhibir el crecimiento de un hongo *Malassezia* (por ejemplo, *Malassezia furfur*, *Malassezia globosa*, *Malassezia restricta*, o cualquier combinación de los mismos). En algunas realizaciones, las composiciones de la presente invención comprenden al menos un 0,23 %, 0,25 %, o un 0,46 % (p/v) de peso seco de extracto de *Epilobium angustifolium* (extracto seco). En algunas realizaciones, las composiciones de la presente invención comprenden al menos un 0,2
35 %, 0,25 %, 0,3 %, 0,35 %, 0,4 %, 0,45 %, 0,5 %, 0,55 %, o un 0,6 % (p/v) de peso seco de extracto de *Epilobium angustifolium* (extracto seco).

- En algunas realizaciones, las composiciones de la presente invención pueden comprender un vehículo fisiológicamente (o farmacéuticamente) aceptable.

- 40 En algunas realizaciones, las composiciones de la presente invención pueden comprender un aceite emulsionado.

- Los ejemplos no limitantes de componentes opcionales para su uso en la composición incluyen partículas dispersas, polímeros catiónicos, otros agentes acondicionadores (aceites hidrocarbonados, ésteres grasos, otras siliconas),
45 agentes de suspensión, modificadores de la viscosidad, colorantes, disolventes no volátiles o diluyentes (solubles e insolubles en agua), auxiliares perlescentes, potenciador de espuma, tensioactivos adicionales o cotensioactivos no iónicos, pediculocidas, agentes de ajuste del pH, perfumes, conservantes (metabisulfito sódico, fenoxietanol), quelantes, proteínas, agentes activos de la piel, protectores solares, absorbentes de UV y vitaminas.

- 50 En una realización específica, pueden comprender al menos otro agente útil para reducir o prevenir una afección o trastorno del cuero cabelludo o al menos uno de sus síntomas. En una realización más específica, al menos otro agente útil para tratar o prevenir una afección o trastorno del cuero cabelludo, o al menos uno de sus síntomas, puede ser al menos uno de un agente anticaspa, un agente antisebo, un agente antiirritante; un agente antioxidante, un agente antieritema, un agente antifúngico, un agente antiinflamatorio, y un agente antilipasa, etc.

- 55 Agentes anticaspa: Los ejemplos no limitantes adecuados de agentes anticaspa adicionales incluyen: agentes antifúngicos tales como sulfuro de selenio, azoles (por ejemplo, ketoconazol), azufre en partículas, ciclopirox, sales de piridinotona; agentes queratolíticos tal como ácido salicílico; y mezclas de al menos dos de los ingredientes anteriores.

Agentes antiirritables: Los ejemplos no limitantes adecuados de agentes antiirritantes incluyen: oenoteína A y/o B como se describe en el documento US 6.528.490 de Steck et al.

- 5 Agentes antiinflamatorios adicionales: Los ejemplos no limitantes adecuados de agentes antiirritantes incluyen: oenoteína A y/o B como se describe en el documento US 6.528.490 de Steck et al.

Agentes antioxidantes adicionales: Los ejemplos no limitantes adecuados de agentes antiirritantes incluyen: oenoteína A y/o B como se describe en el documento US 6.528.490 de Steck et al.

10

Extractos

De acuerdo con una realización de la presente invención, se proporcionan composiciones anticasca que comprenden un extracto de un *Epilobium angustifolium* y métodos para usar *Epilobium angustifolium*.

15

Preparación de extractos

- De acuerdo con ciertas realizaciones de la presente invención, las plantas y/o partes de plantas (por ejemplo, flores, hojas y/o tallos) se pueden aislar y moler (por ejemplo, triturar en trozos usando un mezclador eléctrico o mortero) y/o secarse antes de pulverizarse/triturarse. Se pueden usar otros métodos conocidos en la técnica para la molienda. El material vegetal puede someterse luego a un proceso de extracción con disolvente.

De acuerdo con una realización de la invención, el material de *Epilobium angustifolium* (por ejemplo, fresco o seco, triturado o no) puede someterse, por ejemplo, a una decocción, reflujo, una infusión o al uso de CO₂ supercrítico.

25

- Como se usa en el presente documento, el término "decocción" se refiere a un proceso para extraer mediante ebullición productos químicos disueltos a partir de material vegetal (por ejemplo, flores, hojas, tallos, raíces, cortezas, rizomas, etc.). La decocción implica hervir en un disolvente (por ejemplo, disolvente acuoso, disolvente alcohólico, disolvente hidroalcohólico, disolvente orgánico, una mezcla de al menos dos de los mismos, etc.) para extraer aceites, compuestos orgánicos volátiles y otras sustancias químicas de *Epilobium angustifolium*.

30

- En una realización de la invención, puede usarse el siguiente procedimiento de decocción: el material de *Epilobium angustifolium* (por ejemplo, polvo de plantas secas) puede calentarse (por ejemplo, hervirse o calentarse a una temperatura entre aproximadamente 60 y aproximadamente 100 °C), o entre aproximadamente 70 y aproximadamente 100 °C, o entre aproximadamente 80 y aproximadamente 100 °C, o entre aproximadamente 85 y aproximadamente 100 °C, o entre aproximadamente 85 y aproximadamente 95 °C) en un disolvente (por ejemplo, disolvente acuoso, disolvente alcohólico, disolvente hidroalcohólico, disolvente orgánico, una mezcla de al menos dos de los mismos, etc.) durante un tiempo suficiente para extraer los componentes útiles de la planta (por ejemplo, de aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 5 horas) y la solución obtenida puede decantarse y/o filtrarse.

- El procedimiento de decocción se puede repetir varias veces (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 o más) y el resultado de las extracciones sucesivas se puede recoger y combinar.

40

- De acuerdo con otra realización de la invención, el material de *Epilobium angustifolium* (por ejemplo, fresco o seco, molido o no) puede someterse a reflujo. Como se usa en el presente documento, el término "reflujo" se refiere a un proceso de extracción de productos químicos del material vegetal (por ejemplo, flores, hojas, tallos, raíces, corteza, rizomas, etc.) calentando el material de la planta en un disolvente (por ejemplo, disolvente acuoso, disolvente alcohólico, disolvente hidroalcohólico, disolvente orgánico, una mezcla de al menos dos de ellos, etc.) para crear vapores, condensar los vapores y devolver este condensado a la mezcla de la planta y el disolvente a partir del cual se originó. El reflujo es una variante de la decocción.

50

- En una realización de la invención, se puede usar el siguiente procedimiento de reflujo: se puede usar material de *Epilobium angustifolium* (por ejemplo, fresco o seco, molido o no). Si se usa material molido, en primer lugar se puede tamizar opcionalmente con un filtro (por ejemplo, malla de 1 a 4 mm). El material (filtrado o no) puede usarse para la extracción. El material de la planta se puede mezclar con un disolvente en un recipiente y calentarse a reflujo durante un tiempo suficiente para extraer los productos químicos (por ejemplo, de aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 3 horas); es decir, la mezcla puede hervirse y el vapor puede capturarse en un condensador configurado para devolver el destilado condensado al recipiente. La mezcla puede entonces filtrarse, el filtrado puede recuperarse y el residuo de la planta puede dejarse en el recipiente. El procedimiento de reflujo puede repetirse varias veces (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 o más) y los extractos resultantes de las extracciones sucesivas

55

pueden recogerse y combinarse. Los extractos se pueden evaporar para eliminar la mayor parte del alcohol, si existe (por ejemplo, con un evaporador rotatorio). La fase acuosa puede diluirse opcionalmente con agua y luego congelarse y liofilizarse para obtener un polvo.

- 5 De acuerdo con otra realización de la invención, el material de *Epilobium angustifolium* (por ejemplo, fresco o seco, molido o no) puede someterse a una infusión. Como se usa en el presente documento, el término "infusión" pretende referirse un proceso de extracción de productos químicos disueltos del material vegetal (por ejemplo, flores, hojas, tallos, raíces, corteza, rizomas, etc.) en un disolvente (calentado o no) (por ejemplo, disolvente acuoso, disolvente alcohólico, disolvente hidroalcohólico, disolvente orgánico, una mezcla de al menos dos de los mismos, etc.),
10 permitiendo que el material permanezca suspendido en el disolvente en el tiempo (un proceso denominado a menudo remojo) (por ejemplo, al menos durante 30 min, o al menos durante 1 hora, o al menos durante 2 horas, o al menos durante 3 horas, o al menos durante 4 horas, o al menos durante 5 horas, etc.).

- En una realización de la invención, se puede usar el siguiente procedimiento de infusión: se puede añadir un
15 disolvente hirviendo al material de *Epilobium angustifolium* (por ejemplo, fresco o seco, molido o no) y mezclarse durante un tiempo suficiente para extraer los productos químicos (por ejemplo, de aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 5 horas) a una temperatura que permite que la mezcla se enfríe (por ejemplo, entre aproximadamente 10 °C y 40 °C, preferiblemente entre 18 °C y 25 °C). La infusión resultante puede decantarse y/o filtrarse. El procedimiento de infusión se puede repetir varias veces (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 o más) y el resultado
20 de las extracciones sucesivas se puede recoger y combinar. Los extractos de alcohol en bruto pueden concentrarse al vacío y posteriormente liofilizarse. Los extractos de agua en bruto se pueden liofilizar.

- Los disolventes que pueden usarse para los procedimientos de extracción (por ejemplo, decocción o infusión o reflujo o antes y/o después de la decocción o infusión o reflujo) de acuerdo con la presente invención incluyen agua
25 (por ejemplo, destilada y desmineralizada), hidroalcohol (es decir, mezcla de agua y alcohol (por ejemplo, agua/alcohol de más o aproximadamente el 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %), disolvente orgánico, alcohol (por ejemplo, etanol), o cualquier mezcla de al menos dos de estos disolventes.

- En una realización específica, una decocción o infusión o reflujo puede ir seguido de filtración y/o decantación de la
30 solución para separar líquidos de sólidos. También se puede realizar otro tratamiento de la porción líquida y/o sólida. Por ejemplo, la porción líquida se puede tratar para coagular y/o precipitar mucílago y gomas naturales. Dichos tratamientos incluyen el uso de alcohol (por ejemplo, etanol) y carbón activado y decantación y/o filtración y/o tierra de diatomeas para eliminar el mucílago coagulado y/o precipitado y las gomas naturales.

- 35 Los extractos hidroalcohólicos y alcohólicos de la presente invención pueden ser un extracto etanólico o metanólico, propanólico, butanólico, glicerol o un extracto obtenido a partir de un alcohol alifático C₁₋₁₀. En otra realización, los extractos se obtienen usando un disolvente orgánico, ejemplos de los cuales incluyen cetonas (tales como cetonas C₁₋₁₀), hidrocarburos (tal como hexano), ácidos orgánicos, ésteres (tal como acetato de etilo), éteres (tal como etilo éter), cloruros de alquilo (tal como cloruro de metileno), etc. Se puede usar una mezcla de dos o más (por ejemplo, 3
40 disolventes, 4 disolventes, etc.) de los disolventes anteriores con o sin agua (por ejemplo, metanol y etanol). El primer disolvente se evapora para generar un primer extracto/residuo.

- Como se usa en el presente documento, la frase "**extracto acuoso**" se refiere a una preparación a base de agua de material de *Epilobium angustifolium* que contiene la porción biológicamente activa (es decir, los compuestos que
45 reducen o previenen la caspa) sin su residuo celular.

- En algunas realizaciones, las soluciones de *Epilobium angustifolium* de la presente invención comprenden al menos el 1 %, 1,5 %, 2 %, 2,5 %, 3 %, 3,5 %, 4 %, 4,5 %, 5 %, 5,5 %, o el 6 % (p/p) de peso seco de extracto de *Epilobium angustifolium* (extracto seco).

- 50 **Componentes/impurezas no polares.** Se pueden realizar entonces extracciones/suspensiones adicionales para eliminar los componentes/impurezas no polares del primer extracto/residuo. Esta extracción adicional se realiza con un segundo disolvente (o mezcla de disolventes) en el primer extracto/residuo obtenido con el primer disolvente (o mezcla de disolventes). En una realización, el primer extracto/residuo obtenido con el primer disolvente (o mezcla de
55 disolventes) se suspende en etanol y se extrae con un alcano que no es soluble en metanol (por ejemplo, hexano, pentano o éter de petróleo). Por lo tanto, los componentes/impurezas no polares se solubilizan con la fase de alcano (por ejemplo, hexano) que luego se descarta. La fase de etanol luego se evapora para generar un segundo extracto/residuo.

Componentes/impurezas polares. En una realización, el segundo residuo/extracto obtenido con el segundo disolvente (o mezcla de disolventes) se somete a una tercera suspensión/extracción para eliminar componentes/impurezas polares del segundo extracto/residuo. Por ejemplo, el segundo extracto/residuo puede suspenderse en éter dietílico, butanol o disolventes clorados tales como cloroformo o clorometano, y extraerse con agua. En una realización, el residuo se suspende en Et₂O y se extrae con agua. Por lo tanto, los componentes/impurezas polares se solubilizan con la fase acuosa que luego se descarta. La fase de éter dietílico, por ejemplo, se evapora a continuación para generar un tercer extracto/residuo.

En realizaciones más específicas, el extracto es un extracto etanólico, un extracto metanólico, un extracto hidroalcohólico (por ejemplo, extracto hidroetanólico) o un extracto acuoso de las plantas de la presente invención en forma líquida o en forma seca. En realizaciones, se proporcionan una o más fracciones obtenidas por separación cromatográfica de cada extracto de la presente invención.

En realizaciones, se puede realizar una extracción preliminar (es decir, antes de la primera extracción (por ejemplo, extracción con agua, hidroalcohólica o alcohólica)) en el material de la planta para eliminar los compuestos indeseables. Por ejemplo, se puede usar hexano u otro disolvente (por ejemplo, hexano, éter, pentano o éter de petróleo) para eliminar compuestos no polares, tales como compuestos cerosos. La primera extracción se puede realizar en el material de la planta limpio.

De acuerdo con otras realizaciones de la presente invención, como alternativa al proceso de extracción con disolvente, los extractos de la presente invención también se pueden obtener mediante el uso de CO₂ supercrítico. Los extractos supercríticos a menudo se conocen como Extractos de Dióxido de Carbono Supercrítico o SCO₂, porque el proceso usa dióxido de carbono comprimido. El dióxido de carbono está presente en el aire y es necesario para la vida de las plantas. Cuando está comprimido, puede convertirse en un estado líquido. Cuando se aumenta la presión, la temperatura aumenta. El punto supercrítico es la temperatura y presión exactas en las que un gas se convierte en líquido. Para el dióxido de carbono, es relativamente baja (31 grados centígrados). El CO₂ comprimido en este punto tiene la densidad de un líquido, pero las propiedades de un gas. El estado tipo gas ayuda a una difusión más rápida de los fitoquímicos o extractos, casi dos órdenes de magnitud mayor que los de otros líquidos, mientras que el estado tipo líquido ayuda a una mejor solubilidad de los fitoquímicos o extractos. Una vez que se completa la extracción, se libera la presión, y el dióxido de carbono se libera de manera inofensiva. El proceso de extracción comienza con la colocación del producto botánico en bruto en un extractor. El CO₂ líquido se calienta a su estado supercrítico (31 grados centígrados) y luego se bombea al extractor. El SCO₂ luego se mezcla con el producto botánico. El SCO₂, que ahora lleva el extracto deseado, se transfiere a un tanque separador donde se controlan la presión y la temperatura. El extracto se precipita en el separador, y el CO₂ se recicla en el extractor a través de un condensador.

El extracto puede estar en forma líquida o seca.

Los extractos de *Epilobium angustifolium* de la presente invención, como se usan en los métodos de la presente invención, no provocan intolerancia cutánea.

Los extractos de *Epilobium angustifolium* de la presente invención incluyen los comercializados por Lucas Meyer Cosmetics, A & E Connock, Bio-Botanica, Cosmetic Developments, Crodarom, IES Labo y Unipex, por ejemplo.

45 **Métodos para usar composiciones anticasca y extractos de la presente invención**

Los extractos, moléculas y composiciones de la presente invención son útiles para reducir (a) la caspa adherente; (b) caspa no adherente; (c) sebo del cuero cabelludo; (d) reengrase del cuero cabelludo; (e) irritación del cuero cabelludo; (f) picazón en el cuero cabelludo; (g) eritema del cuero cabelludo; (h) enrojecimiento del cuero cabelludo; (i) inflamación del cuero cabelludo; o (j) al menos dos de (a) a (i). En una realización específica, reduce al menos (a) o (b). En otra realización específica, reduce al menos (a) o (b) y además reduce al menos uno de (c) a (i). En una realización específica, el sujeto tiene piel sensible.

Como se usa en el presente documento, el término "reducir" o "que reduce" se refiere a una reducción de un trastorno o afección del cuero cabelludo preexistente. Incluye una corrección/tratamiento completo o parcial (por ejemplo, reducción de la gravedad o frecuencia) de la condición o trastorno de la piel del cuero cabelludo. Como se usa en el presente documento, el término "prevenir" en la expresión "prevenir una afección o trastorno del cuero cabelludo" (por ejemplo, caspa, reengrase del cuero cabelludo, etc.) se refiere a un retraso en el inicio de, o una prevención completa o parcial (por ejemplo, reducción de la gravedad o frecuencia) de un trastorno o trastorno del

cuero cabelludo o de al menos uno de sus síntomas (por ejemplo, caspa adherente, caspa no adherente, sebo del cuero cabelludo, eritema del cuero cabelludo, irritación del cuero cabelludo, etc.). Como se usa en el presente documento, una "reducción" corresponde a una disminución de al menos el 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 100 %, 150 %, 200 %, 250 %, o el 300 %, etc. de al menos un síntoma en el sujeto tratado en comparación con el síntoma en el sujeto antes del tratamiento. En el caso de reducción de la caspa (adherente o no adherente) o irritación o eritema, una reducción también puede significar una reducción en la puntuación (por ejemplo, reducción de 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5 o 5 unidad(es) de puntuación como se describe en el presente documento).

10 Como se usa en el presente documento, una "prevención" puede corresponder a un retraso en la aparición o reaparición de la afección o trastorno del cuero cabelludo, o de al menos uno de sus síntomas, en el sujeto después del tratamiento con la composición o extractos de la presente invención (por ejemplo, lavado del cabello con un champú que comprende extracto de *Epilobium angustifolium* de la presente invención) de al menos el 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 100 %, 150 %, 200 %, 250 %, o el 300 %, etc. (o 1, 2, 3, 4, 5 días, etc.) mayor que el retraso de aparición o reaparición de la afección o trastorno del cuero cabelludo o de al menos uno de sus síntomas en un sujeto después del lavado del cabello sin el principio activo de la presente invención (por ejemplo, champú neutro (es decir, sin extracto de *Epilobium angustifolium*)).

20 Una "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad eficaz, a dosis y durante períodos de tiempo necesarios, para lograr el resultado terapéutico deseado, tal como reducción de una afección o trastorno del cuero cabelludo o de uno de sus síntomas (por ejemplo, caspa). Una cantidad terapéuticamente eficaz de *Epilobium angustifolium* puede variar de acuerdo con factores tales como el estadio de la enfermedad, la edad, el sexo y el peso del individuo, y la capacidad del extracto de *Epilobium angustifolium* para provocar una respuesta deseada en el individuo. Los regímenes de dosificación pueden ajustarse para proporcionar la respuesta terapéutica óptima. También es una cantidad terapéuticamente eficaz aquella en la que los efectos terapéuticamente beneficiosos superan cualquier efecto tóxico o perjudicial del extracto de *Epilobium angustifolium*.

Una "cantidad profilácticamente eficaz" se refiere a una cantidad eficaz, a dosis y durante períodos de tiempo necesarios, para lograr el resultado profiláctico deseado, tal como prevenir una afección o trastorno del cuero cabelludo o de uno de sus síntomas (por ejemplo, caspa, reengrase, etc.). Se puede determinar una cantidad profilácticamente eficaz como se ha descrito anteriormente para la cantidad terapéuticamente eficaz.

En realizaciones particulares, un intervalo preferido para la cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de extracto de *E. angustifolium* puede ser de aproximadamente el 0,1 % a aproximadamente el 10 % en peso de la composición, en una realización específica, puede estar entre aproximadamente el 1 % y aproximadamente 7 % en peso de la composición, o entre aproximadamente el 1 % y aproximadamente el 5 % en peso de la composición, o entre aproximadamente el 1 % y aproximadamente el 4 % en peso de la composición, o entre aproximadamente el 1 % y aproximadamente el 3 % en peso de la composición, o entre aproximadamente el 1 % y aproximadamente el 2 % en peso de la composición. Un método de tratamiento cosmético, profiláctico o terapéutico es aplicar un extracto de *Epilobium angustifolium* por vía tópica al cuero cabelludo, por ejemplo, como un champú o como una composición sin aclarado. Los valores de dosificación pueden variar según la gravedad de la afección a aliviar. Se entenderá además que para cualquier sujeto particular, los regímenes de dosificación específicos pueden ajustarse en el tiempo de acuerdo con la necesidad individual y el criterio de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones, y los intervalos de dosificación expuestos en el presente documento son únicamente ejemplares y no están destinados a limitar el alcance o la práctica de los métodos de la invención.

De acuerdo con otro aspecto de la invención, las composiciones terapéuticas de la presente invención, que comprenden un extracto de *Epilobium angustifolium*, pueden proporcionarse en recipientes que tienen etiquetas que proporcionan instrucciones para el uso de la formulación para, por ejemplo, reducir la caspa, seborrea del cuero cabelludo, irritación del cuero cabelludo, eritema del cuero cabelludo, enrojecimiento del cuero cabelludo, o picazón en el cuero cabelludo. Las etiquetas también pueden desvelar que las composiciones comprenden al menos otro principio activo útil para reducir al menos uno de los síntomas o afecciones anteriores (por ejemplo, agente anticaspa (por ejemplo, ácido salicílico, antiirritante, antiinflamatorio o antioxidante (por ejemplo, oenoteína), etc.).

Como se usa en el presente documento "vehículo farmacéuticamente aceptable" o "vehículo fisiológicamente aceptable" o "excipiente" incluye cualquiera y todas las cremas, geles, disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardantes de la absorción, y similares que sean fisiológicamente compatibles y no afecten adversamente de forma significativa a las propiedades

farmacéuticas (por ejemplo, toxicidad y eficacia) del *Epilobium angustifolium*, tal como se usan convencionalmente en las técnicas cosméticas y farmacéuticas. En una realización, el vehículo es adecuado para administración tópica. En algunas realizaciones, la administración tópica incluye la administración al cuero cabelludo. En algunas condiciones, las moléculas activas en el extracto de *Epilobium angustifolium* pueden experimentar hidrólisis en ácido o en base, de manera que los vehículos o excipientes farmacéutica o fisiológicamente aceptables pueden incluir tampones de pH para mantener un pH aceptable para la actividad farmacéutica (véase Daniel et al., 1991, J. Natural Products 54(4): 946, para un análisis de los efectos del pH sobre los elagitaninos).

Los extractos y las composiciones para el cabello y el cuero cabelludo de la presente invención se aplican típicamente cada día, dos días, tres días, cuatro días, 5 días en el cuero cabelludo del sujeto o con menos frecuencia, o tan a menudo como se requiera. También se aplican típicamente durante un período de al menos 1 semana (o 2, 3, 4, 5, 6 semanas, etc.). También se pueden aplicar durante al menos 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 días, etc. También se pueden aplicar al menos dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce, trece, catorce, quince, dieciséis, diecisiete, dieciocho, diecinueve, veinte veces, etc. El tratamiento puede aplicarse cuando al menos una afección o trastorno del cuero cabelludo o uno de sus síntomas (por ejemplo, caspa) se vuelva detectable.

La presente invención se ilustra con más detalles mediante los siguientes ejemplos no limitantes.

20 EJEMPLO 1:

Extracto de *Epilobium angustifolium*

Se recogieron plantas de *Epilobium angustifolium*, y sus flores, hojas y tallos se homogeneizaron y se extrajeron en agua desionizada (preparada por ósmosis inversa) a una relación agua:planta de 8:1 (p/p) durante aproximadamente 3 horas a una temperatura de aproximadamente 85 °C a 95 °C. Después, la solución se clarificó por decantación: los sólidos se separaron del líquido en un tanque de decantación, y el líquido se trató entonces con etanol y carbón activado para coagular y precipitar el mucílago y las gomas naturales. Después, el líquido se filtró usando una prensa de filtro para eliminar los sólidos coagulados/aglomerados en el carbono. En los casos en los que la filtración era difícil, se añadió opcionalmente tierra de diatomeas en la prensa de filtro para facilitar la filtración. De lo contrario, se usó papel de filtro en las placas de retención y el tamaño de poro del filtro se adaptó para eliminar el precipitado visible en una muestra centrifugada. Después, se añadieron conservantes (es decir, metabisulfito sódico (0,10-0,15 %) y fenoxietanol (0,60-0,75 %) al filtrado y la solución se filtró de nuevo en filtros de membrana de 0,5 µm y 0,2 µm en una sala controlada sometida a filtración de aire HEPA. Se obtuvo la siguiente solución.

Ingredientes	% (p/p)
Agua	93-95
Flor/hojas de <i>Epilobium angustifolium</i> y extracto seco del tallo	4,6-5,4
Metabisulfito sódico	0,09-0,11
Fenoxietanol	0,4-0,6

EJEMPLO 2:

Composición que comprende extracto de *Epilobium angustifolium*

La tabla a continuación proporciona la lista y la concentración de los ingredientes utilizados en los champúes "activo" (fases A, B y C) y "neutro" (fases A y B) usados en el ensayo clínico descrito en los Ejemplos a continuación.

Fase	Ingrediente	Nombre INCI	% (p/p)
A	Agua desionizada	Agua	78,15
	Dermofeel™ PA-3	Fitato sódico, agua, alcohol	0,10
	Ecogel™	Lisolecitina, goma de esclerocio, goma xantana, pululano	0,50
B	Dermosoft™ G10LW	Poligliceril-10 Laurato, agua	2,00
	Dermosoft™ GMCY	Caprilato de glicerilo	1,00
	Tegobetaina F50	Cocamidopropil Betaina	4,45
	Texapon™ N70	Lauril éter sulfato sódico	9,50
	Cloruro sódico	Cloruro sódico	2,80

C	Solución de <i>Epilobium angustifolium</i> preparada según el Ejemplo 1	Agua, solución de flor/hoja/tallo de <i>Epilobium angustifolium</i>	1,50
			100 %

El **champú neutro** que contiene las fases A y B se preparó de la siguiente manera: La fase A se preparó mezclando agua con Dermofeel™ PA-3, y calentando la mezcla a aproximadamente 70-75 °C. Se añadió Ecogel™ a la mezcla y se incorporó en agitación durante 20 minutos o hasta que se disolvieron todos los sólidos. La fase B se preparó mezclando todos los ingredientes (Dermosoft™ G10LW, Dermosoft™ GMCY, Tegobetaína F50, Texapon™ N70, cloruro sódico) para obtener una fase homogénea. La fase homogénea de la fase B se añadió después a la fase A, y la combinación se mezcló durante aproximadamente 5 minutos y luego se homogeneizó a 3000 rpm con un instrumento de dispersión Ultra-Turrax™. Después, la mezcla se enfrió hasta que alcanzó menos de aproximadamente 40 °C.

El **champú activo** que contiene las fases A, B y C se preparó como se ha descrito anteriormente para el champú neutro, excepto que se añadió la fase C (es decir, solución de *Epilobium angustifolium* preparada como se describe en el Ejemplo 1) después de la etapa de enfriamiento final y la combinación se mezcló durante aproximadamente 5 minutos. El pH se ajustó si era necesario para alcanzar entre aproximadamente 5,0 y 5,4. En algunas realizaciones, el pH del champú activo puede estar entre 4,3 y 5,5. En algunas realizaciones, el pH del champú activo es de aproximadamente 5,1.

Los champús neutros y activos se almacenaron a temperatura ambiente.

20 **EJEMPLO 3:**

Inhibición del crecimiento de las especies *Malassezia*

La determinación de la eficacia de la solución preparada como se describe en el Ejemplo 1 en 3 especies diferentes de *Malassezia* se determinó midiendo la concentración más baja de una molécula para la que no hay crecimiento visible de la cepa de microorganismos (MIC). Las especies de *Malassezia* usadas fueron *M. furfur* (cepa 1634.86, Pasteur Institute), *M. globosa* (cepa IP 2387.96, Pasteur Institute), y *M. restricta* (cepa 7877, Centraalbureau voor Schimmcultures). Los resultados se presentan como una concentración p/v, es decir, el 0,04 % es 0,4 g/l; el 0,078 % es 0,78 g/l, el 0,156 % es 1,56 g/l y el 0,25 % es 2,5 g (peso seco)/l.

	<i>M. furfur</i>	<i>M. globosa</i>	<i>M. restricta</i>
Extracto de <i>E. angustifolium</i>	0,25 %	0,25 %	0,25 %
Disulfuro de selenio (control positivo)	0,04 %	0,04 %	0,04 %
Piroctona olamina (control positivo)	0,078 %	0,156 %	0,156 %

EJEMPLO 4:

Efecto del extracto de *E. angustifolium* sobre la actividad de depuración de DPPH

Se disolvieron DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), Trolox™ (referencia) y ácido ascórbico (control positivo - no mostrado) en alcohol a 5×10^{-4} M, 10 g/l y 10^{-3} M, respectivamente. Las soluciones de extracto de *E. angustifolium* como se prepararon en el **Ejemplo 1** se diluyeron directamente en el medio de reacción compuesto por alcohol, tampón Tris-HCl (0,1 N, pH 5,5) y la solución de DPPH. La concentración final de DPPH fue de 10^{-4} M. Las mezclas se agitaron y se dejaron en reposo durante 30 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad. La absorbancia a 540 nm por DPPH se midió entonces mediante un espectrofotómetro (Berthold Mitras LB 240) a T = 30 min, 2 horas, y 24 horas. La actividad de depuración de radicales DPPH se evaluó a partir de la diferencia en la absorbancia del DPPH detectado a 540 nm entre un blanco y las soluciones de extracto de *E. angustifolium*.

La **Figura 7** presenta los resultados, que muestran que las diluciones de la solución de *E. angustifolium* preparadas como se ha descrito en el **Ejemplo 1** reducen fuertemente todos los tipos de radicales libres al menos a concentraciones del 0,1 % (v/v) y del 0,05 % (v/v).

EJEMPLO 5:**Material y métodos para el ensayo clínico**

5 Los estudios descritos en los **Ejemplos 6 a 13** en el presente documento se realizaron según la Declaración de Helsinki (1964) y sus sucesivas actualizaciones. El sistema utilizado para el estudio está certificado por la Norma ISO 9001: 2008. Fue un estudio abierto, intraindividual y cada sujeto tenía su propio control.

- Sujetos: Criterios de inclusión:** Se usaron 24 sujetos masculinos y femeninos que tenían caspa y pelo graso con edades comprendidas entre 20 y 61 (edad promedio de 30 ± 2 años). Eran sujetos sanos, que dieron su consentimiento informado y estaban al tanto de la necesidad y la duración de los controles para poder esperar una adhesión perfecta al protocolo establecido por el centro de ensayos clínicos. Los sujetos se lavaron el cabello al menos 72 horas antes de la medición.
- 15 Los **criterios exclusión** fueron sujetos cuya longitud de cabello era inferior a 2 cm; alopecia en vértice, con cabello rizado que influye en la puntuación de la caspa; quienes habían comenzado, suspendido o cambiado un tratamiento hormonal (incluyendo píldoras anticonceptivas) en las últimas seis semanas; quienes presentaban antecedentes de alergia cutánea; que habían usado tratamiento anticaspa, anticaída o corticoesteroides para el cuero cabelludo durante las últimas dos semanas antes del inicio del estudio; quienes habían utilizado productos para el cuero cabelludo (tinte, decoloración, ondulado y alisado permanente, etc.) durante la última semana antes de D-15; práctica regular de un deporte acuático y/o tener regularmente una sesión de sauna; sujetos inmunodeprimidos; que se han sometido a una operación en el mes anterior al estudio; quienes habían usado un tratamiento tópico o sistémico que pueda interferir con la evaluación de la tolerancia cutánea del producto durante las semanas anteriores al estudio; quienes habían tenido una exposición excesiva al sol durante el mes anterior al estudio;
- 25 quienes tienen una patología cutánea en la zona estudiada; quienes han tomado fármacos que contienen litio, corticoides, antihistamínicos, antimicóticos, antibióticos, antiinflamatorios no esteroideos o inmunosupresores durante el mes anterior al estudio; quienes han tomado ácido retinoico en el período de 6 meses anteriores al estudio; quienes se incluyeron en otro ensayo clínico durante el estudio; a quien se considera que probablemente no cumpla con el protocolo.

30

Tabla I: Información demográfica de los sujetos

Tabla 11. Información demográfica de los sujetos											
Sujeto	Edad	Sexo		Tipo de cuero cabelludo		Tipo de cabello		Fototipo*		Cuero cabelludo sensible	
1.	61	F		G		G		II		Sí	
2.	23	F		G		G		II		Sí	
3.	24	F		G		G		II		Sí	
4.	24	M		G		G		III		No	
5.	24	M		G		G		II		Sí	
6.	24	F		G		G		II		Sí	
7.	44	F		G		G		II		Sí	
8.	44	F		G		G		II		Sí	
9.	28	F		G		G		II		Sí	
10.	20	M		G		G		II		Sí	
11.	22	F		G		G		II		Sí	
12.	42	F		G		G		II		No	
13.	25	F		G		G		III		No	
14.	22	F		G		G		II		Sí	
15.	28	M		G		G		III		Sí	
16.	24	M		G		G		III		No	
17.	36	F		G		G		II		Sí	
18.	20	F		G		G		III		Sí	
19.	26	F		G		G		II		Sí	
20.	23	M		G		G		II		Sí	
21.	22	F		G		G		III		No	
22.	22	M		G		G		II		Sí	
23.	24	F		G		G		II		Sí	
24.	60	F		G		G		II		Sí	
Media	30	F	17	N	0	N	0	I	0	Sí	19
Mediana	24	M	7	D	0	D	0	II	18	No	5

Mínimo	20		G	24	G	24	III	6	
Máximo	61						IV	0	
SEM	2								

Leyenda: M = hombre; F = mujer; N = normal; D = seco; G = graso.

*I, II y III son los tipos de piel I, I y III, respectivamente.

La clasificación de Fitzpatrick (Thomas B. Fitzpatrick, 1975) agrupa a los individuos según la reacción de su piel a la exposición al sol. Fototipo I: piel muy clara, pecas, cabello rubio o rojo. Reacción a la exposición al sol: nunca se broncea, siempre se quema. Fototipo II: piel clara, cabello rubio o castaño claro, aparecen pecas al exponerse al sol, ojos de color claro. Reacción a la exposición al sol: se broncea con dificultad y normalmente se quema. Fototipo III: piel clara, cabello rubio o castaño claro. Reacción a la exposición al sol: a veces se quema, se broncea progresivamente. Fototipo IV: cabello de color oliva, pelo claro u oscuro; ojos marrones. Reacción a la exposición al sol: rara vez se quema, se broncea fácilmente. Fototipo V: piel morena, morena oscura, ojos marrones. Reacción a la exposición al sol: muy raramente se quema, se broncea muy fácilmente. Fototipo VI: piel morena muy oscura, ojos marrones. Reacción a la exposición al sol: nunca se quema, se broncea muy fácilmente.

Los sujetos acordaron no usar productos para el cabello o el cuero cabelludo distintos de los dados para el estudio (incluyendo tinte, decoloración, ondulado y alisado permanente, etc.), mantener una longitud de cabello >2 cm durante el estudio, no llegar con el cabello mojado en las visitas del estudio y no practicar regularmente deportes acuáticos y/o sesiones regulares de sauna.

D-15 (± 2 días): Los sujetos llegaron al laboratorio sin aplicar ningún producto en la cara desde la noche anterior (excepto el lavado de la mañana) y sin usar sus lentes de contacto. Leyeron, firmaron y fecharon la hoja de información (instrucciones sobre el uso del producto y las restricciones relacionadas con el estudio) y los formularios de consentimiento informado por duplicado. Estos documentos también se firmaron y se fecharon por la persona que realizó la discusión del consentimiento informado. La verificación de los criterios de inclusión y exclusión bajo control dermatológico: Examen clínico para evaluar el estado inicial del cuero cabelludo. A los sujetos también se les preguntó acerca de sus sensaciones desagradables habituales. El champú neutro preparado como se describe en el **Ejemplo 2** se distribuyó a los sujetos para su uso tres veces a la semana durante dos semanas. Los sujetos recibieron un registro diario para anotar sus posibles sensaciones de intolerancia u otros.

D0: Los sujetos volvieron al laboratorio sin haber aplicado ningún producto sobre el cabello y el cuero cabelludo desde menos de 72 horas antes de la visita. Examen clínico realizado por el dermatólogo para evaluar el estado inicial del cuero cabelludo. Puntuación de la caspa, eritema e irritación por parte del técnico. Definición de una zona para la medición de la tasa de sebo con Sebumeter™ en una línea capilar. Medición de la tasa de sebo con Sebumeter™ en la zona previamente definida. Macrofotografías del área de separación (solamente 10 sujetos). Fotografías Visia (10 sujetos). Lavado del cabello con el champú activo como se describe en el **Ejemplo 2** por el técnico a cargo del estudio. Los sujetos recibieron un nuevo registro diario para anotar sus posibles sensaciones de intolerancia u otros.

D3: Los sujetos volvieron al laboratorio sin haber aplicado ningún producto sobre el cabello y el cuero cabelludo desde la visita anterior. Trajeron su registro diario para verificar el cumplimiento. Nuevo examen clínico realizado por el dermatólogo para evaluar el estado del cuero cabelludo. Nueva puntuación de la caspa, eritema e irritación por parte del técnico. Nuevas macrofotografías del área de separación (10 sujetos). Nuevas fotografías Visia (10 sujetos). El champú activo preparado como se describe en el **Ejemplo 2** se distribuyó a los sujetos para su uso tres veces a la semana durante 28 días.

D9 (3 días después del tercer lavado con champú con el producto de champú activo): Los sujetos volvieron al laboratorio sin haber aplicado ningún producto sobre el cabello y el cuero cabelludo desde menos de 72 horas antes de la visita. Trajeron su producto de champú activo y el registro diario de nuevo para verificar el cumplimiento. Nuevo examen clínico realizado por el dermatólogo para evaluar el estado del cuero cabelludo. Nueva puntuación de la caspa, eritema e irritación por parte del técnico.

La **Figura 1** presenta esquemáticamente una línea temporal del protocolo clínico seguido para ensayar la actividad anticasca del extracto de *E. angustifolium* en el contexto de un champú activo preparado como se describe en el **Ejemplo 2**. La línea temporal se describe con más detalle a continuación.

D15 (3 días después del quinto lavado con champú con el producto de champú activo): Los sujetos volvieron al laboratorio sin haber aplicado ningún producto sobre el cabello y el cuero cabelludo desde menos de 72 horas

antes de la visita. Trajeron su producto de champú activo y el registro diario de nuevo para verificar el cumplimiento. Nuevo examen clínico realizado por el dermatólogo para evaluar el estado del cuero cabelludo. Nueva puntuación de la caspa, eritema e irritación por parte del técnico. Nueva medición de la tasa de sebo con Sebumeter® en la zona previamente definida.

5

D30 (3 días después del décimo lavado con champú con el champú activo): Los sujetos volvieron al laboratorio sin haber aplicado ningún producto sobre el cabello y el cuero cabelludo desde menos de 72 horas antes de la visita. Trajeron su producto de champú activo y el registro diario de nuevo para verificar el cumplimiento. Nuevo examen clínico realizado por el dermatólogo para evaluar el estado final del cuero cabelludo. Nueva puntuación de la caspa, eritema e irritación por parte del técnico. Medición de la tasa de sebo con Sebumeter® en la zona previamente definida. Nuevas macrofotografías del área de separación (10 sujetos). Nuevas fotografías Visia (10 sujetos). Los sujetos completaron el cuestionario de evaluación subjetiva.

Período de ensayo: El estudio comenzó el 4 de abril de 2013 y finalizó el 5 de junio de 2013.

15

Puntuación clínica de la caspa, eritema e irritación: La evaluación clínica se realizó en la cabeza dividida en cuatro partes. La puntuación de cada criterio (caspa no adherente y adherente, eritema, irritación) estudiado fue la media de las puntuaciones de cuatro partes (dos decimales). Tres días después del champú, un técnico evaluó, bajo control médico, la caspa no adherente, la caspa adherente, el eritema y la irritación usando una puntuación de 0 a 5.

20

Tabla II: Naturaleza de las puntuaciones de caspa, eritema e irritación

Puntuación	Caspa no adherente	Caspa adherente	Eritema	Irritaciones
0	sin caspa	sin escamas	nada	nada
1	Algunas escamas de caspa dispersas	Algunas escamas dispersas	muy leve	muy leve
2	una pequeña cantidad de caspa	una pequeña cantidad de escamas	leve	leve
3	una cantidad moderada de caspa	una cantidad moderada de escamas	moderada	moderada
4	una gran cantidad de caspa	una gran cantidad de escamas	importante	importante
5	mucha cantidad de caspa	mucha cantidad de escamas sobre todo el cuero cabelludo	grave	grave
La "puntuación de caspa total" clínica fue la suma de la caspa adherente y no adherente. La "puntuación de eritema total" clínica fue la suma de eritema e irritación.				

Efecto seborregulador: La cantidad de sebo excretado en la superficie de la piel del cuero cabelludo se evaluó cuantitativamente con un COURAGE y KHAZAKA SM 810 PC Sebumeter™ en las visitas D0, D15 y D30.

25

El Sebumeter™ se basa en fotometría. Una cinta sintética, que se vuelve transparente cuando está en contacto con los lípidos absorbidos, se aplica a la zona de medición durante exactamente 30 segundos. Su transparencia aumenta proporcionalmente con la cantidad de sebo de la película hidrolipídica con la que está en contacto.

Se usa un registro de reflectometría para cuantificar el aumento de la luz transmitida y para determinar la masa total de los lípidos excretados por la unidad de superficie (en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$).

Tolerancia cutánea: Antes y después de los usos del producto, el dermatólogo examinó el cuero cabelludo de los sujetos para evaluar cada uno de los siguientes parámetros: eritema, sequedad, descamación, seborrea, caspa, otros con una puntuación de nada a grave (nada, muy leve, leve, moderado y grave), y al sujeto también se le pidió que anotara entre nada y grave, su sensación en D0: picazón, escozor, sensación de calor o ardor, otros.

En D30, la tolerancia cutánea global del producto se evaluó mediante un examen clínico realizado por el dermatólogo. Esta evaluación tuvo en cuenta los signos relevantes informados por el sujeto (signos funcionales y físicos = T1), así como los observados durante el examen (signos clínicos = T2). La confrontación de estos signos se usó para concluir la tolerancia final del producto estudiado. La tolerancia cutánea global del producto estudiado se definió como el resultado menos favorable (T1 o T2). La relevancia de un signo se definió como 1) que duró más de 5 minutos, 2) posible o cierta imputabilidad con el producto (en oposición a imputabilidad nula o dudosa 0, y 3) durante un período superior o igual a un cuarto de la longitud del estudio.

45

Macrofotografías: En D0, D3 y D30 y en caso de recaídas, se tomaron macrofotografías de una zona seleccionada. La cámara digital utilizada era una cámara del tipo Nikon D90. Las fotografías fueron tomadas en luz estandarizada e indirecta. La apertura, la velocidad y la distancia de la cámara se estandarizaron. El control del reposicionamiento se realizará directamente en la pantalla de procesamiento de datos gracias a la visualización simultánea de las imágenes en diversos momentos de adquisición.

El dispositivo utilizado fueron los sistemas de imágenes VISIA™ de CANFIELD™. VISIA permite tomar imágenes con múltiples modos de iluminación y una captura de imágenes muy rápida. El control del reposicionamiento tiene lugar directamente en la pantalla de procesamiento de datos usando una visualización superpuesta de las imágenes en cada momento de adquisición. Una serie de fotografías tomadas con imágenes y análisis multiespectral (luz blanca, luz UV o luz polarizada, paralela o cruzada) permitieron capturar información visual. Para visualizar la caspa, se usó luz UV.

Evaluación subjetiva: Un cuestionario de evaluación subjetiva preparado por el centro de ensayos clínicos y enviado al patrocinador se rellenó por los sujetos en D30 para evaluar subjetivamente las propiedades del producto estudiado, la eficacia, la tolerancia y su uso futuro.

Método estadístico:

Software estadístico: Microsoft® Excel 2010 y SAS™ 9.2.

A) Para cada uno de los siguientes criterios evaluados: puntuación de caspa adherente, puntuación de caspa no adherente; y medición del sebo, se aplicaron las siguientes estadísticas descriptivas y estadísticas comparativas.

Las **estadísticas descriptivas** para la variable cuantitativa se calcularon (número de valores, número de valores omitidos, media, desviación estándar, mediana, valor mínimo y valor máximo) en cada punto temporal. La evolución promedio (± 2 error estándar de la media) se representó en el tiempo.

Análisis comparativo: Un modelo ANOVA mixto (*proc GLM*) para mediciones repetidas (tiempo como factor fijo y sujeto como factor aleatorio) se ajustó a los datos brutos. A partir de este modelo, la comparación entre cada (D_i) y el valor de referencia (D_0) se realizó usando una prueba de Dunnett. La distribución residual se analizó usando la prueba de Shapiro-Wilk y las representaciones gráficas.

B) Para cada uno de los siguientes criterios evaluados: puntuación de irritación; y puntuación de eritema, se aplicaron las siguientes estadísticas descriptivas y estadísticas comparativas.

Estadísticas descriptivas: Se calculó la distribución de la puntuación promedio para cada punto de tiempo (en frecuencia y porcentaje).

Análisis comparativo: Se realizó un modelo lineal para datos categóricos (*proc GENMOD*) con factor de tiempo. A partir de este modelo, los contrastes se construyeron para comparar cada (D_i) con el valor inicial (D_0).

Para los análisis A) y B), la probabilidad de error de tipo I se estableció en $\alpha = 0,05$ en un enfoque de dos colas, cuando se aplicable.

EJEMPLO 6:

Efecto del extracto de *Epilobium angustifolium* sobre la caspa no adherente

Tres días después del último champú, el técnico evaluó, bajo control médico, la caspa no adherente usando una puntuación de 0 a 5 según la **Tabla II**. El efecto anticaspa no adherente del champú activo preparado como se describe en el **Ejemplo 2** se evaluó en los días D0, D3, D9, D15 y D30.

Los resultados se presentan en las **Tablas III y IV**, así como en la **Figura 2**.

Tabla III: Estadísticas descriptivas para la puntuación de caspa no adherente para cada punto de tiempo (D_i).

Tiempo (D_i)	N	Omisión de N	Media	Mediana	Desv. Est.	Error est.	Mínimo	Máximo
0	24	0	2,6	2,5	0,8	0,2	1,5	4,5
3	24	0	2,5	2,5	1,0	0,2	1,0	4,5
9	24	0	1,8	2,0	0,9	0,2	0,3	4,0
15	24	0	1,6	1,5	0,9	0,2	0,0	3,0

Tiempo (Di)	N	Omisión de N	Media	Mediana	Desv. Est.	Error est.	Mínimo	Máximo
30	24	0	1,2	1,0	0,6	0,1	0,0	2,0

Tabla IV: Resumen del cambio desde el inicio para cada punto de tiempo (Di-D0), para la puntuación de caspa no adherente

Comparación (Di frente a D0)	Estimación	SEM	p bruto	p ajustado ⁽¹⁾
3 frente a 0	-0,13	0,11	0,2769	0,6457
9 frente a 0	-0,79	0,11	<0,0001	<0,0001
15 frente a 0	-1,04	0,11	<0,0001	<0,0001
30 frente a 0	-1,41	0,11	<0,0001	<0,0001

⁽¹⁾ contrastes del modelo ANOVA para mediciones repetidas ajustadas con la prueba de Dunnett

- 5 Los datos mostraron una disminución significativa en la puntuación de caspa no adherente en D9 ($p < 0,0001$), en D15 ($p < 0,0001$) y en D30 ($p < 0,0001$).

EJEMPLO 7:

10 Efecto del extracto de *Epilobium angustifolium* sobre la caspa adherente

Tres días después del último champú, el técnico evaluó, bajo control médico, la caspa adherente usando una puntuación de 0 a 5 según la **Tabla II**. El efecto antianticaspa adherente del champú activo preparado como se describe en el **Ejemplo 2** se evaluó en los días D0, D3, D9, D15 y D30.

15

Los resultados se presentan en las **Tablas V y VI**, así como en las **Figuras 3 y 4**.

Tabla V: Estadísticas descriptivas para la puntuación de caspa adherente para cada punto de tiempo (Di).

Tiempo (Di)	N	Omisión de N	Media	Mediana	Desv. Est.	Error est.	Mínimo	Máximo
0	24	0	2,9	3,0	0,9	0,2	2,0	4,5
3	24	0	2,5	2,5	1,1	0,2	1,0	4,5
9	24	0	2,2	2,0	0,9	0,2	0,5	4,0
15	24	0	1,9	2,0	0,9	0,2	0,5	3,5
30	24	0	1,4	1,0	0,8	0,2	0,0	3,0

20 Tabla VI: Resumen del cambio desde el valor inicial para cada punto de tiempo (Di-D0), para la puntuación de caspa adherente.

Comparación (Di frente a D0)	Estimación	SEM	p bruto	p ajustado ⁽¹⁾
3 frente a 0	-0,42	0,11	0,0002	0,0008
9 frente a 0	-0,73	0,11	<0,0001	<0,0001
15 frente a 0	-0,98	0,11	<0,0001	<0,0001
30 frente a 0	-1,51	0,11	<0,0001	<0,0001

⁽¹⁾ contrastes del modelo ANOVA para mediciones repetidas ajustadas con la prueba de Dunnett

Los datos mostraron una disminución significativa desde el valor inicial (D0) en la puntuación adherente en D3 ($p = 0,0008$), D9 ($p < 0,0001$), D15 ($p < 0,0001$) y D30 (con $p < 0,0001$).

25

Las macrofotografías representativas de los cueros cabelludos de 3 sujetos tomados en D0, D3 y D30 se muestran en la Figura 4. Muestran una disminución de la caspa adherente en el tiempo.

EJEMPLO 8:

30

Efecto del extracto de *Epilobium angustifolium* en la secreción de sebo

Se midió la cantidad de sebo secretado en la superficie de la piel con un COURAGE y KHAZAKA SM 810 Sebumeter™ en las visitas D0, D15 y D30.

35

Este método fotométrico usa una cinta sintética aplicada a la medición, que se vuelve transparente cuando está en contacto con los lípidos absorbidos. Su transparencia aumenta proporcionalmente con la cantidad de sebo.

La masa total de los lípidos excretados por la unidad de superficie (en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) se calcula por reflectometría.

Tabla VII: Estadísticas para la medición de sebo para cada punto de tiempo (D_i).

Tiempo (D_i)	N	Omisión de N	Media	Mediana	Desv. Est.	Error est.	Mínimo	Máximo
0	24	0	155,2	149,0	36,8	7,5	102,0	260,0
15	24	0	65,1	69,5	22,3	4,6	17,0	102,0
30	23	1	51,5	51,0	20,6	4,3	19,0	100,0

5 Los resultados presentados en la **Tabla III** se muestran también en la **Figura 5**.

Tabla VIII: Resumen del cambio desde el valor inicial para cada punto de tiempo ($t_i - t_0$), para la medición del sebo.

Comparación	Estimación	SEM	p bruto	p ajustado ⁽¹⁾
D15 frente a D0	2,85	0,27	<0,0001	<0,0001
D30 frente a D0	4,06	0,30	<0,0001	<0,0001

⁽¹⁾ contrastes del modelo ANOVA para mediciones repetidas ajustadas con la prueba de Dunnett

Los datos mostraron una disminución significativa en el valor del sebo desde el valor inicial (D0) en D15 ($p < 0,0001$) y D30 ($p < 0,0001$).

EJEMPLO 9:

Efecto del extracto de *Epilobium angustifolium* sobre la irritación preexistente

15

Tabla IX: Estadísticas descriptivas de la puntuación de irritación para cada punto de tiempo (D_i).

Tiempo (D_i)	N	Omisión de N	Media	Mediana	Desv. Est.	Error est.	Mínimo	Máximo
0	24	0	0,1	0,0	0,5	0,1	0,0	2,0
3	24	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
9	24	0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,5
15	24	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
30	24	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Como se puede ver a partir de los datos en la **Tabla IX**, solo 3 sujetos (12,5 %) tenían signos de irritación (puntuaciones entre 0,5 y 2) al inicio (D0). De D3 a D30, no se observaron signos de irritación, excepto en D9, donde un sujeto tenía una puntuación de 0,5.

20

Tabla X: Distribución (en frecuencia y porcentaje) de la puntuación promedio de irritación en el tiempo.

Puntuación		TIEMPO (D_i)				
		0	3	9	15	30
0	N	21	24	23	24	24
	%	87	100	95,83	100	100
0,5	N	1	0	1	0	0
	%	4,17	0	4,17	0	0
1	N	1	0	0	0	0
	%	4,17	0 %	0	0	0
2	N	1	0	0	0	0
	%	4,17	0	0	0	0
Valor de p° (comparación con D0)		<0,0001	0,1946	<0,0001	<0,0001	<0,0001

$^\circ$: valor de p del modelo GEE

En comparación con el valor inicial (D0), se observó una disminución significativa de la irritación en D3 ($p < 0,0001$), D15 ($p < 0,0001$) y D30 ($p < 0,0001$). Debido a que solo algunos sujetos tenían irritación, se realizó un análisis de datos categoriales que se muestra en la **Tabla X**.

25

EJEMPLO 10:

30 **Efecto del extracto de *Epilobium angustifolium* sobre el eritema preexistente**

Tabla XI: Estadísticas descriptivas de la puntuación de eritema para cada punto de tiempo (Di).

Tiempo (Di)	N	Omisión de N	Media	Mediana	Desv. Est.	Error est.	Mínimo	Máximo
0	24	0	0,4	0,0	0,7	0,2	0,0	2,0
3	24	0	0,3	0,0	0,6	0,1	0,0	2,0
9	24	0	0,2	0,0	0,4	0,1	0,0	1,5
15	24	0	0,2	0,0	0,5	0,1	0,0	1,5
30	24	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Tabla XII: Distribución (en frecuencia y porcentaje) de la puntuación promedio para eritema (± 2 SEM) en el tiempo.

Puntuación		TIEMPO (Di)				
		0	3	9	15	30
0	N	18	18	20	20	24
	%	75,00	75,00	83,33	83,33	100,00
0,5	N	0	1	2	1	0
	%	0 %	4,17	8,33	4,17	0
1	N	2	3	0	1	0
	%	8,33	12,50	0	4,17	0
1,5	N	1	1	2	2	0
	%	4,17	4,17	8,33	8,33	0
2	N	3	1	0	0	0
	%	12,50	4,17	0	0	0
Valor de p° (comparación con D0)		0,9903	0,3429	0,2467	<0,0001	
°: valor de p del modelo GEE						

5 Los datos de puntuación de eritema mostraron que la proporción de sujetos con un signo de eritema fue del 25 % al inicio (D0) y D3 (puntuaciones de 0,5 a 2). En D9 y D15, esta proporción fue menor con el 16,7 % de los sujetos con eritema.

Además, los datos revelaron que no se observaron signos de eritema en D30, en comparación con el valor inicial (D0) esta disminución fue significativa con $p < 0,0001$. Debido a que solo algunos sujetos tenían eritema, se realizó un análisis de datos categoriales que se muestra en la **Tabla XII**.

EJEMPLO 11:

15 Efecto del extracto de *Epilobium angustifolium* sobre el eritema inducido (irritación y enrojecimiento)

Se realizar experimentos adicionales para determinar el efecto del extracto de *Epilobium angustifolium* sobre el eritema inducido (enrojecimiento e irritación).

20 Se usaron ocho voluntarios (mujeres, de 18 a 60 años) con tipos de piel I-III. Se aplicó ácido láctico (15 %) en el cuero cabelludo durante 4 horas para inducir enrojecimiento e irritación.

Se aplicó a continuación una dilución al 3 % (v/v) de la solución de *E. angustifolium* preparada como se describe en el **Ejemplo 1**, o una loción de hidrocortisona al 1 %, y se midió el eritema después de 30 minutos, 1 hora y 24 horas (determinación del valor a^* usando cromimetría).

Los resultados en la **Figura 6** muestran que una dilución al 3 % (v/v) de la solución preparada como se describe en el Ejemplo 1 reduce el eritema en un 24 % después de 30 minutos, en un 23 % después de 1 hora, y en un 27 % después de 24 horas.

30

EJEMPLO 12:

Tolerancia cutánea del extracto de *Epilobium angustifolium*

35 La tolerancia cutánea del champú activo preparado como se describe en el **Ejemplo 2** se evaluó mediante un examen clínico realizado por un dermatólogo antes y después de la aplicación tres veces por semana sobre el cabello y el cuero cabelludo durante 30 días. La tolerancia cutánea se determinó en los días D0, D3, D9, D15 y D30.

Después de 3 días de uso (D3), dos sujetos notificaron picazón en las áreas parietal y temporal justo después de la aplicación y cuatro sujetos notificaron caspa o eritema, pero estos signos fueron juzgados como no relevantes por el dermatólogo.

- 5 Después de 9 días de uso (D9), tres sujetos notificaron caspa, pero estos signos fueron juzgados como no relevantes por el dermatólogo. Después de 15 días de uso, un sujeto notificó caspa y eritema, pero el dermatólogo consideró que estos signos no eran relevantes. Después de 30 días de uso, ningún sujeto notificó ningún signo físico, funcional o clínico. El champú activo se toleró muy bien.

10 **EJEMPLO 13:**

Cuestionario de evaluación subjetiva

- Se realizó una evaluación subjetiva por cada sujeto (n = 24) para evaluar el efecto del champú activo preparado como se describe en el **Ejemplo 2** antes y después de la aplicación tres veces por semana en el cabello y el cuero cabelludo durante 30 días. Los sujetos fueron interrogados en los días D0 y D30. Después de D30, los sujetos respondieron a un cuestionario para notificar, por ejemplo: **(A)** el estado de su cuero cabelludo antes del tratamiento con el champú activo ("Antes del tratamiento") con respecto a la picazón, caspa y cabello graso; **(B)** cuando la mejora y modificación del aspecto del cabello se observó por primera vez durante el período de tratamiento de 30 días con el champú activo (es decir, comienzo, mitad y/o final del tratamiento) con respecto al mejoramiento del cuero cabelludo, modificación del aspecto del cabello en comparación a lo habitual, si notan un efecto en la picazón, en la caspa y en el reengrase del cabello, si el champú activo tenía un efecto calmante, si el champú activo tenía un efecto al nivel de reengrase del cabello, y su satisfacción general con los efectos del champú activo; y **(C)** si voluntariamente continuarían usando el champú activo ("Uso futuro") después del ensayo clínico. Los resultados del cuestionario se muestran en la **Tabla XIII**.

Tabla XIII: Síntesis de la evaluación subjetiva (n = 24, 1 sujeto representa el 4,2 %)

(A) ANTES DEL TRATAMIENTO	
Picazón	12 %
"mucho"	4 %
"suficiente"	8 %
Caspa:	25 %
"mucho"	8 %
"suficiente"	17 %
Pelo oleoso:	25 %
"mucho"	8 %
"suficiente"	17 %
(B) DESPUÉS DE 30 DÍAS DE USO	
EFICACIA	
Mejora del estado del cuero cabelludo:	91 %
Sí, al comienzo del tratamiento	33 %
Sí, a la mitad del tratamiento	54 %
Sí, al final del tratamiento	4 %
Modificación del aspecto del cabello en comparación con lo habitual:	100 %
Sí, al comienzo del tratamiento	21 %
Sí, a la mitad del tratamiento	46 %
Sí, al final del tratamiento	33 %
Picazón	63 %
Mucho menos	25 %
Menos	38 %
Caspa	83 %
Mucho menos	29 %
Menos	54 %
Reengrase del cabello	66 %
Mucho menos	33 %
Menos	33 %
Un efecto calmante positivo	46 %
Un efecto a nivel de reengrase del cabello	75 %

Satisfecho con el efecto de este producto	75 %
Muy satisfecho	25 %
Satisfecho	50 %
(C) USO FUTURO DEL PRODUCTO	
Me gustaría seguir utilizando el producto	75 %

En general, los resultados del cuestionario de evaluación subjetiva mostraron que los sujetos apreciaban el champú activo por su eficacia (mejora el estado del cuero cabelludo, reduce la caspa y el reengrase del cabello).

BIBLIOGRAFÍA

- 5 1. ICH TOPIC E6/ Note for guidance on Good Clinical Practice- CPMP / ICH / 135 / 95, January 1997.
2. WORLD MEDICAL ASSOCIATION DECLARATION OF HELSINKI/ Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects- Helsinki Declaration (1964) and its successive updates.
- 10 3. BROECKS W., BLONDEEL A.,DOOMS-GOOSSENS A., ACHTEN G./ Cosmetic intolerance- Contact Dermatitis, 1987,16,189.
4. ROBERT P.,COLL./ Dermopharmacologie clinique- EDISEM MALOINE, 1985.
5. Smith KR, Thiboutot DM. Thematic review series: skin lipids. Sebaceous gland lipids: friend or foe? J Lipid Res. 2008 Feb;49(2):271-81. Epub 2007 Nov 1.
- 15 6. Ro BI, Dawson TL. The role of sebaceous gland activity and scalp microfloral metabolism in the etiology of seborrheic dermatitis and dandruff. J Invest Dermatol Symp Proc. 2005 Dec;10(3):194-7.
7. LENTNER A., WIENERT V. A new method for assessing the gloss of human skin. Skin Pharmacology. - 1996; 9,3: 184-189.
8. SOKAL R. R., ROHLF F. J. / Biometry: the principles and practice of statistics in biological research - 3rd edn. W.H. Freeman and company, New York, 1995.
- 20

REIVINDICACIONES

1. Una composición para su uso en la prevención o reducción de la caspa que comprende una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un extracto de *Epilobium angustifolium*.
2. Una composición para su uso en la inhibición del crecimiento de *Malassezia* que comprende una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un extracto de *Epilobium angustifolium*.
3. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 2, en la que dicho hongo *Malassezia* es: *Malassezia furfur*, *Malassezia globosa*, *Malassezia restricta*, o cualquier combinación de los mismos.
4. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que dicho extracto de *Epilobium angustifolium* es un extracto acuoso.
5. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que la cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de extracto de *Epilobium angustifolium* es al menos un 0,25 % (p/v) de peso seco de extracto de *Epilobium angustifolium*.
6. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que comprende adicionalmente (a) un vehículo fisiológicamente aceptable; (b) un aceite emulsionado; (c) un conservante, preferiblemente metabisulfito sódico y/o fenoxietanol; o (d) cualquier combinación de (a) a (c).
7. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, formulada como un champú, una pulverización, una crema, una loción, una mascarilla, o un gel.
8. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, que comprende además al menos otro agente útil para tratar o prevenir una afección o trastorno del cuero cabelludo o al menos uno de sus síntomas, preferiblemente en la que al menos otro agente útil para tratar o prevenir una afección o trastorno del cuero cabelludo o al menos uno de sus síntomas es: un agente anticaspa, un agente antiirritante, un agente antioxidante, un agente antisebo, un agente antifúngico, un agente antiinflamatorio, o un agente antilipasa.
9. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, para su uso adicional en la reducción o prevención de al menos uno de: reengrasado del cabello; irritación del cuero cabelludo; eritema del cuero cabelludo; y picazón en el cuero cabelludo.
10. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 9, en la que dicha composición se aplica al menos tres veces sobre el cuero cabelludo del sujeto.
11. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 9 o 10, en la que se aplica dicha composición;
 - (a) cada 3 días durante al menos 9 días;
 - (b) cada 3 días durante al menos 12 días;
 - (c) cada 3 días durante al menos 15 días;
 - (d) cada 3 días durante al menos 18 días;
 - (e) cada 3 días durante al menos 21 días;
 - (f) cada 3 días durante al menos 24 días;
 - (g) cada 3 días durante al menos 27 días; o
 - (h) cada 3 días durante al menos 30 días.
12. Un kit para prevenir o reducir la caspa que comprende:
 - (A) la composición como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8; y
 - (B) al menos uno de:
 - (i) instrucciones para usar (A) para reducir o prevenir la caspa; y
 - (ii) al menos otro agente útil para tratar o prevenir una afección o trastorno del cuero cabelludo o al menos uno de sus síntomas.
13. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11 o el kit de la

reivindicación 12, en el que dicha caspa es una caspa adherente, una caspa no adherente, o una combinación de las mismas.

14. El kit para su uso de la reivindicación 12, o composición para su uso de la reivindicación 13, en los que
5 el al menos otro agente útil para tratar o prevenir una afección o trastorno del cuero cabelludo o al menos uno de sus síntomas es: un agente anticaspa, un agente antiirritante, un agente antioxidante, un agente antisebo, un agente antifúngico, un agente antiinflamatorio, o un agente antilipasa.