(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 719 958**

(51) Int. Cl.:

A61K 36/00 (2006.01)
A61K 36/47 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.10.2014** **PCT/IN2014/000642**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **16.04.2015** **WO15052728**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.10.2014** **E 14851616 (4)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.02.2019** **EP 3068412**

(54) Título: **Composición medicinal de extracto de semilla de Emblica officinalis y método para prepararla**

(30) Prioridad:

08.10.2013 IN 4565CH2013

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.07.2019

(73) Titular/es:

ANTONY, BENNY (100.0%)
Parecattil House Kidangoor P.O
Angamaly, Kerala State 683572, IN

(72) Inventor/es:

ANTONY, BENNY

(74) Agente/Representante:

RIZZO , Sergio

ES 2 719 958 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

Composición medicinal de extracto de semilla de *Emblica officinalis* y método para prepararla

CAMPO

[0001] La exposición se refiere a una composición medicinal del extracto de semillas de *Emblica officinalis,* un método de preparación de una composición que consiste en extracto de semilla de *Emblica officinalis,* más en concreto que tiene aplicaciones nutracéuticas o farmacéuticas para reducir el colesterol total, reducir los triglicéridos, reducir el nivel de glucosa en sangre, mejorar el colesterol HDL, aumentar la proporción de colesterol HDL en relación con el colesterol total, disminuir los niveles de colesterol LDL, reducir el nivel de CRP, disminuir el engrosamiento de la íntima media, reducir la caída del cabello en mamíferos, en concreto en seres humanos. La composición es eficaz incluso a una dosis menor para reducir el colesterol total, reducir los triglicéridos, reducir el nivel de glucosa en sangre, mejorar los niveles de colesterol HDL, aumentar la proporción de colesterol HDL en relación con el colesterol total, reducir los niveles de colesterol LDL, reducir el nivel de CRP, disminuir el engrosamiento de la íntima media, y reducir la caída del cabello.

ANTECEDENTES

[0002] El Amla (o Amlaka, Amlaki, u otras variantes) es una de las hierbas ayurvédicas utilizadas más frecuentemente; es el fruto del *Phyllanthus emblica*, llamado también *Emblica officinalis.* El fruto es similar en apariencia a la grosella espinosa común (Ribes spp., un tipo de grosella), que botánicamente no tiene relación alguna con el amla. No obstante, debido a la similitud del aspecto de los racimos de frutos, al amla se le suele llamar "grosellero de la India". La planta, de la familia *Euphorbiaceae*, crece hasta convertirse en un árbol de tamaño medio que crece en las llanuras y regiones submontañosas por todo el subcontinente indio, desde 200 hasta 2 000 metros sobre el nivel del mar. El grosellero de la India es una planta milagrosa y un precioso regalo de la naturaleza para el hombre. Contribuye a la salud y a la longevidad.

[0003] El *Emblica officinalis* (EO) goza de una posición sagrada en el Ayurveda; un sistema de medicina nativo de la India. Según la antigua mitología india, es el primer árbol que se creó en el universo. El fruto del *Emblica officinalis* es uno de los constituyentes clave de la famosa preparación ayurvédica, Chyavanaprash, utilizada en la India durante miles de años como un tónico revitalizador y rejuvenecedor. Según el Ayurveda, el amla equilibra los tres doshas. Aunque el amla es inusual en que contiene cinco de los seis sabores reconocidos por el Ayurveda, es más importante reconocer los efectos del "virya", o potencia, y "vipaka", o efecto posdigestivo. Los frutos del EO se utilizan frecuentemente en el Ayurveda y se cree que aumentan las defensas contra las enfermedades. I

[0004] La cardiopatía isquémica (CHD, por sus siglas en inglés) sigue siendo la principal causa de muerte prematura en los países más desarrollados y en desarrollo. Un bajo nivel de colesterol HDL es el segundo factor de riesgo más importante para la CHD, tal como se ha demostrado en numerosos estudios clínicos y epidemiológicos (Gorden, D. & Rifkind, H. M., *N. Engl. J. Med.*, 1989, 321:1311-1315; Brewer, Jr., H. B., *New Engl. J. Med*, 2004, 350:1491-94) y el HDL se ha convertido, durante la pasada década, en un nuevo objetivo potencial para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares. El papel clave del HDL como un portador del exceso de colesterol celular en la ruta del transporte inverso del colesterol se cree que proporciona protección contra la aterosclerosis. En el transporte inverso del colesterol, los tejidos periféricos, por ejemplo, los macrófagos de la pared vascular, eliminan su exceso de colesterol mediante el transportador dependiente de ATP 1 (ABCA 1) hasta la apolipoproteína A-I lipidificada de manera deficiente, formando pre-beta-HDL Después, la lecitín-colesterol aciltransferasa esterifica el colesterol libre en ésteres de colesterilo, convirtiendo el pre-β-HDL en α-HDL maduro esférico.

[0005] El colesterol HDL se transporta al hígado por dos rutas: 1) se suministra directamente al hígado mediante la interacción con el receptor *scavenger*, clase B, tipo I (SR-BI); 2) los ésteres de colesterilo en el HDL se transfieren mediante la proteína transferasa de éster de colesterol (CETP) a lipoproteinas de muy baja densidad (VLDL, por sus siglas en inglés) y lipoproteínas de baja densidad (LDL, por sus siglas en inglés) y luego se devuelven al hígado mediante el receptor LDL. El colesterol HDL que es absorbido por el hígado se excreta después en forma de ácidos biliares y colesterol, completando el proceso del transporte inverso del colesterol (Brewer, H. B. *Jr., Arterioscl. Thromb. Vasc. Biol.*, 2004, 24:387-91). Se cree que el HDL tiene la habilidad de retirar el colesterol de los macrófagos, previniendo por tanto la formación de células espumosas.

[0006] Un segundo papel beneficioso del HDL en la aterosclerosis está en proteger ell LDL de la oxidación (Navab, M. et al, *Circulation*, 2002, 105:290-92). A diferencia del LDL normal, el LDL oxidado es absorbido fácilmente por el receptor *scavenger* de macrófagos SR-A o CD36 dando como resultado la formación de células espumosas. Las células espumosas son un componente principal de las lesiones ateroscleróticas tempranas. Además, el HDL puede ralentizar el avance de lesiones al reducir de manera selectiva la producción de moléculas de adhesión a la célula endotelial que facilitan la absorción de células en la pared vascular (Barter, P. *J., et al, Curr. Opin. Lipid*, 2002, 13:285-88). El HDL también puede prolongar la vida media de la prostaciclina y conservar su efecto vasodilatador (Mackness, M. I. et al, *Atherosclerosis*, 1993, 104:129-35).

[0007] Varias pruebas respaldan el concepto de que aumentar el nivel de HDL puede proporcionar protección contra el desarrollo de aterosclerosis. Estudios epidemiológicos han mostrado una relación inversa entre los niveles de colesterol HDL (HDL-C) y el riesgo de enfermedades cardiovasculares. Aumentar el nivel de colesterol HDL en 1 mg puede reducir el riesgo de enfermedad cardiovascular de un 2 a un 3 por ciento. Sobreexpresar el gen apo-A-I en conejos y ratones transgénicos y perfundir complejos que consisten en apo-A-I y fosfolípidos en ratones hiperlipidémicos aumentan los niveles de colesterol HDL y disminuyen el desarrollo de aterosclerosis (Brewer, H B, Jr., loc. cit). En humanos, perfundir cualquiera de estos complejos o pro-apo-A-I da como resultado a corto plazo un aumento en el colesterol HDL, el colesterol biliar y una pérdida de colesterol fecal, reforzando el concepto de que elevar el nivel de colesterol HDL disminuye el riesgo de enfermedad cardiovascular.

[0008] Más del 40 por ciento de los pacientes con infarto de miocardio tienen el colesterol HDL bajo como un factor de riesgo cardíaco. (Genest, J. J., et al, Am. *J. Cardiol.*, 1991, 67:1185-89). En el potencial y multicéntrico European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities (ECAT) Angina Pectoris Study (*Estudio sobre la Angina de Pecho de la Acción Concertada Europea para la Trombosis y la Discapacidad*), Bolibar et al. (*Thromb. Haemost.*, 2000, 84:955-61) identificaron un colesterol HDL y un apo-A-I bajos como los factores de riesgo bioquímicos más importantes para problemas coronarios en pacientes con CDH evaluada angiográficamente. Por convención, el valor del umbral de riesgo del colesterol HDL se ha definido como 35 mg/dL (0,9 mmol/L) en hombres y 45 mg/dL (1,15 mmol/L) en mujeres [Expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults. The second report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel II). *Circulation*. 1994; 89:1329-1445)]. Debido a la interacción, la solidez de la asociación entre el colesterol HDL y el riesgo cardiovascular depende de la presencia de factores de riesgo adicionales. Por consiguiente, los valores del umbral son más altos en hombres con diabetes mellitus o hipercolesterolemia o en presencia de múltiples factores de riesgo (von Eckardstein A, and Assmann G. *Curr Opin Lipidol.* 2000; 11:627-637). Un colesterol HDL bajo se ha identificado como la dislipoproteinemia hereditaria más frecuente en pacientes con infarto de miocardio prematuro (Genest, J. J. *Jr., Circulation*. 1992; 85:2025-2033). Por último, en el Helsinki Heart Study (Manninen, V. et al, *Circulation*. 1992; 85:37-45) y en el Ensayo de intervención del colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad del Departamento de Asuntos de Veteranos (*High-Density-Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial of the Department of Veterans Affairs*, VA-HIT) (Rubins, H. B. et al, *N Engl J Med.* 1999; 341:410-418), los aumentos del colesterol HDL en el tratamiento con gemfibrozil se correlacionaban con la prevención de problemas de CHD. Por consiguiente, el colesterol HDL se ha convertido en un componente importante de los algoritmos para evaluar el riesgo cardiovascular global de los pacientes y también en un objetivo de la intervención terapéutica y para definir los objetivos del tratamiento.

[0009] Las estrategias para corregir la dislipidemia en la aterosclerosis normalmente implican dieta y/o fármacos. El umbral del colesterol sérico total y las concentraciones de colesterol LDL (LDL-C) sobre las que debería iniciarse la dieta y el tratamiento con fármacos, así como los objetivos del tratamiento, se han definido por el National Cholesterol Education Program, (*Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol*, NCEP) (*JAMA*, 1993, 269:3015-23). El colesterol LDL sérico diana es <160 mg/dl (4,3 mmol/l) para pacientes sin factores de riesgo o solo un factor de riesgo para la CHD; <130 mg/dl (3,4 mmol/l) para pacientes con 2 o más factores de riesgo y menos de 100 mg/dl (2,6 mmol/l) para aquellos con CDH. Las personas con diabetes también están en la tercera categoría. Un objetivo razonable para la concentración de triglicéridos son 200 mg/dl o menos; valores más altos están asociados con una duplicación del riesgo de enfermedades cardiovasculares cuando la concentración de colesterol sérico supera los 240 mg/dl o cuando la proporción de colesterol LDL/colesterol HDL es superior a 5:1.

[0010] Varios estudios han mostrado que reducir el colesterol LDL sérico por debajo de los niveles diana no da como resultado necesariamente una reducción proporcional del riesgo de CDH [(Grupo del *Scandinavian Simvastatin Survival Study*. "Randomized trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease", *Lancet*, 1994, 344:1383-89; Shepherd, J. et al, *N. Engl. J. Med.*, 1995, 333:1301-7; Sachs, F. M. et al, *N. Engl. J. Med.*, 1998, 315:1001-9; *Circulation*, 1998, 97:1446-52; G0rupo del *West of Scotland Coronary Prevention Study*, *Circulation*, 1998, 97:1440-45; Pederson, T. R., *Circulation*, 1998, 97:1453-60] por la atenuación de la relación entre el colesterol y las enfermedades cardíacas en concentraciones de colesterol sérico más bajas (Grundy, S. M., *Circulation*, 1998, 97:1436-39).

[0011] El tratamiento dietético para la hiperlipidemia es una base necesaria para el tratamiento con fármacos. Dependiendo del grado de hiperlipidemia, las dietas del Paso I y el Paso II pueden introducirse de manera secuencial. La dieta del Paso II contiene un 30 % o menos de calorías de la grasa, menos del 7 % de las calorías de ácidos grasos saturados y menos de 200 mg de colesterol al día. En estudios a largo plazo, la dieta del Paso II disminuyó las concentraciones de colesterol LDL sérico en un 8-15 % (Knopp, R. H., et al, *JAMA*, 1997, 278:1509-15; Walden, C. E., *Arterioscl. Thromb. Vasc. Biol.*, 1997, 17:375-82; Denke, M. A., *Arch. Intern. Med.*, 1995, 156:17-26). Las dietas que reducen más la grasa que la dieta del Paso II dan como resultado una pequeña reducción adicional en el colesterol LDL, aumentan la concentración de triglicéridos (TG) sérica, y bajan el colesterol HDL.

[0012] Lo que debe tener en cuenta, a partir de lo anterior, es que reducir solamente el colesterol LDL no sirve de mucho a la hora de reducir el riesgo de CHD. Además, las dietas cuyo objetivo es reducir el colesterol LDL

pueden reducir el colesterol HDL en una proporción similar (Hunninghake, D. B. et al, *N. Engl. J. Med.,* 1993, 328:1213-19; Schaefer, E. J., et al, *Arterioscl. Thromb. Vasc. Biol.,* 1995, 15:1079-85); Stefanick, M. L., *N. Engl. J Med*, 1998, 339:12-20).

[0013] Se recurre a la terapia con fármacos cuando no se consiguen los efectos deseados solo con las dietas. Las estatinas son los fármacos hipolipemiantes más conocidos. Estos fármacos reducen las concentraciones de colesterol LDL sérico al regular por incremento la actividad de los receptores LDL así como reduciendo la entrada de LDL en la circulación. Las reducciones máximas conseguidas con una estatina oscila entre el 24 % y el 60 %. Las estatinas también reducen los niveles de TG sérica; pero suelen ser insuficientes. Las estatinas son ineficaces a la hora de tratar a pacientes con quilomicronemia. Los efectos adversos de las estatinas incluyen trastornos gastrointestinales, dolores musculares y hepatitis. Problemas más raros incluyen miopatía (dolor muscular con concentraciones de creatina-cinasa séricas de más de 1 000 U por litro), sarpullidos, neuropatía periférica, insomnio, sueños vívidos o malos sueños, y dificultad para dormir o concentrarse (Abramowica, M., *Med Lett.*, 1996, 38:67-70; Vgontzas, A. N. et al, *Clin. Pharmacol. Ther.,* 1991, 50:730-37; Roth, T. et al, *Clin. Cardiol.*, 1992, 15:426-32; Partinen, M. et al, *Am. J. Cardiol.*, 1994, 73:876-80). Otros fármacos hipolipemiantes incluyen resinas de captura de ácidos biliares (por ejemplo, colestiramina y colestipol), ácido nicotínico, y fibratos.

[0014] La terapia con fármacos no se recomienda para mujeres premenopáusicas y hombres de menos 35 años a menos que presenten concentraciones de colesterol LDL sérico de más de 220 mg/dl (5,7 mmol/l), porque su riesgo inmediato de cardiopatías es bajo [Summary of the second report of the National Cholesterol Education Program (NCEP): expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults, *JAMA*, 1993, 269:3015-23].

[0015] Por consiguiente, las dietas por sí solas o en conjunto con fármacos hipolipemiantes no consiguen los objetivos deseados de una reducción segura de los lípidos. No obstante, este objetivo puede conseguirse con la composición de la presente invención que contiene los principios activos de las semillas de *Emblica officinalis.* La *Emblica* se ha utilizado en condiciones de seguridad en la India durante miles de años como un componente de las preparaciones ayurvédicas. La composición a partir de la semilla de *Emblica officinalis* ofrece el doble beneficio de reducir el colesterol LDL dañino e incrementar el colesterol HDL deseable.

[0016] Varios estudios han mostrado que el *Emblica officinalis* es útil para reducir el colesterol total, reducir los triglicéridos, reducir el colesterol LDL y aumentar el colesterol HDL.

[0017] Ritu Mathur et al. muestran el efecto hipolipemiante del zumo del fruto de *Emblica officinalis* en conejos alimentados con colesterol. El zumo se obtiene de *Emblica officinalis* despepitadas. En el documento US6124268, Ghosal da a conocer una composición antioxidante natural a partir de *Emblica officinalis* que utiliza el pericarpio de frutos frescos (*Emblica officinalis*). Biswas Gopa et al. muestran la eficacia hiperlipidémica del *Amla* (*Emblica officinalis*). El amla utilizado es zumo de fruto de amla seco en polvo. Muhammed et al. evaluaron las propiedades hipolipemiantes y antihiperglucemiantes del polvo de *Emblica officinalis* en voluntarios humanos normales y diabéticos. Zhang et al. dan a conocer los constituyentes fenólicos del zumo de *Emblica officinalis*. Chatterjee et al. dan a conocer compuestos novedosos con actividad hipocolesterolémica de extractos del fruto de *Emblica officinalis* (EO) crudo. Las patentes estadounidenses n.º 7780996, 8158167 y 8455020 dan a conocer el método para reducir el colesterol, método para tratar la dislipidemia, y el método para reducir los triglicéridos con extracto de *Emblica officinalis.*

[0018] El amla es un fruto con una gran variedad de propiedades medicinales. Nuestro esfuerzo era encontrar la(s) molécula(s) más bioactiva(s) o la fracción más purificada que presenta bioactividad del fruto de amla. La parte carnosa (pericarpio) del fruto del amla se utiliza para consumo humano, mientras que las semillas de amla no son comestibles y se descartan. Evaluamos distintos extractos de amla. Se evaluó la actividad hiperlipidémica de los extractos preparados a partir de frutos frescos de amla; zumo del fruto entero del amla incluyendo la parte carnosa y las semillas de amla; zumo de la parte carnosa (pericarpio); fruto seco; pulpa del fruto de amla sin semillas; o solo semillas de amla. El extracto metanólico de todos los grupos mostró una actividad beneficiosa, pero el resultado más inesperado y superior se obtuvo del extracto de las semillas de amla. El extracto solamente de semillas de amla fue capaz de reducir el colesterol total, el colesterol LDL, los triglicéridos, el colesterol VLDL y de aumentar los niveles de colesterol HDL. Aunque no se conocen antecedentes del consumo humano de las semillas de amla, seguimos el ejemplo con varios extractos de semillas de amla y descubrimos que la porción de acetato de etilo del extracto de semilla de amla es el más activo.

[0019] La parte de acetato de etilo mostró una actividad muy superior en comparación con otros extractos con semilla de amla y también en comparación con otros extractos de amla.

[0020] Teniendo en cuenta lo anterior, la exposición proporciona una composición y un método para preparar un extracto a partir de las semillas de *Emblica officinalis* distinta a otras referencias donde el extracto se prepara a partir de *Emblica officinalis,* en concreto a partir de sus frutos, que encontraron su aplicación en el tratamiento para la reducción del colesterol "malo", la dislipidemia y para reducir los triglicéridos. La exposición proporciona un método para preparar un extracto de *Emblica officinalis* a partir de las semillas de *Emblica officinalis* y una composición derivada que contiene componentes polifenólicos y componentes lipofílicos. El extracto preparado a partir de las semillas de *Emblica officinalis* es útil para reducir el colesterol total, reducir los triglicéridos, reducir el

nivel de glucosa en sangre, mejorar el nivel de colesterol HDL, aumentar la proporción de colesterol HDL en relación con el colesterol total, reducir los niveles de colesterol LDL, reducir el nivel de CRP, disminuir el engrosamiento de la íntima media, incluso a un nivel de dosis más bajo. El extracto preparado a partir de las semillas de *Emblica officinalis* es útil para reducir la caída del cabello en humanos al aplicarlo por vía tópica o por vía oral.

SUMARIO

[0021] En el presente documento, se da a conocer una composición medicinal de los extractos de semillas de *Emblica officinalis* (extracto de semilla de amla). La composición de extracto de semilla de amla tiene aplicaciones como nutracéutico o medicamento, incluyendo para reducir el colesterol total, reducir los triglicéridos, reducir el nivel de glucosa en sangre, mejorar los niveles de colesterol HDL, aumentar la proporción de colesterol HDL en relación con el colesterol total, reducir los niveles de colesterol LDL, reducir el nivel de CRP, disminuir el engrosamiento de la íntima media, y reducir la caída del cabello en mamíferos, en concreto en humanos.

[0022] La composición de los extractos de semillas de *Emblica officinalis* es superior en comparación con el extracto de frutos de *Emblica officinalis* para indicaciones que incluyen reducir el colesterol total, reducir los triglicéridos, reducir el nivel de glucosa en sangre, mejorar el nivel de colesterol HDL, aumentar la proporción de colesterol HDL en relación con el colesterol total, reducir los niveles de colesterol LDL, reducir el nivel de CRP, disminuir el engrosamiento de la íntima media, y reducir la caída del cabello.

[0023] Cuando se administraron las mismas dosis de extracto de semilla de amla o de extracto de fruto de amla, el extracto de semilla de amla mostró resultados superiores en comparación con el extracto de fruto de amla.

[0024] Aunque la dosis de extracto de fruto de amla se aumentó en comparación con el extracto de semillas de amla, la administración de extracto de semillas de amla mostró resultados superiores en comparación con el extracto de frutos de amla.

[0025] Existe una exposición de una composición de mezcla de semillas de amla (a la que también se le hace referencia como mezcla de semillas de amla o Producto 3). El Producto 3 es una mezcla de Producto 1 y Producto 2. El Producto 1 incluye ácido alfa-linolénico, ácido linolénico y ácido oléico. El Producto 2 incluye triterpenoides y ácidos hidroxicinámicos. En algunos modos de realización, el Producto 2 y el Producto 1 pueden mezclarse en una proporción de Producto 2 en relación con Producto 1 que oscila entre aproximadamente 1:60 a aproximadamente 99:1.

[0026] En el presente documento se da a conocer un método para preparar extractos de semilla de *Emblica officinalis.* Los extractos de semillas de *Emblica officinalis* dados a conocer pueden utilizarse como un nutracéutico. Los extractos de semillas de *Emblica officinalis* dados a conocer pueden utilizarse como un medicamento. La administración de los extractos de semillas de *Emblica officinalis* dados a conocer puede disminuir el nivel de colesterol total. La administración de los extractos de semillas de *Emblica officinalis* dados a conocer puede disminuir el nivel de triglicéridos. La administración de los extractos de semillas de *Emblica officinalis* dados a conocer puede disminuir el nivel de glucosa en sangre. La administración de los extractos de semillas de *Emblica officinalis* dados a conocer puede aumentar el nivel de colesterol HDL. La administración de los extractos de semillas de *Emblica officinalis* dados a conocer puede aumentar la proporción de colesterol HDL en relación con el colesterol total. La administración de los extractos de semillas de *Emblica officinalis* dados a conocer puede disminuir el nivel de colesterol LDL. La administración de los extractos de semillas de *Emblica officinalis* dados a conocer puede disminuir el nivel de CRP. La administración de los extractos de semillas de *Emblica officinalis* dados a conocer puede disminuir el engrosamiento de la íntima media. La administración de los extractos de semillas de *Emblica officinalis* dados a conocer puede disminuir la caída del cabello.

[0027] Se da a conocer un método para producir el extracto de semillas de *Emblica offcinalis*. El método incluye seleccionar el material crudo (frutos frescos de *Emblica officinalis*), seguido de despepitar los frutos de *Emblica officinalis.* Luego las semillas de *Emblica officinalis* se machacan y se extraen con solventes. Los solventes incluyen metanol, etanol, isopropanol, n-butanol, acetato de metilo, acetato de etilo, acetato de propilo, acetato de n-butilo y combinaciones de los mismos para obtener la mezcla. Se filtra la mezcla. El filtrado se concentra para obtener un extracto concentrado. El extracto concentrado se seca para formar un extracto seco. El extracto seco se macera con agua y se divide con acetato de etilo. Se forman la parte de acetato de etilo y la parte acuosa y se recoge la parte de acetato de etilo. La parte de acetato de etilo se concentra y se seca para formar polvo de extracto de acetato de etilo de semilla de *Emblica officinalis.*

[0028] El extracto de semillas de *Emblica officinalis* puede prepararse a partir de semillas frescas o secas de *Emblica officinalis.*

[0029] En el presente documento también se da a conocer una forma galénica del extracto de *Emblica officinalis;* y una forma galénica de un extracto de semilla de *Emblica officinalis* para administración oral. Las formas galénicas del extracto se seleccionan del grupo que consiste en cápsulas, pastillas, gránulos, sobres, polvos, pasta, ungüento, infusión, inyección, ampollas, solución, suspensión, emulsión, píldoras, aceite, crema, etc.

[0030] Además, se da a conocer una forma galénica de un extracto de semillas de *Emblica officinalis* para su administración en una dosis que varía desde 5 mg a aproximadamente 500 mg para un sujeto humano.

[0031] Vista desde un aspecto, la invención proporciona una mezcla de semillas de amla para su utilización en un método de tratamiento la dislipidemia, donde dicho método de tratamiento es un método de reducción el colesterol total y comprende administrar la mezcla de semillas de amla, donde la mezcla de semillas de amla comprende una mezcla de Producto 1 y Producto 2, donde el Producto 1 comprende ácido alfa-linolénico, ácido linolénico y ácido oléico, donde el Producto 2 comprende triterpenoides y ácidos hidroxicinámicos, donde una proporción de Producto 2 en relación con Producto 1 oscila de aproximadamente 1:60 a aproximadamente 99:1, y donde la mezcla puede obtenerse mediante un método que comprende mezclar el Producto 1 y el Producto 2 para obtener la mezcla de semillas de amla,

donde un método de preparación del Producto 1 comprende:
despepitar frutos frescos de *Emblica officinalis* para obtener semillas de *Emblica officinalis*; machacar las semillas de *Emblica officinalis* para obtener semillas machacadas;
extraer las semillas machacadas con metanol al 95 % para obtener un residuo y un sobrenadante; concentrando el sobrenadante para obtener un extracto de metanol concentrado;
secar el extracto de metanol concentrado para obtener un polvo de extracto de metanol de semillas de *Emblica officinalis*;
dispersar el polvo del extracto de metanol de semillas de *Emblica officinalis* en agua para obtener una dispersión;
extraer la dispersión con hexano para obtener una fase acuosa y una fase de hexano, concentrando la fase de hexano para obtener una forma líquida de un extracto de hexano concentrado;
enfriar la forma líquida del extracto de hexano concentrado para obtener precipitados o cristales y una parte líquida;
separar la parte líquida de los precipitados o cristales para obtener un Producto 1 líquido;
extraer la fase líquida con acetato de etilo para obtener una fase de acetato de etilo;
concentrar la fase de acetato de etilo para obtener una fase de acetato de etilo concentrada; secando la fase de acetato de etilo concentrada para obtener un polvo de un extracto de acetato de etilo;
mezclar el polvo de extracto de acetato de etilo con agua para obtener un líquido para una separación cromatografica;
cargar el líquido para la separación cromatográfica sobre una columna de intercambio iónico;
eluir la columna de intercambio iónico con agua para obtener una fracción acuosa (Fracción 1);
concentrar la Fracción 1 para obtener un concentrado de Fracción 1;
secar el concentrado de Fracción 1 para obtener un polvo de Fracción 1;
eluir la columna de intercambio iónico con metanol al 50 % para obtener una Fracción 2;
concentrar la Fracción 2 para obtener un concentrado de Fracción 2;
secar el concentrado de Fracción 2 para obtener un polvo de Fracción 2;
eluir la columna de intercambio iónico con metanol al 80 % para obtener una Fracción 3;
concentrar la Fracción 3 para obtener un concentrado de Fracción 3;
secar el concentrado de Fracción 3 para obtener un polvo de Fracción 3;
combinar la Fracción 1, la Fracción 2 y la Fracción 3 para obtener un Producto 2;
mezclar el Producto 2 y el Producto 1 en una proporción de Producto 2 a Producto 1, donde la proporción oscila de aproximadamente 1:60 a 99:1 para obtener la mezcla de semillas de amla.

[0032] Vista desde un segundo aspecto, la invención proporciona una mezcla de semillas de amla para su utilización en un método de tratamiento de la dislipidemia, donde dicho método de tratamiento es un método de reducción de triglicéridos y comprende administrar la mezcla de semillas de amla, y donde la mezcla de semillas de amla es tal como se define en el primer aspecto de la invención.

[0033] Vista desde un tercer aspecto, la invención proporciona una mezcla de semillas de amla para su utilización en un método de tratamiento de la dislipidemia, donde dicho método de tratamiento es un método para aumentar el colesterol HDL y comprende administrar la mezcla de semillas de amla, y donde la mezcla de semillas de amla es tal como se define en el primer aspecto de la invención.

[0034] Vista desde un cuarto aspecto, la invención proporciona una mezcla de semillas de amla para su utilización en un método de tratamiento de la dislipidemia, donde dicho método de tratamiento es un método de aumentar el colesterol HDL en relación con la proporción de colesterol total y comprende administrar la mezcla de semillas de amla, y donde la mezcla de semillas de amla es tal como se define en el primer aspecto de la invención.

[0035] Vista desde un quinto aspecto, la invención proporciona una mezcla de semillas de amla para su utilización en un método de tratamiento de la dislipidemia, donde dicho método de tratamiento es un método para reducir los niveles de colesterol LDL y comprende administrar la mezcla de semillas de amla, y donde la mezcla de semillas de amla es tal como se define en el primer aspecto de la invención.

[0036] Vista desde un sexto aspecto, la invención proporciona una mezcla de semillas de amla para su utilización en un método de tratamiento de la dislipidemia, donde dicho método de tratamiento es un método de

reducción de la glucosa en sangre y comprende administrar la mezcla de semillas de amla, y donde la mezcla de semillas de amla es tal como se define en el primer aspecto de la invención.

[0037] Vista desde un séptimo aspecto, la invención proporciona una mezcla de semillas de amla para su utilización en un método de tratamiento del engrosamiento de la íntima media, donde dicho método de tratamiento es un método para disminuir el engrosamiento de la íntima media y comprende administrar la mezcla de semillas de amla, y donde la mezcla de semillas de amla es tal como se define en el primer aspecto de la invención.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0038] Los objetivos y ventajas anteriores de los conocimientos dados a conocer serán más evidentes haciendo referencia a los dibujos adjuntos, en los que:

Fig. 1: Diagrama de flujo que representa un método de preparación de extracto de acetato de etilo de extracto de metanol de semillas de *Emblica officinalis*.
Fig. 2: Diagrama de flujo que representa un método de preparación de extracto de acetato de etilo de semillas de *Emblica officinalis*.
Fig. 3: Diagrama de flujo que representa un método de preparación de extracto acuoso tratado con pectinasa de frutos de *Emblica officinalis*.
Fig. 4: Diagrama de flujo que representa un método de preparación de extracto alcohólico de frutos de *Emblica officinalis*.
Fig. 5: Diagrama de flujo que representa un método de preparación de extracto acuoso tratado con pectinasa de frutos de *Emblica officinalis* sin semilla.
Fig. 6: Diagrama de flujo que representa un método de preparación de extracto alcohólico de frutos de *Emblica officinalis* sin semilla.
Fig. 7: Diagrama de flujo que representa un método de preparación de polvo de semillas secas de *Emblica officinalis*.
Fig. 8: Diagrama de flujo que representa un método de preparación de polvo de extracto acuoso tratado con pectinasa de semillas secas de *Emblica officinalis*.
Fig. 9: Diagrama de flujo que representa un método de preparación de polvo de extracto de metanol de semillas secas de *Emblica officinalis*.
Fig. 10: Diagrama de flujo que representa un método de preparación de polvo de fruto de *Emblica officinalis*.
Fig. 11: Diagrama de flujo que representa un método de preparación de polvo de extracto acuoso de fruto de *Emblica officinalis*.
Fig. 12: Diagrama de flujo que representa un método de preparación de polvo de extracto de metanol de fruto de *Emblica officinalis*.
Fig. 13: Diagrama de flujo que representa un método de preparación de la composición de mezcla de semillas de amla.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0039] En el presente documento se da a conocer un extracto de semillas de *Emblica officinalis.* También se dan a conocer composiciones de mezcla de extracto de semillas de amla.

[0040] Se dan a conocer extractos de semillas de *Emblica officinalis* preparados a partir de semillas frescas o secas de *Emblica officinalis.* Los extractos de semillas de *Emblica officinalis* dados a conocer pueden utilizarse como un nutracéutico. Los extractos de semillas de *Emblica officinalis* dados a conocer pueden utilizarse como un medicamento. La administración de los extractos de semillas de *Emblica officinalis* dados a conocer disminuyó el nivel de colesterol total. La administración de los extractos de semillas de *Emblica officinalis* dados a conocer disminuyó el nivel de triglicéridos. La administración de los extractos de semillas de *Emblica officinalis* dados a conocer disminuyó el nivel de glucosa en sangre. La administración de los extractos de semillas de *Emblica officinalis* dados a conocer aumentó el nivel de colesterol HDL. La administración de los extractos de semillas de *Emblica officinalis* dados a conocer aumentó la proporción de colesterol HDL en relación con el colesterol total. La administración de los extractos de semillas de *Emblica officinalis* dados a conocer disminuyó el nivel de colesterol LDL. La administración de los extractos de semillas de *Emblica officinalis* dados a conocer disminuyó el nivel de CRP. La administración de los extractos de semillas de *Emblica officinalis* dados a conocer disminuyó el engrosamiento de la íntima media. La administración de los extractos de semillas de *Emblica officinalis* dados a conocer disminuyó la caída del cabello.

[0041] La administración de los extractos de semillas de *Emblica officinalis* dados a conocer fomentó el crecimiento del cabello.

[0042] La composición de los extractos de semillas de *Emblica officinalis* es superior en comparación con el extracto de frutos de *Emblica officinalis* para reducir el colesterol total, reducir los triglicéridos, reducir el nivel de glucosa en sangre, mejorar el nivel de colesterol HDL, aumentar la proporción de colesterol HDL en relación con

el colesterol total, reducir los niveles de colesterol LDL, reducir el nivel de CRP, disminuir el engrosamiento de la íntima media, reducir la caída del cabello, y fomentar el crecimiento del cabello.

[0043] Cuando se administraron las mismas dosis de extracto de semilla de amla o de extracto de fruto de amla, la administración del extracto de semilla de amla mostró resultados superiores en comparación con la administración del extracto de fruto de amla.

[0044] Aunque la dosis de extracto de fruto de amla se aumentó en comparación con el extracto de semillas de amla, la administración de extracto de semillas de amla mostró resultados superiores en comparación con el extracto de fruto de amla.

[0045] En el presente documento se da a conocer un extracto de semillas de *Emblica officinalis.* El extracto de *Emblica officinalis* incluye triterpenoides, ácidos hidroxicinámicos, ácidos grasos y polifenoles. Los triterpenoides incluyen beta-sitosterol, beta-amirina y lupeol. Los ácidos hidroxicinámicos incluyen ácidos ferúlicos, y ácido p-cumárico. Los ácidos grasos incluyen ácido alfa-linolénico, ácido linolénico, ácido oléico, ácido esteárico y ácido palmítico. El extracto preparado a partir de semillas de *Emblica officinalis* puede incluir componentes polifenólicos y componentes lipofílicos.

[0046] En algunos de los extractos de semillas de *Emblica officinalis,* los triterpenoides varían desde aproximadamente un 0,5 a aproximadamente el 20 % del extracto. Algunos extractos de semillas de *Emblica officinalis* presentan de aproximadamente un 0,5 % a aproximadamente un 5 % de ácidos hidroxicinámicos. Algunos extractos de semillas de *Emblica officinalis* presentan de aproximadamente un 25 % a aproximadamente un 50 % de ácidos grasos. Algunos extractos de semillas de *Emblica officinalis* presentan de aproximadamente un 10 % a aproximadamente un 95 % de polifenoles. Algunos extractos de semillas de *Emblica officinalis* presentan de aproximadamente un 10 % a aproximadamente un 20 % de polifenoles. Algunos extractos de semillas de *Emblica officinalis* presentan de aproximadamente un 0,5 a aproximadamente un 20 % de triterpenoides, aproximadamente de un 25 % a aproximadamente un 50 % de ácidos grasos y aproximadamente de un 10% a aproximadamente un 20 % polifenoles. Los triterpenoides incluyen beta-sitosterol, beta-amirina y lupeol, los ácidos hidroxicinámicos incluyen ácidos ferúlicos y ácido p-cumárico, los ácidos grasos incluyen ácido alfa-linolénico, ácido linolénico, ácido oléico, ácido esteárico y ácido palmítico, y aproximadamente de aproximadamente un 2,5 % a aproximadamente un 50 % de los polifenoles son ácidos hidroxicinámicos.

[0047] Algunos extractos de semillas de *Emblica officinalis* presentan aproximadamente un 9,5 % de triterpenoides. Algunos extractos de semillas de *Emblica officinalis* presentan aproximadamente un 4,3 % de ácidos hidroxicinámicos. Algunos extractos de semillas de *Emblica officinalis* presentan aproximadamente un 41,8 % de ácidos grasos. Algunos extractos de semillas de *Emblica officinalis* presentan aproximadamente un 15 % de polifenoles.

[0048] En el presente documento se da a conocer un producto con extracto de semillas que tiene el extracto de semillas de *Emblica officinalis.* El producto con extracto de semillas incluye rellenos como lactosa, lactosa atomizada, almidón, fosfato dibásico cálcico, fosfato tribásico cálcico, celulosa microcristalina, hidroxipropil-metil-celulosa, o carbonato de calcio.

[0049] En el presente documento se da a conocer una composición que presenta componentes lipofílicos y polifenólicos obtenidos a partir de extracto de semillas de *Emblica officinalis* donde los componentes polifenólicos presentes en el extracto de semillas de *Emblica officinalis* oscila desde el 10 % a 95 %. De manera similar, el extracto de semillas de *Emblica officinalis* contiene componentes lipofílicos que oscilan desde un 5 % y superior.

[0050] En el presente documento se da a conocer un método para preparar un extracto de semillas de *Emblica officinalis.* El método incluye despepitar frutos frescos de *Emblica officinalis* para obtener semillas de *Emblica officinalis.* Las semillas se machacan. Las semillas machacadas se extraen con metanol al 95 % para obtener un residuo y un sobrenadante. El sobrenadante se concentra para obtener un extracto de metanol concentrado. El extracto de metanol concentrado se seca para obtener un polvo de extracto de metanol de semillas de *Emblica officinalis.* El método incluye además macerar el polvo de extracto de metanol de semillas de *Emblica officinalis* en agua para obtener un líquido. El líquido se extrae con acetato de etilo para obtener una fase de acetato de etilo. La fase de acetato de etilo se concentra para obtener una fase de acetato de etilo concentrado. La fase de acetato de etilo concentrada se seca para obtener un polvo de extracto de acetato de etilo de extracto de metanol de semillas de *Emblica officinalis.*

[0051] En el presente documento se da a conocer un método para preparar un extracto de semillas de *Emblica officinalis.* El método incluye despepitar frutos frescos de *Emblica officinalis* para obtener semillas de *Emblica officinalis.* Las semillas se machacan. Las semillas machacadas se extraen con acetato de etilo para obtener un sobrenadante. El sobrenadante se concentra para obtener un extracto de acetato de etilo concentrado. El extracto de acetato de etilo concentrado se seca para obtener un polvo de extracto de acetato de etilo de semillas de *Emblica officinalis.*

[0052] En algunos métodos, el fruto fresco de *Emblica officinalis* se lava y se despepita. Las semillas se machacan y se extraen durante aproximadamente 1 hora utilizando metanol en un extractor con un condensador de reflujo para obtener residuo y sobrenadante. El residuo y el sobrenadante se separan al drenar el

sobrenadante del fondo del extractor a través de la tela de filtro. El sobrenadante resultante se concentra en un evaporador de película fina agitada (AFTE, por sus siglas en inglés) a una temperatura de 65 ºC para formar extracto concentrado. Después, el extracto concentrado se seca al vacío a más de 500 mm de mercurio para formar polvo de extracto de metanol de semilla de *Emblica Officinalis.*

[0053] El polvo del extracto de metanol de semillas de *Emblica officinalis* se macera con agua y se divide con acetato de etilo. Se recoge la parte de acetato de etilo. Se concentra la parte de acetato de etilo en un evaporador de película fina agitada y se seca al vacío a más de 500 mm de mercurio para formar polvo de extracto de acetato de etilo de extracto de metanol de semillas de *Emblica officinalis.* [Fig: 1]

[0054] En un método, los frutos frescos de *Emblica officinalis* se lavan y se despepitan. Las semillas se machacan y se extraen durante 5 horas utilizando acetato de etilo a 78 ºC en un extractor Soxhlet y luego se filtra. El extracto resultante se concentra en un evaporador de película fina agitada (AFTE, por sus siglas en inglés) a una temperatura de 75 ºC para formar extracto concentrado. Después, el extracto concentrado se seca al vacío a más de 500 mm de mercurio para formar polvo de extracto de acetato de etilo de semilla de *Emblica Officinalis.* [Fig: 2]

[0055] Otro método para fabricar un polvo de extracto acuoso tratado con pectinasa de frutos de *Emblica officinalis* es desmenuzar frutos de *Emblica officinalis* con agua desmineralizada para crear una suspensión. La suspensión se trata con pectinasa y luego se filtra para obtener una solución. La solución se concentra y se seca al vacío. El producto seco se pulveriza y se cuela a través de una malla n.º 30 para obtener un polvo del extracto acuoso tratado con pectinasa de los frutos de *Emblica officinalis.* [Fig: 3]

[0056] En el presente documento se da a conocer un método para preparar un polvo de un extracto alcohólico de frutos de *Emblica officinalis.* Los frutos frescos de *Emblica officinalis* se pulverizan y se extraen durante aproximadamente 1 hora utilizando metanol al 95 % en un extractor con un condensador de reflujo para obtener residuo y sobrenadante. El residuo y el sobrenadante se separan al drenar el sobrenadante del fondo del extractor a través de la tela de filtro. El sobrenadante resultante se concentra en un evaporador de película fina agitada (AFTE, por sus siglas en inglés) a una temperatura de 65 ºC para formar extracto concentrado. Después, el extracto concentrado se seca al vacío a más de 500 mm de mercurio para formar polvo de extracto de metanol de fruto de *Emblica Officinalis.* [Fig: 4]

[0057] Se da a conocer un método para fabricar un polvo de un extracto acuoso tratado con pectinasa de frutos de *Emblica officinalis* sin semillas. Los frutos de *Emblica officinalis* sin semillas se transforman en puré junto con agua desmineralizada para crear una suspensión. La suspensión se trata con pectinasa y luego se filtra para obtener una solución. La solución se concentra y se seca al vacío. El material seco se pulveriza y se cuela a través de una malla n.º 30 para obtener un polvo del extracto acuoso tratado con pectinasa de los frutos de *Emblica officinalis* sin semillas. [Fig: 5]

[0058] Se da a conocer un método para preparar un extracto alcoholico de frutos de *Emblica officinalis* sin semillas. Los frutos frescos de *Emblica officinalis* se despepitan y los frutos despepitadas se pulverizan y se extraen durante 1 hora utilizando metanol al 95 % en un extractor con un condensador de reflujo para obtener residuo y sobrenadante. El residuo y el sobrenadante se separan al drenar el sobrenadante del fondo del extractor a través de tela de filtro. El sobrenadante resultante se concentra en un evaporador de película fina agitada (AFTE, por sus siglas en inglés) a una temperatura de 65 ºC para formar extracto concentrado. Después, el extracto concentrado se seca al vacío a más de 500 mm de mercurio para formar polvo de extracto de metanol de fruto de *Emblica Officinalis.* [Fig: 6]

[0059] En el presente documento se da a conocer una composición con extracto de semillas de *Emblica officinalis.* En el presente documento se da a conocer un método de tratamiento para administrar a un sujeto humano de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 500 mg de extracto de semillas de *Emblica officinalis.* En el presente documento se da a conocer una forma galénica con extracto de semillas de *Emblica officinalis.* La forma galénica incluye una dosis del extracto de semillas de *Emblica officinalis* que varía desde aproximadamente 5 mg a aproximadamente 500 mg. Algunos de los métodos administran una dosis de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 500 mg al día a un ser humano. En algunos, se administra a un ser humano una dosis de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 500 mg dos o tres veces al día. En algunos, el extracto de semilla de *Emblica officinalis* se administra en una dosis de 5 mg a 100 mg en humanos. La forma galénica se administra en una única dosis o en múltiples dosis al día. En el presente documento se ha dado a conocer una forma galénica tal como una cápsula, pastilla, gránulo, sobre, polvo, pasta, ungüento, infusión, inyección, ampolla, solución, suspensión, emulsión, píldora, aceite o crema.

[0060] Se ha dado a conocer un método para reducir el colesterol total al administrar un extracto de semillas de *Emblica officinalis.* Otros métodos reducen los triglicéridos al administrar un extracto de semillas de *Emblica officinalis.* Otros métodos reducen el nivel de glucosa en sangre al administrar un extracto de semillas de *Emblica officinalis.* Otros métodos aumentan el colesterol HDL al administrar un extracto de semillas de *Emblica officinalis.* Otros métodos aumentan una proporción de colesterol HDL en relación con el colesterol total al administrar un extracto de semillas de *Emblica officinalis.* Otros métodos reducen los niveles de colesterol LDL al administrar un extracto de semillas de *Emblica officinalis.* Otros métodos reducen el VLDL al administrar un

extracto de semillas de *Emblica officinalis.* Otros métodos reducen el nivel de CRP al administrar un extracto de semillas de *Emblica officinalis.* Otros métodos reducen el engrosamiento de la íntima media al administrar un extracto de semillas de *Emblica officinalis.* Otros métodos reducen la caída del cabello al administrar un extracto de semillas de *Emblica officinalis.*

[0061] En el presente documento se da a conocer una composición de mezcla de semillas de amla. A algunas composiciones de mezcla de semillas de amla se les denomina Producto 3. La composición de mezcla de semillas de amla es una mezcla de varias proporciones de Producto 1 y Producto 2. El Producto 1 incluye ácido alfa-linolénico, ácido linolénico y ácido oléico. El Producto 2 incluye triterpenoides y ácidos hidroxicinámicos. El Producto 2 incluye triterpenoides y polifenoles. El Producto 2 y el Producto 1 pueden mezclarse en una proporción de Producto 2 en relación con Producto 1 que oscila entre aproximadamente 1:1 a aproximadamente 99:1. El Producto 2 y el Producto 1 pueden mezclarse en una proporción de Producto 2 en relación con Producto 1 que oscila entre aproximadamente 1:60 a aproximadamente 99:1. El Producto 2 y el Producto 1 pueden mezclarse en una proporción de Producto 2 en relación con Producto 1 que oscila entre aproximadamente 1:1 a aproximadamente 1:10. El Producto 2 y el Producto 1 pueden mezclarse en una proporción de Producto 2 en relación con Producto 1 de aproximadamente 2:3. El Producto 2 y el Producto 1 pueden mezclarse en una proporción de Producto 2 en relación con Producto 1 de aproximadamente 1:2. El Producto 2 y el Producto 1 pueden mezclarse en una proporción de Producto 2 en relación con Producto 1 de aproximadamente 1:1. El Producto 2 y el Producto 1 pueden mezclarse en una proporción de Producto 2 en relación con Producto 1 de aproximadamente 3:2. El Producto 2 y el Producto 1 pueden mezclarse en una proporción de Producto 2 en relación con Producto 1 de aproximadamente 10:1 o 90:9. El Producto 2 y el Producto 1 pueden mezclarse en una proporción de Producto 2 en relación con Producto 1 de aproximadamente 95:5 o 19:1. El Producto 2 y el Producto 1 pueden mezclarse en una proporción de Producto 2 en relación con Producto 1 de aproximadamente 3:1 o 75:25. El Producto 2 y el Producto 1 pueden mezclarse en una proporción de Producto 2 en relación con Producto 1 de aproximadamente 1:5. El Producto 2 y el Producto 1 pueden mezclarse en una proporción de Producto 2 en relación con Producto 1 de aproximadamente 1:10. El Producto 2 y el Producto 1 pueden mezclarse en una proporción de Producto 2 en relación con Producto 1 de aproximadamente 1:3.

[0062] La mezcla de Producto 2 y Producto 1 puede proporcionar una composición de mezcla de semillas de amla que presenta de aproximadamente un 6 % a aproximadamente 50 % de triterpenoides. Los triterpenoides incluyen, entre otros, beta-sitosterol, beta-amirina y lupeol. La mezcla de Producto 2 y Producto 1 puede proporcionar un producto de semillas de amla que presenta de aproximadamente un 2 % a aproximadamente 20 % de ácidos hidroxicinámicos. Los ácidos hidroxicinámicos incluyen ácido ferúlico, y ácido p-cumárico. Combinar Producto 2 y Producto 1 puede dar como resultado un producto de semillas de amla que presenta de aproximadamente un 10 % a aproximadamente 60 % de ácidos grasos. Los ácidos grasos incluyen ácidos grasos saturados e insaturados. Los ácidos grasos insaturados incluyen ácido alfa-linolénico, ácido linolénico y ácido oléico.

[0063] En el presente documento se da a conocer un método para preparar una mezcla de semillas de amla que presenta el Producto 1 y el Producto 2. También se da a conocer un método para preparar el Producto 1. Se despepitan frutos frescos de *Emblica officinalis* para obtener semillas de *Emblica officinalis.* Las semillas se machacan. Las semillas machacadas se extraen con metanol al 95 % para obtener un residuo y un sobrenadante. El sobrenadante se concentra dando como resultado un extracto de metanol concentrado. El extracto de metanol concentrado se seca para obtener un polvo de extracto de metanol de semillas de *Emblica officinalis.* El polvo del extracto de metanol de semillas de *Emblica officinalis* se dispersa en agua para obtener una dispersión. La dispersión se extrae con hexano en un extractor líquido-líquido tras el cual se recoge una fase acuosa y de hexano. La fase de hexano se concentra para obtener una forma líquida de un extracto de hexano concentrado. La forma líquida del extracto de hexano concentrado se enfría, mediante la cual se obtienen precipitados o se forman cristales y se obtiene una parte líquida. La parte líquida se separa de los precipitados o cristales para obtener un Producto 1 líquido. En el presente documento también se da a conocer un método para preparar Producto 2 a partir de semillas de amla. El método incluye extraer la fase acuosa recogida anteriormente después de la extracción de hexano con acetato de etilo para obtener una fase de acetato de etilo. La fase de acetato de etilo se concentra para obtener una fase de acetato de etilo concentrado. La fase de acetato de etilo concentrada se seca para obtener un polvo de un extracto de acetato de etilo. El polvo de extracto de acetato de etilo se mezcla con agua para obtener un líquido de polvo de extracto de acetato de etilo. El líquido de polvo de extracto de acetato de etilo se carga en una columna de intercambio iónico. La columna de intercambio iónico se eluye con agua para obtener una fracción acuosa (a la que también se hace referencia como Fracción 1). Después, se eluye la columna de intercambio iónico con metanol al 50 % para obtener una Fracción 2. Luego se eluye la columna de intercambio iónico con metanol al 80 % para obtener una Fracción 3. La Fracción 1 se concentra para obtener un concentrado de Fracción 1. El concentrado de Fracción 1 se seca para obtener un polvo de Fracción 1. La Fracción 2 se concentra para obtener un concentrado de Fracción 2. El concentrado de Fracción 2 se seca para obtener un polvo de Fracción 2. La Fracción 3 se concentra para obtener un concentrado de Fracción 3. El concentrado de Fracción 3 se seca para obtener un polvo de Fracción 3. El polvo de Fracción 1, el polvo de Fracción 2 y el polvo de Fracción 3 se combinan para obtener el Producto 2. El Producto 2 puede tener el polvo de Fracción 1, el polvo de Fracción 2 y el polvo de Fracción 3 en una proporción de 0,5: 1: 0,75 de Fracción 1: Fracción 2: Fracción 3. El Producto 1 incluye ácido alfa-linolénico, ácido

linolénico y ácido oléico. El Producto 2 incluye triterpenoides y ácidos hidroxicinámicos. El Producto 2 y el Producto 1 pueden mezclarse en una proporción de Producto 2 en relación con Producto 1 que oscila entre aproximadamente 1:1 a aproximadamente 99:1. El Producto 2 y el Producto 1 pueden mezclarse en una proporción de Producto 2 en relación con Producto 1 que oscila entre aproximadamente 1:60 a aproximadamente 99:1. El Producto 2 y el Producto 1 pueden mezclarse en una proporción de Producto 2 en relación con Producto 1 que oscila entre aproximadamente 10:1 a aproximadamente 1:10. El Producto 2 y el Producto 1 pueden mezclarse en una proporción de Producto 2 en relación con Producto 1 de aproximadamente 2:3. El Producto 2 y el Producto 1 pueden mezclarse en una proporción de Producto 2 en relación con Producto 1 de aproximadamente 1:2. El Producto 2 y el Producto 1 pueden mezclarse en una proporción de Producto 2 en relación con Producto 1 de aproximadamente 1:1. El Producto 2 y el Producto 1 pueden mezclarse en una proporción de Producto 2 en relación con Producto 1 de aproximadamente 3:2. El Producto 2 y el Producto 1 pueden mezclarse en una proporción de Producto 2 en relación con Producto 1 de aproximadamente 10:1 o 90:9. El Producto 2 y el Producto 1 pueden mezclarse en una proporción de Producto 2 en relación con Producto 1 de aproximadamente 95:5 o 19:1. El Producto 2 y el Producto 1 pueden mezclarse en una proporción de Producto 2 en relación con Producto 1 de aproximadamente 3:1 o 75:25. El Producto 2 y el Producto 1 pueden mezclarse en una proporción de Producto 2 en relación con Producto 1 de aproximadamente 1:5. El Producto 2 y el Producto 1 pueden mezclarse en una proporción de Producto 2 en relación con Producto 1 de aproximadamente 1:10. El Producto 2 y el Producto 1 pueden mezclarse en una proporción de Producto 2 en relación con Producto 1 de aproximadamente 1:3 [Fig: 13].

[0064] Una forma galénica que presenta la composición de la mezcla de semillas de amla tal como se da a a conocer, que es una mezcla de Producto 1 y Producto 2. Las formas galénicas incluyen una dosis de la composición de mezcla de semillas de amla que varía de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 500 mg por dosis en un sujeto humano. La forma galénica se puede administrar en una única dosis o en múltiples dosis al día. Pueden proporcionarse formas galénicas tales como una cápsula, pastilla, gránulo, sobre, polvo, pasta, ungüento, infusión, inyección, ampolla, solución, suspensión, emulsión, píldora, aceite o crema.

[0065] Una composición de mezcla de semillas de amla, que es una mezcla de Producto 1 y Producto 2 tal como se da a conocer en el presente documento, es un método para reducir el colesterol total administrando la composición de mezcla de semillas de amla. Los métodos reducen los triglicéridos al administrar la composición de mezcla de semillas de amla. Algunos métodos reducen el nivel de glucosa en sangre al administrar una composición de mezcla de semillas de amla. Algunos métodos aumentan el colesterol HDL al administrar una composición de mezcla de semillas de amla. Algunos métodos aumentan una proporción de colesterol HDL en relación con el colesterol total al administrar una composición de mezcla de semillas de amla. Algunos métodos reducen los niveles de colesterol LDL al administrar una composición de mezcla de semillas de amla. Algunos métodos reducen el VLDL al administrar una composición de mezcla de semillas de amla. Algunos métodos reducen el nivel de CRP al administrar una composición de mezcla de semillas de amla. Algunos métodos disminuyen el engrosamiento de la íntima media al administrar una composición de mezcla de semillas de amla. Algunos métodos reducen la caída del cabello al administrar una composición de mezcla de semillas de amla.

Ejemplo 1

Método de preparación de extracto de acetato de etilo de extracto de metanol de semillas de *Emblica officinalis* (extracto de semillas de amla)

[0066] Se recogieron frutos frescos de *Emblica officinalis* (Amla) (500 Kg). Los frutos se despepitaron con una máquina para despepitar y las semillas frescas (75 kg) se machacaron mediante un molino de rodillos. Metanol al 95 % en una cantidad 2 veces la cantidad de semillas machacadas se añadió a las semillas machacadas para formar una mezcla para la extracción con metanol. La extracción se llevó a cabo utilizando un extractor con un condensador de reflujo. La parte inferior del extractor se equipó con una tela de filtro de polipropileno (100 micras). La mezcla se sometió a reflujo durante una hora a 65 ºC para obtener un primer residuo y sobrenadante. El residuo y los sobrenadantes se separan al drenar el sobrenadante del fondo del extractor a través de la tela de filtro de polipropileno utilizando una bomba centrífuga. Después de la primera extracción, el primer residuo se extrajo de manera adicional con dos veces la cantidad de metanol a 65 ºC para obtener un segundo residuo y sobrenadante. El segundo residuo se extrajo de manera adicional con dos veces la cantidad de metanol a 65 ºC para obtener un tercer residuo y sobrenadante. Todos los sobrenadantes se acumularon y se concentraron en un evaporador de película fina agitada (AFTE, por sus siglas en inglés) a una temperatura de 65 ºC para formar extracto de metanol concentrado. El extracto de metanol concentrado se secó al vacío a más de 500 mm de mercurio para obtener 5 kg de polvo de extracto de metanol de semilla de *Emblica Officinalis.*

[0067] El polvo del extracto de metanol de semillas de *Emblica officinalis* se maceró con agua y se transfirió en un extractor líquido-líquido y se extrajo con acetato de etilo. Se separó la fase de acetato de etilo y la fase acuosa. Después de la extracción, se recogió la fase de acetato de etilo. La fase de acetato de etilo se concentró en un evaporador de película fina agitada para formar extracto de acetato de etilo concentrado. Se introdujo el concentrado de acetato de etilo en un destilador de vacío y se secó al vacío a más de 500 mm de mercurio para obtener 2,5 kg de polvo de extracto de acetato de etilo de extracto de metanol de semillas de *Emblica officinalis.* [Fig. 1]

Ejemplo 2

Método de preparación de extracto de acetato de etilo de semillas de *Emblica officinalis* (extracto de semillas de amla)

[0068] Se recogieron frutos frescos de *Emblica officinalis* (500 Kg). Los frutos se despepitaron con una máquina para despepitar y las semillas frescas (75 kg) se machacaron mediante un molino de rodillos. Las semillas machacadas se introdujeron en un extractor Soxhlet y se extrajeron con acetato de etilo (300 L). La extracción se llevó a cabo durante 5 horas a una temperatura de aproximadamente 78 ºC. Después de que se completara la extracción, el sobrenadante se filtró y se concentró en un evaporador de película fina agitada (ATFE) a una temperatura de 75 ºC para formar extracto de acetato de etilo concentrado. El extracto de acetato de etilo concentrado se secó al vacío a más de 500 mm de mercurio para obtener 2 kg de polvo de extracto de acetato de etilo de semilla de *Emblica Officinalis.* [Fig: 2]

Ejemplo 3

Método de preparación de extracto acuoso tratado con pectinasa de frutos de *Emblica officinalis* (Amla)

[0069] Se recogieron frutos frescos de *Emblica officinalis* (100 Kg). Los frutos frescos de *Emblica officinalis* se hicieron puré con agua desmineralizada para crear una suspensión. La suspensión se trató con pectinasa y luego se filtró para obtener una solución. La solución se concentró y se secó al vacío. El producto seco (5 kg) se pulverizó y se coló a través de una malla n.º 30 para obtener un polvo de un extracto acuoso tratado con pectinasa de *Emblica officinalis.* [Fig: 3]

Ejemplo 4

Método de preparación de extracto alcohólico de frutos de *Emblica officinalis* (amla)

[0070] Se recogieron frutos frescos de *Emblica officinalis* (100 Kg). Se pulverizaron los frutos frescos de *Emblica officinalis*. Se añadió metanol al 95 % en una cantidad 2 veces la cantidad (200 L) de frutos pulverizados para formar una mezcla para la extracción con metanol. La extracción se llevó a cabo utilizando un extractor con un condensador de reflujo. La parte inferior del extractor se equipó con una tela de filtro de polipropileno (100 micras). La mezcla se sometió a reflujo durante una hora a 65 ºC para obtener un primer residuo y sobrenadante. El residuo y los sobrenadantes se separaron al drenar el sobrenadante del fondo del extractor a través de la tela de filtro de polipropileno utilizando una bomba centrífuga. Después de la primera extracción, el primer residuo se extrajo de manera adicional con dos veces la cantidad de metanol a 65 ºC para obtener un segundo residuo y sobrenadante. El segundo residuo se extrajo de manera adicional con dos veces la cantidad de metanol a 65 ºC para obtener un tercer residuo y sobrenadante. Todos los sobrenadantes resultantes se acumularon y se concentraron en un evaporador de película fina agitada (AFTE, por sus siglas en inglés) a una temperatura de 65 ºC para formar extracto de metanol concentrado. El extracto de metanol concentrado se secó al vacío a más de 500 mm de mercurio para obtener 5 kg de polvo de extracto de metanol de fruto de *Emblica Officinalis.* [Fig. 4]

Ejemplo 5

Método de preparación de extracto acuoso tratado con pectinasa de *Emblica officinalis* (Amla) sin pepitas

[0071] Se recogieron frutos frescos de *Emblica officinalis* (100 Kg). Se despepitaron frutos frescos de *Emblica officinalis* con una máquina para despepitar. Los frutos de *Emblica officinalis* despepitados (85 kg) se hicieron puré con agua desmineralizada para crear una suspensión. La suspensión se trató con pectinasa y luego se filtró para obtener una solución. La solución se concentró y se secó al vacío. El producto seco (4 kg) se pulverizó y se coló a través de una malla n.º 30 para obtener un polvo de un extracto acuoso tratado con pectinasa de *Emblica officinalis* despepitadas. [Fig: 5]

Ejemplo 6

Método de preparación de extracto alcohólico de frutos de *Emblica officinalis* (amla) sin pepitas

[0072] Se recogieron frutos frescos de *Emblica officinalis* (100 Kg). Se despepitaron frutos frescos de *Emblica officinalis* con una máquina para despepitar. Se pulverizaron los frutos de *Emblica officinalis* (85 Kg). Se añadió metanol al 95 % en una cantidad 2 veces la cantidad (170 L) de los frutos pulverizadas para formar una mezcla para la extracción con metanol. La extracción se llevó a cabo utilizando un extractor con un condensador de reflujo. La parte inferior del extractor se equipó con una tela de filtro de polipropileno (100 micras). La mezcla se sometió a reflujo durante una hora a 65 ºC para obtener un primer residuo y sobrenadante. El residuo y los sobrenadantes se separaron al drenar el sobrenadante del fondo del extractor a través de la tela de filtro de polipropileno utilizando una bomba centrífuga. Después de la primera extracción, el primer residuo se extrajo de manera adicional con dos veces la cantidad de metanol a 65 ºC para obtener un segundo residuo y sobrenadante. El segundo residuo se extrajo de manera adicional con dos veces la cantidad de metanol a 65 ºC para obtener un tercer residuo y sobrenadante. Todos los sobrenadantes resultantes se acumularon y se concentraron en un evaporador de película fina agitada (AFTE, por sus siglas en inglés) a una temperatura de

65 ºC para formar extracto de metanol concentrado. El extracto de metanol concentrado se secó al vacío a más de 500 mm de mercurio para obtener 3,5 kg de polvo de extracto de metanol de fruto de *Emblica Officinalis* despepitado. [Fig: 6]

Ejemplo 7

Método de preparación de polvo de semilla de amla seca

[0073] Se recogieron frutos frescos de *Emblica officinalis* (Amla) (10 Kg). Los frutos se despepitaron mediante una máquina para despepitar y las semillas frescas (1,5 kg) se secaron en un desecador de bandejas a 40 °C. El material seco se molió para obtener un polvo de semillas de *Emblica officinalis* secas (0,75 kg). [Fig: 7]

Ejemplo 8

Método de preparación de extracto acuoso de semilla de amla seca

[0074] Se recogieron frutos frescos de *Emblica officinalis* (Amla) (500 Kg). Los frutos se despepitaron mediante una máquina para despepitar y las semillas frescas (75 kg) se secaron en un desecador de bandejas a 40 ºC. Las semillas secas se machacaron y se introdujeron en un extractor. Se añadieron alrededor de 200 litros de agua a las semillas machacadas y se mantuvieron durante un tiempo de contacto de 3 horas. Luego se recogió la parte acuosa y se volvió a añadir agua fresca en las semillas y se repitió la extracción tres veces. Todas las partes acuosas se acumularon, se filtraron y se concentraron en un evaporador, cuando el extracto acuoso concentrado de semillas secas llegó al fondo del recipiente, el concentrado se introdujo en una secadora y se secó al vacío a más de 500 mm de mercurio. El producto seco se descargó de la parte inferior del recipiente y se pulverizó para obtener un polvo del extracto acuoso de semillas secas de *Emblica officinalis* (4 Kg). [Fig: 8]

Ejemplo 9

Método de preparación de extracto de metanol de semilla de amla seca

[0075] Se recogieron frutos frescos de *Emblica officinalis* (Amla) (500 Kg). Los frutos se despepitaron mediante una máquina para despepitar y las semillas frescas (75 kg) se secaron en un desecador de bandejas a 40 ºC. Las semillas secas se machacaron y se introdujeron en un extractor. Se bombearon alrededor de 200 litros de alcohol metílico al 95 % en el extractor y se mantuvo durante un tiempo de contacto de 3 horas. Luego se recogió la parte solvente (parte de metanol) y se volvió a bombear alcohol metílico fresco en el extractor y se repitió tres veces la extracción. Todos los extractos (parte de metanol) se acumularon, filtraron y secaron en un evaporador de película fina agitada (ATFE) que funcionaba al vacío a 700 mm de mercurio. El producto seco se descargó de la parte inferior del recipiente y luego se pulverizó para obtener un polvo de un extracto alcohólico de semillas de *Emblica officinalis* (5 Kg). [Fig: 9]

Ejemplo 10

Método de preparación de polvo de fruto de amla seco

[0076] Se lavaron 100 kg de frutos frescos de *Emblica officinalis* y se cortaron en copos y se secaron en un horno de aire caliente a aproximadamente 110°C durante 10 horas. El material seco (9 kg) se pulverizó para obtener un polvo de frutos de *Emblica officinalis* secos. [Fig: 10]

Ejemplo 11

Método de preparación de extracto acuoso de fruto de amla seco

[0077] Se recogieron frutos frescos de *Emblica officinalis* (100 Kg). Se lavaron los frutos frescos y se cortaron en copos y se secaron en un horno de aire caliente a aproximadamente 110°C durante 10 horas. Los copos secos se introdujeron en un extractor y se añadieron aproximadamente 200 litros de agua a los copos secos y se mantuvieron durante un tiempo de contacto de 3 horas. Luego se recogió la parte acuosa y se volvió a añadir agua en los copos y se repitió tres veces. Todas las partes acuosas se acumularon, se filtraron y se concentraron en un evaporador, cuando el extracto acuoso concentrado de frutos desecados llegó al fondo del recipiente, el concentrado se introdujo en una secadora y se secó al vacío a más de 500 mm de mercurio. El producto seco (6 kg) se descargó de la parte inferior del recipiente y se pulverizó para obtener un polvo del extracto acuoso de frutos de *Emblica officinalis* secos. [Fig: 11]

Ejemplo 12

Método de preparación de extracto de metanol de fruto de amla seco

[0078] Se recogieron frutos frescos de *Emblica officinalis* (100 Kg). Los frutos frescos se lavaron y se cortaron en copos y se secaron en un horno de aire caliente a aproximadamente 110°C durante 10 horas. Los copos secos se introdujeron en un extractor y se bombearon aproximadamente 200 litros de alcohol metílico al 95 % en el extractor y se mantuvo durante un tiempo de contacto de 3 horas. Luego se recogió la parte solvente (parte de metanol) y se volvió a bombear alcohol metílico fresco en el extractor y se repitió tres veces la extracción. Todos los extractos (parte de metanol) se acumularon, filtraron y secaron en un evaporador de película fina agitada

(ATFE) que funcionaba al vació a 700 mm de mercurio. El producto seco (5 kg) se descargó de la parte inferior del recipiente y luego se pulverizó para obtener un polvo de un extracto alcohólico de frutos de *Emblica officinalis*. [Fig: 12]

Ejemplo 13

[0079] Se recogieron frutos frescos de *Emblica officinalis* (Amla) (500 Kg). Los frutos se despepitaron con una máquina para despepitar para obtener semillas frescas de amla. Las semillas frescas (75 kg) se machacaron mediante un molino de rodillos. Se añadió metanol al 95 % en una cantidad 2 veces la cantidad de semillas machacadas a las semillas machacadas para formar una mezcla para la extracción con metanol. La extracción se llevó a cabo utilizando un extractor con un condensador de reflujo. La parte inferior del extractor se equipó con una tela de filtro de polipropileno (100 micras). La mezcla se sometió a reflujo durante una hora a 65 ºC para obtener un primer residuo y sobrenadante. El primer residuo y sobrenadante se separaron al drenar el sobrenadante del fondo del extractor a través de la tela de filtro de polipropileno utilizando una bomba centrífuga. Después de la primera extracción, el primer residuo se extrajo de manera adicional con dos veces la cantidad de metanol a 65 ºC para obtener un segundo residuo y sobrenadante. El segundo residuo se extrajo de manera adicional con dos veces la cantidad de metanol a 65 ºC para obtener un tercer residuo y sobrenadante. Todos los sobrenadantes resultantes se acumularon y se concentraron en un evaporador de película fina agitada (AFTE, por sus siglas en inglés) a una temperatura de 65 ºC para formar un extracto de metanol concentrado. El extracto de metanol concentrado se secó al vacío a más de 500 mm de mercurio para obtener 5 kg de polvo de extracto de metanol de semillas de *Emblica Officinalis.*

[0080] El polvo del extracto de metanol de semillas de *Emblica officinalis* se dispersó en agua y se transfirió en un extractor líquido-líquido y se extrajo con hexano. Después de la extracción, se separó la fase de hexano y la fase acuosa. Luego se recogió la fase de hexano mediante una válvula lateral. La fase de hexano se concentró en un evaporador de película fina agitada para formar extracto hexano concentrado (2 kg). El extracto de hexano concentrado se enfrió a 4 ºC y se mantuvo en frío durante 24 horas. Algunos componentes del extracto de hexano concentrado se precipitaron o cristalizaron mediante este enfriamiento. Los cristales o precipitados se separaron del extracto de hexano concentrado enfriado líquido pasando el extracto de hexano concentrado enfriado a través de un filtro prensa. Se observó que los precipitados o cristales contenían componentes con un punto de fusión alto como ácido palmítico y ácido esteárico. Se obtuvieron 1,5 kg de líquido (Producto 1) después de pasar el extracto de hexano concentrado enfriado a través del filtro prensa. Se observó que el Producto 1 contenía ácidos grasos insaturados como ácido alfa-linolénico, ácido linolénico y ácido oléico.

[0081] Se añadió acetato de etilo a la fase acuosa en un extractor líquido-líquido para su extracción. Después de la extracción se separó la fase de acetato de etilo y la fase acuosa y se recogió la fase de acetato de etilo mediante la válvula lateral. La fase de acetato de etilo se concentró en un evaporador de película fina agitada para formar extracto de acetato de etilo concentrado. Se introdujo el concentrado de acetato de etilo en un destilador de vacío y se secó al vacío a más de 500 mm de mercurio para obtener 2,5 kg de polvo de extracto de acetato de etilo de extracto de metanol de semillas de *Emblica officinalis.* Se observó que este extracto contenía triterpenoides y polifenoles. Los polifenoles incluian ácido hidroxicinámico.

[0082] El polvo de extracto de acetato de etilo de extracto de metanol de semillas de *Emblica officinalis* se mezcló con agua y se cargó en una columna que presenta una resina de intercambio de iones FPX 66 (Rohm &Haas, Filadelfia, EE.UU.). La cromatografía en columna se llevó a cabo para purificar de manera adicional los triterpenoides, y para separar los ácidos hidroxicinámicos de otros polifenoles. La columna se eluyó inicialmente con agua y se recogió la fracción acuosa. Luego la columna se eluyó con distintas concentraciones de metanol (metanol al 50 % y metanol al 80 %) y se recogieron las distintas fracciones de metanol. La fracción acuosa se concentró y se secó al vacío para formar polvo de eluato de agua de extracto de acetato de etilo de semillas de *Emblica officinalis* (0,1 kg) (Fracción 1). Se observó que la Fracción 1 contenía una pequeña cantidad de triterpenoides, que se confirmó por HPLC. La fracción de metanol 50 % se concentró y se secó al vacío para formar polvo de eluato de metanol al 50 % de extracto de acetato de etilo de semillas de *Emblica officinalis* (1 kg) (Fracción 2). Se observó que la Fracción 2 contenía triterpenoides, y se confirmó por HPLC.

[0083] La fracción de metanol al 80 % se concentró y se secó al vacío para formar polvo de metanol al 80 % de eluato de extracto de acetato de etilo de semillas de *Emblica officinalis* (0,75 kg) (Fracción 3). Se observó que la Fracción 3 contenía ácidos hidroxicinámicos y se confirmó mediante el método de HPLC.

[0084] Las Fracciones 1, 2 y 3 se combinaron para formar un Producto 2. El Producto 2 se mezcló con Producto 1 en una proporción de 2:3 para formar un Producto 3 de mezcla de semillas de amla (3,35 kg) [Fig: 13]. El Producto 3 tenía aproximadamente un 20 % de triterpenoides, aproximadamente un 11,7 % de ácidos hidroxicinámicos, aproximadamente un 46,2 % de ácidos grasos insaturados y aproximadamente un 0,3 % de ácidos grasos saturados. El Producto 3 incluía aproximadamente un 9 % de beta-sitosterol, aproximadamente un 6 % de beta-amirina, aproximadamente un 5 % de lupeol, aproximadamente un 7,5 % de ácido ferúlico, aproximadamente un 4,2 % de ácido cumárico, aproximadamente un 20,5 % de ácido alfa-linolénico, aproximadamente un 15,8 % de ácido linolénico, aproximadamente un 9,9 % de ácido oléico, aproximadamente un 0,2 % de ácido esteárico y aproximadamente 0,1 % de ácido palmítico.

Ejemplo 14

Análisis de triterpenoides mediante HPLC

[0085] Los triterpenoides se estimaron mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC-DAD) en una columna C18 (250 x 4,6 mm). La fase móvil era acetonitrilo utilizado en condiciones isocráticas con un caudal de eluyente de 1 ml/min. El estándar se preparó pesando 5 mg de lupeol, beta-amirina y beta-sitosterol estándar (95 % de pureza) y se completó hasta 10 ml con acetonitrilo y se almacenó a oscuras a 4 ºC. La muestra se preparó pesando 50 mg del extracto y se completó hasta 50 ml con acetonitrilo y se almacenó a oscuras a 4 ºC. La muestra y el estándar se filtraron por separado a través de un filtro de membrana de 0,2 µm antes de introducirlos en la columna HPLC. El volumen de inyección fue de 20 µm. Los triterpenoides se detectaron a 210 nm. Al comparar el área del estándar y de la muestra, se cuantificó el porcentaje de triterpenoides presentes en la muestra. ("Separation and identification of some common isomeric plant triterpenoids by thin-layer chromatography and high-performance liquid chromatography", Mitja et al., *J Chromatogr A*, 18 Sep 2009; 1216(38):6662-70. doi: 0.1016/j.chroma.2009.07.038. Epub 29 Jul 2009).

Ejemplo 15

Análisis de ácidos hidroxicinámicos por HPLC

[0086] Los ácidos hidroxicinámicos se estimaron mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC-DAD) en una columna C18 (250 x 4,6 mm). La fase móvil era Solvente A - ácido acético al 1 % en agua, solvente B - ácido acético al 1 %/agua/acetonitrilo (2:68:30). Gradiente: 0 min. B 7 % aumentó hasta B 90 %. Caudal 1 ml/min. Detección a 320 nm

[0087] El estándar se preparó pesando 5 mg de ácido ferúlico y ácido p-cumárico estándar (95 % de pureza) y se completó hasta 10 ml con metanol y se almacenó a oscuras a 4 ºC. La muestra se preparó pesando 50 mg de extracto y se completó hasta 50 ml con metanol y se almacenó a oscuras a 4 ºC. La muestra y el estándar se filtraron por separado a través de un filtro de membrana de 0,2 µm antes introducirlos en la columna HPLC. El volumen de inyección fue de 20 µm. Los ácidos hidroxicinámicos se detectaron a 320 nm. Al comparar el área del estándar y la muestra, se cuantificó el porcentaje de ácidos hidroxicinámicos presentes en la muestra. ("A Novel Protocol for the Analysis of Hydroxycinnamic Acids in Leaf Tissue of Chicory (*Cichorium intybus L., Asteraceae*)", Meriem Bahri et al., *The Scientific World Journal,* vol. 2012, Art. ID 142983).

Ejemplo 16

Análisis de ácidos grasos por GC

[0088] Los ácidos grasos se analizaron mediante el método de cromatografía de gases (GC). Se pesaron 250 mg de éster metílico de ácidos grasos de aceite estándar en un matraz estándar de 25 ml y se completó hasta 25 ml con isoctano. Se inyectó 1 microlitro de la solución estándar en la GC. Se observó el tiempo de retención de cada componente.

[0089] Se pesaron 0,3 g de la muestra (extracto) en un matraz RB de 100 ml y se añadieron 1,5 ml de NaOH metanólico 0,5 N. La muestra se mantuvo en un baño de agua hirviendo con un condensador de agua y se calentó a 100 ºC durante 5 minutos. Se enfrió y se añadieron 2 ml de solución de trifluoruro de boro (BF3)-Metanol y se calentó a 100 ºC durante 30 minutos. Se enfrió hasta llegar a 30-40 ºC y se añadieron 5 ml de isoctano y se agitó enérgicamente durante 30 segundos.

[0090] Se añadieron 5 ml de solución de NaCl saturada inmediatamente y se agitó enérgicamente y se enfrió hasta llegar a temperatura ambiente. La capa de isoctano se separó y la capa acuosa se volvió a extraer con isoctano. Las capas de isoctano se mezclaron y se secaron. Luego el residuo se completó hasta 25 ml con isoctano y se inyectaron 2 microlitros en la GC. Se comprobó el tiempo de retención de cada componente y se comparó con los componentes del estándar con el mismo tiempo de retención. Al comparar el área del estándar y la muestra, se cuantificó el porcentaje de ácidos grasos presentes en la muestra. (*European Pharmacopoeia*, 5ª ed., vol. 1, ISBN: 92-871-5281-0, p-110)

Ejemplo 17

Determinación del contenido de polifenol

[0091] El polifenol se estimó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC-DAD) en una columna C18 (250 x 4,6 mm). La fase móvil era solvente A - ácido trifluoroacético al 0,1 % en agua, solvente B - metanol. Isocrática (90:10) Caudal 1 ml/min. Detección a 254 nm

[0092] El estándar se preparó pesando 5 mg de ácido gálico y ácido elágico estándar (95 % de pureza) y se completó hasta 10 ml con metanol y se almacenó a oscuras a 4 ºC. La muestra se preparó pesando 50 mg de extracto y se completó hasta 50 ml con metanol y se almacenó a oscuras a 4 ºC. La muestra y el estándar se filtraron por separado a través de un filtro de membrana de 0,2 µm antes de introducirlos en la columna HPLC. El volumen de inyección fue de 20 µm. El polifenol se detectó a 254 nm. Al comparar el área del estándar y de la muestra, se cuantificó el porcentaje de polifenol presente en la muestra. ("HPLC Profiles of Standard Phenolic

Compounds Present in Medicinal Plants", Gupta et al., *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* 2012; 4(3); 162-167).

Ejemplo 18

Análisis de la actividad hipolipemiante del extracto de semillas de amla utilizando un modelo de dislipidemia inducida por Triton WR-1339

[0093] Veinticuatro ratas albinas macho (cepa Sprague Dawley) que pesan aproximadamente 250-300 gramos se seleccionaron para el estudio. Los animales permanecieron en el animalario mantenido a una temperatura de 24±2 ºC, una humedad relativa del 65 % y un ciclo de 12 horas de luz/oscuridad. Las ratas se aclimataron durante dos semanas y durante este periodo tuvieron acceso a una dieta de pienso estándar y agua *ad libitum.* Después de dos semanas de aclimatación, todas las ratas se tuvieron en ayunas durante toda la noche antes de inyectarles Triton WR-1339 (Tiloxapol) y la administración de estándar/extractos de prueba Los animales se dividieron en cuatro grupos, y se dio el siguiente tratamiento a las ratas que se tuvieron en ayunas durante toda la noche:

Grupo I: Control normal (solo vehículo)
Grupo II: Triton WR-1339 (300 mg/kg, intraperitoneal)
Grupo III: Triton WR-1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de extracto de semilla de amla preparado según el ejemplo 1 (10 mg/kg, vía oral)
Grupo IV: Triton WR-1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de Atorvastatina (10 mg/kg, vía oral)

[0094] Se privó de comida a los animales durante las siguientes 24 horas, pero tuvieron acceso a agua *ad libitum.* Después de 24 horas de tratamiento con fármacos, se recogieron 2 ml de muestras de sangre del plexo retro-orbital. Se dejó que la sangre se coagulara y luego se centrifugó a 3 000 rpm durante 10 minutos y el suero se extrajo cuidadosamente y se recogió en tubos separados. El suero se analizó para observar los niveles de colesterol total (TC), triglicéridos (TG), lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) utilizando un analizador automático.

Tabla 1(A): Perfil lipídico (mg/dl) de ratas tratadas con extracto de semilla de amla

Grupos	**TC**		**TG**		**HDL**	
	Antes	**Después**	**Antes**	**Después**	**Antes**	**Después**
Control normal	111,87	134,77	52,20	62,03	37,80	58,03
Solo Triton	108,3	265,6	43,06	692,7	36,13	49,5
Triton + extracto de semilla de amla (10 mg/kg)	117,2	120,87	58,63	152,23	39,4	47,27
Triton + atorvastatina (10 mg/kg)	100,4	131,9	44,26	109,67	29,13	32,37

Tabla 1(B): Perfil lipídico (mg/dl) de ratas tratadas con extracto de semilla de amla

Grupos	**LDL**		**VLDL**	
	Antes	**Después**	**Antes**	**Después**
Control normal	63,69	64,37	10,44	12,41
Solo Triton	63,59	77,59	8,62	138,55
Triton + extracto de semilla de amla (10 mg/kg)	66,03	43,15	11,72	30,44
Triton + atorvastatina (10 mg/kg)	62,43	77,61	8,85	21,93

[0095] Los resultados indicaron que antes del tratamiento, el valor de referencia del colesterol total, triglicéridos, HDL, LDL y VLDL eran comparables en todos los grupos. Inyectar solo Triton (Grupo II) aumentó considerablemente el nivel de colesterol total a 265,6 mg/dl. Mientras en el Grupo III, la administración oral simultánea de extracto de semilla de amla en ratas a las que se les inyectó Triton, el nivel de colesterol era de 120,87 mg/dl que era 2,2 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0096] En el Grupo II la inyección de Triton aumentó el nivel de triglicéridos hasta 692,7 mg/dl. Mientras en el Grupo III, administración oral simultánea de extracto de semilla de amla en ratas a las que se les inyectó Triton, el nivel de triglicéridos era de 152,23 mg/dl que era 4,5 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0097] En el grupo al que se le administró solo Triton, después de la inyección de Triton la proporción de HDL en relación con el colesterol total era de 0,18. Mientras en el Grupo III, administración oral simultánea de extracto de semilla de amla en ratas a las que se les inyectó Triton, la proporción de colesterol HDL en relación con el

colesterol total era de 0,39 que era 2,2 veces mayor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0098] En el Grupo II la inyección de Triton aumentó el nivel de LDL hasta 77,59 mg/dl. Mientras en el Grupo III, administración oral simultánea de extracto de semilla de amla en ratas a las que se les inyectó Triton, el nivel de LDL era de 43,15 mg/dl que era 1,8 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0099] En el Grupo II la inyección de Triton aumentó el nivel de VLDL hasta 138,55 mg/dl. Mientras en el Grupo III, administración oral simultánea de extracto de semilla de amla en ratas a las que se les inyectó Triton, el nivel de VLDL era de 30,44 mg/dl que era 4,6 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0100] El fármaco de atorvastatina estándar también era eficaz en la reducción de colesterol así como el nivel de triglicéridos. Estos resultados indican claramente la actividad hipolipemiante del extracto de semilla de amla en la hiperlipidemia inducida por Triton en ratas.

Ejemplo 19

Actividad hipolipemiante de extractos de semillas de amla en distintas dosis utilizando un modelo de dislipidemia inducida por Triton WR-1339

[0101] Sesenta ratas albinas macho (cepa Sprague Dawley) que pesan aproximadamente 250-300 gramos se seleccionaron para el estudio. Los animales permanecieron en el animalario mantenido a una temperatura de 24±2 ºC, una humedad relativa de 65 % y un ciclo de 12 horas de luz/oscuridad. Las ratas se aclimataron durante dos semanas y durante este periodo tuvieron acceso a una dieta de pienso estándar y agua *ad libitum.* Después de dos semanas de aclimatación, todas las ratas se tuvieron en ayunas durante toda la noche antes de inyectarles Triton WR-1339 (Tiloxapol) y la administración de estándar/extractos de prueba Los animales se dividieron en diez grupos. Se dio el siguiente tratamiento a las ratas que se tuvieron en ayunas durante toda la noche:

Grupo I: Control normal (solo vehículo)
Grupo II: Triton WR-1339 (300 mg/kg, intraperitoneal)
Grupo III: Triton WR-1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de extracto de semilla de amla preparado según el ejemplo 1 (10 mg/kg, vía oral)
Grupo IV: Triton WR-1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de extracto de semilla de amla preparado según el ejemplo 1 (7,5 mg/kg, vía oral)
Grupo V: Triton WR-1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de extracto de semilla de amla preparado según el ejemplo 1 (5 mg/kg, vía oral)
Grupo VI: Triton WR-1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de extracto de semilla de amla preparado según el ejemplo 1 (2,5 mg/kg, vía oral)
Grupo VII: Triton WR-1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de extracto de semilla de amla preparado según el ejemplo 1 (2 mg/kg, vía oral)
Grupo VIII: Triton WR-1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de extracto de semilla de amla preparado según el ejemplo 1 (1 mg/kg, vía oral)
Grupo IX: Triton WR-1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de extracto de semilla de amla preparado según el ejemplo 1 (0,5 mg/kg, vía oral)
Grupo X: Triton WR-1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de Atorvastatina (10 mg/kg, vía oral)

[0102] Se privó de comida a los animales durante las siguientes 24 horas, pero tuvieron acceso a agua *ad libitum.* Después de 24 horas de tratamiento con fármacos, se recogieron 2 ml de muestras de sangre del plexo retro-orbital. Se dejó que la sangre se coagulara y luego se centrifugó a 3 000 rpm durante 10 minutos y el suero se extrajo cuidadosamente y se recogió en tubos separados. El suero se analizó para observar los niveles de colesterol total (TC), triglicéridos (TG), lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) utilizando un analizador automático.

Tabla 2(A): Perfil lipídico (mg/dl) de ratas tratadas con extracto de semilla de amla en distintas dosis.

Grupos	**TC**		**TG**		**HDL**	
	Antes	**Después**	**Antes**	**Después**	**Antes**	**Después**
Control normal	105,52	111,36	49,38	40,55	30,12	33,67
Solo Triton	110,53	233,76	50,5	504,3	46,3	54,66
Triton + extracto de semilla de amla (10 mg/kg)	111,1	108,23	51,23	91,1	45,46	48,66
Triton + extracto de semilla de amla (7,5 mg/kg)	91,9	114	62,53	171,18	30,41	36,51

Grupos	TC		TG		HDL	
	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después
Triton + extracto de semilla de amla (5 mg/kg)	85,46	112,26	45,61	120,43	29,68	40,33
Triton + extracto de semilla de amla (2,5 mg/kg)	104,66	116,25	55,28	116,31	36,41	43,28
Triton + extracto de semilla de amla (2 mg/kg)	96,35	118,54	49,53	105,56	38,55	41,26
Triton + extracto de semilla de amla (1 mg/kg)	101,25	121,55	58,33	125,56	40,25	42,58
Triton + extracto de semilla de amla (0,5 mg/kg)	110,66	126,61	55,48	122,28	46,26	47,41
Triton + atorvastatina (10 mg/kg)	87,43	120,83	39,9	103,86	31,66	39,83

Tabla 2(B): Perfil lipídico (mg/dl) de ratas tratadas con extracto de semilla de amla en distintas dosis.

Grupos	LDL		VLDL	
	Antes	Después	Antes	Después
Control normal	67,55	71,64	9,85	8,09
Solo Triton	47,46	78,24	10,09	100,86
Triton + extracto de semilla de amla (10 mg/kg)	55,4	38,76	10,24	18,13
Triton + extracto de semilla de amla (7,5 mg/kg)	49,03	43,25	12,50	34,06
Triton + extracto de semilla de amla (5 mg/kg)	46,68	47,85	9,12	24,08
Triton + extracto de semilla de amla (2,5 mg/kg)	57,23	49,73	11,05	23,26
Triton + extracto de semilla de amla (2 mg/kg)	47,9	56,17	9,90	21,11
Triton + extracto de semilla de amla (1 mg/kg)	49,34	53,86	11,66	25,11
Triton + extracto de semilla de amla (0,5 mg/kg)	53,31	54,75	11,09	24,45
Triton + atorvastatina (10 mg/kg)	47,75	60,23	7,98	20,77

[0103] Los resultados indicaron que la inyección intraperitoneal de Triton aumentó de forma considerable el nivel de colesterol total aproximadamente 2 veces sobre el valor de referencia. De manera similar, el nivel de triglicéridos también aumentó a un nivel muy alto (Grupo II) tras la inyección de Triton. La administración oral simultanea de varias dosis de extracto de semillas de amla en ratas a las que se inyectó Triton redujo el aumento del colesterol hasta un nivel casi normal (Grupo III a IX). El nivel de triglicéridos también disminuyó en todas las dosis de Triton con extracto de semilla de amla en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton. El fármaco estándar de atorvastatina también fue eficaz en la reducción de colesterol así como el nivel de triglicéridos (Grupo X). Estos resultados indican claramente la actividad hipolipemiante del extracto de semilla de amla a varios niveles de dosis en la hiperlipidemia inducida por Triton en ratas.

Ejemplo 20

Actividad hipolipemiante de extracto de semillas de amla en comparación con otros extractos de amla que utilizan un modelo de dislipidemia inducida por Triton WR-1339

[0104] Cuarenta y ocho ratas albinas macho (cepa Sprague Dawley) que pesan aproximadamente 250-300 gramos se seleccionaron para el estudio. Los animales permanecieron en el animalario mantenido a una temperatura de 24±2 ºC, una humedad relativa de 65 % y un ciclo de 12 horas de luz/oscuridad. Las ratas se aclimataron durante dos semanas y durante este periodo tuvieron acceso a una dieta de pienso estándar y agua *ad libitum.* Después de dos semanas de aclimatación, todas las ratas se tuvieron en ayunas durante toda la noche antes de inyectarles Triton WR-1339 (Tiloxapol) y la administración de estándar/extractos de prueba Los animales se dividieron en ocho grupos. Se dio el siguiente tratamiento a las ratas que se tuvieron en ayunas durante toda la noche:

Grupo I: Control normal (solo vehículo)
Grupo II: Triton WR-1339 (300 mg/kg, intraperitoneal)
Grupo III: Triton WR-1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de extracto de semilla de amla preparado según el ejemplo 1 (2,5 mg/kg, vía oral)
Grupo IV: Triton WR-1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de extracto de amla preparado según el ejemplo 3 (40 mg/kg, vía oral)

Grupo V: Triton WR-1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de extracto de amla preparado según el ejemplo 4 (40 mg/kg, vía oral)
Grupo VI: Triton WR-1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de extracto de amla preparado según el ejemplo 5 (40 mg/kg, vía oral)
Grupo VII: Triton WR-1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de extracto de amla preparado según el ejemplo 6 (40 mg/kg, vía oral)
Grupo VIII: Triton WR-1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de Atorvastatina (10 mg/kg, vía oral)

[0105] Se privó de comida a los animales durante las siguientes 24 horas, pero tuvieron acceso a agua *ad libitum.* Después de 24 horas de tratamiento con fármacos, se recogieron 2 ml de muestras de sangre del plexo retro-orbital. Se permitió que la sangre se coagulara y luego se centrifugó a 3 000 rpm durante 10 minutos y el suero se extrajo cuidadosamente y se recogió en tubos separados. El suero se analizó para observar los niveles de colesterol total (TC), triglicéridos (TG), lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) utilizando un analizador automático.

Tabla 3(A): Perfil lipídico (mg/dl) de ratas tratadas con extracto de semilla de amla y extracto de frutos de amla

Grupos	**TC**		**TG**		**HDL**	
	Antes	**Después**	**Antes**	**Después**	**Antes**	**Después**
Control normal	95,52	99,36	42,38	48,51	31,02	32,11
Solo Triton	102,52	348,87	61,51	614,21	41,90	51,22
Triton + extracto de semillas de amla preparado según el ejemplo 1 (2,5 mg/kg)	108,22	112,23	61,23	95,88	39,46	47,51
Triton + extracto de amla preparado según el ejemplo 3 (40 mg/kg)	96,52	128,25	54,55	102,34	44,25	48,35
Triton + extracto de amla preparado según el ejemplo 4 (40 mg/kg)	108,24	124,55	59,32	115,36	41,26	46,52
Triton + extracto de amla preparado según el ejemplo 5 (40 mg/kg)	100,66	135,36	65,25	132,22	38,66	40,11
Triton + extracto de amla preparado según el ejemplo 6 (40 mg/kg)	97,56	132,66	60,21	125,54	34,59	36,54
Triton + atorvastatina (10 mg/kg)	97,33	132,58	48,99	218,66	35,11	33,84

Tabla 3(B): Perfil lipídico (mg/dl) de ratas tratadas con extracto de semilla de amla y extracto de frutos de amla

Grupos	**LDL**		**VLDL**	
	Antes	**Después**	**Antes**	**Después**
Control normal	56,03	57,54	8,47	9,70
Solo Triton	48,32	174,80	12,30	122,84
Triton + extracto de semillas de amla preparado según el ejemplo 1 (2,5 mg/kg)	56,52	45,55	12,24	19,17
Triton + extracto de amla preparado según el ejemplo 3 (40 mg/kg)	41,36	59,43	10,91	20,46
Triton + extracto de amla preparado según el ejemplo 4 (40 mg/kg)	55,11	54,95	11,86	23,07
Triton + extracto de amla preparado según el ejemplo 5 (40 mg/kg)	48,95	68,80	13,05	26,44
Triton + extracto de amla preparado según el ejemplo 6 (40 mg/kg)	50,92	71,01	12,04	25,10
Triton + atorvastatina (10 mg/kg)	52,43	55,00	9,79	43,73

[0106] En este estudio, se comparó la efectividad del extracto de semillas de amla (2,5 mg de extracto/kg de sujeto) con otros extractos de amla fabricados como en los Ejemplos 3 a 6.

[0107] Los resultados indicaron que antes del tratamiento, el valor de referencia de colesterol total, triglicéridos, HDL, LDL y VLDL en todos los grupos eran comparables. Inyectar solo Triton (Grupo II) aumentó considerablemente el nivel de colesterol total a 348,87 mg/dl. Mientras en el Grupo III, administración oral simultánea de extracto de semilla de amla en ratas a las que se les inyectó Triton, el nivel de colesterol era de 112,23 mg/dl que era 3,1 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0108] En el Grupo II la inyección de Triton aumentó el nivel de triglicéridos hasta 614,21 mg/dl. Mientras en el Grupo III, administración oral simultánea de extracto de semilla de amla en ratas a las que se les inyectó Triton, el nivel de triglicéridos era de 95,88 mg/dl que era 6,4 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0109] En el grupo al que se le administró solo Triton, después de la inyección de Triton la proporción de HDL en relación con el colesterol total era de 0,14. Mientras en el Grupo III, administración oral simultánea de extracto de semilla de amla en ratas a las que se les inyectó Triton, la proporción de colesterol HDL en relación con el colesterol total era de 0,42 que era 3 veces mayor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0110] En el Grupo II la inyección de Triton aumentó el nivel de LDL hasta 174,8 mg/dl. Mientras en el Grupo III, administración oral simultánea de extracto de semilla de amla en ratas a las que se les inyectó Triton, el nivel de LDL era de 45,55 mg/dl que era 3,8 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0111] En el Grupo II la inyección de Triton aumentó el nivel de VLDL hasta 122,84 mg/dl. Mientras en el Grupo III, administración oral simultánea de extracto de semilla de amla en ratas a las que se les inyectó Triton, el nivel de VLDL era de 19,17 mg/dl que era 6,4 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0112] Los otros extractos de amla (preparados en los ejemplos 3 a 6) a 40 mg/kg también fueron capaces de reducir el nivel de colesterol y triglicéridos pero fueron menos eficaces que el extracto de semillas de amla preparado en el ejemplo 1. El fármaco de atorvastatina estándar también fue eficaz en la reducción de colesterol así como los niveles de triglicéridos (Grupo VIII).

Ejemplo 21

Estudio de dosis única para evaluar la actividad hipolipemiante del extracto de semillas de amla en comparación con otros extractos de amla utilizando un modelo de dislipidemia inducida por Triton WR-1339

[0113] Cuarenta y ocho ratas albinas macho (cepa Sprague Dawley) que pesan aproximadamente 250-300 gramos se seleccionaron para el estudio. Los animales permanecieron en el animalario mantenido a una temperatura de 24±2 ºC, una humedad relativa de 65 % y un ciclo de 12 horas de luz/oscuridad. Las ratas se aclimataron durante dos semanas y durante este periodo tuvieron acceso a una dieta de pienso estándar y agua *ad libitum.* Después de dos semanas de aclimatación, todas las ratas se tuvieron en ayunas durante toda la noche antes de inyectarles Triton WR-1339 (Tiloxapol) y la administración de estándar/extractos de prueba Los animales se dividieron en ocho grupos. Se dio el siguiente tratamiento a las ratas que se tuvieron en ayunas durante toda la noche:

Grupo I: Control normal (solo vehículo)
Grupo II: Triton WR-1339 (300 mg/kg, intraperitoneal)
Grupo III: Triton WR-1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido por extracto de semilla de amla preparado según el ejemplo 1 (2,5 mg/kg, vía oral)
Grupo IV: Triton WR-1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido por extracto de amla preparado según el ejemplo 3 (2,5 mg/kg, vía oral)
Grupo V: Triton WR-1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido por extracto de amla preparado según el ejemplo 4 (2,5 mg/kg, vía oral)
Grupo VI: Triton WR-1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido por extracto de amla preparado según el ejemplo 5 (2,5 mg/kg, vía oral)
Grupo VII: Triton WR-1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido por extracto de amla preparado según el ejemplo 6 (2,5 mg/kg, vía oral)
Grupo VIII: Triton WR-1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido por Atorvastatina (10 mg/kg, vía oral)

[0114] Se privó de comida a los animales durante las siguientes 24 horas, pero tuvieron acceso a agua *ad libitum.* Después de 24 horas de tratamiento con fármacos, se recogieron 2 ml de muestras de sangre del plexo retro-orbital. Se permitió que la sangre se coagulara y luego se centrifugó a 3 000 rpm durante 10 minutos y el suero se extrajo cuidadosamente y se recogió en tubos separados. El suero se analizó para observar los niveles

de colesterol total (TC), triglicéridos (TG), lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) utilizando un analizador automático.

Tabla 4(A): Perfil lipídico (mg/dl) de ratas tratadas con extracto de semilla de amla y extracto de frutos de amla en el mismo nivel de dosis

Grupos	**TC**		**TG**		**HDL**	
	Antes	**Después**	**Antes**	**Después**	**Antes**	**Después**
Control normal	102,25	101,56	56,33	54,96	39,65	42,51
Solo Triton	91,55	385,54	55,69	644,65	44,52	59,54
Triton + extracto de semillas de amla preparado según el ejemplo 1 (2,5 mg/kg)	94,66	108,25	60,23	111,36	38,41	46,23
Triton + extracto de amla preparado según el ejemplo 3 (2,5 mg/kg)	100,58	145,24	51,63	140,63	41,55	42,65
Triton + extracto de amla preparado según el ejemplo 4 (2,5 mg/kg)	106,52	139,66	49,36	131,33	42,36	46,31
Triton + extracto de amla preparado según el ejemplo 5 (2,5 mg/kg)	95,66	159,65	68,55	151,33	35,65	37,63
Triton + extracto de amla preparado según el ejemplo 6 (2,5 mg/kg)	98,69	152,36	67,96	148,65	37,55	39,54
Triton + atorvastatina (10 mg/kg)	99,83	122,54	46,59	211,06	39,51	36,66

Tabla 4(B): Perfil lipídico (mg/dl) de ratas tratadas con extracto de semilla de amla y extracto de frutos de amla en el mismo nivel de dosis

Grupos	**LDL**		**VLDL**	
	Antes	**Después**	**Antes**	**Después**
Control normal	51,33	48,06	11,26	10,99
Solo Triton	35,89	197,07	11,13	128,93
Triton + extracto de semillas de amla preparado según el ejemplo 1 (2,5 mg/kg)	44,20	39,75	12,04	522,27
Triton + extracto de amla preparado según el ejemplo 3 (2,5 mg/kg)	48,70	74,47	10,32	28,12
Triton + extracto de amla preparado según el ejemplo 4 (2,5 mg/kg)	54,28	67,09	9,87	26,26
Triton + extracto de amla preparado según el ejemplo 5 (2,5 mg/kg)	46,3	91,76	13,71	30,26
Triton + extracto de amla preparado según el ejemplo 6 (2,5 mg/kg)	47,54	83,09	13,59	29,73
Triton + atorvastatina (10 mg/kg)	51,00	43,67	9,31	42,21

[0115] En este estudio, se comparó el extracto de semillas de amla (2,5 mg de extracto/kg de sujeto) con otros extractos de amla fabricados como en los ejemplos 3 a 6 al mismo nivel de dosis, es decir, a 2,5 mg de extracto/kg de sujeto.

[0116] Los resultados indicaron que antes del tratamiento, el valor de referencia de colesterol total, triglicéridos, HDL, LDL y VLDL en todos los grupos eran comparables. Inyectar solo Triton (Grupo II) aumentó considerablemente el nivel de colesterol total a 385,54 mg/dl. Mientras en el Grupo III, la administración oral

simultánea de extracto de semilla de amla en ratas a las que se les inyectó Triton, el nivel de colesterol era de 108,25 mg/dl que era 3,6 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0117] En el Grupo II la inyección de Triton aumentó el nivel de triglicéridos hasta 644,65 mg/dl. Mientras en el Grupo III, administración oral simultánea de extracto de semilla de amla en ratas a las que se les inyectó Triton, el nivel de triglicéridos era de 111,36 mg/dl que era 5,8 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0118] En el grupo al que se le administró solo Triton, después de la inyección de Triton la proporción de HDL en relación con el colesterol total era de 0,15. Mientras en el Grupo III, administración oral simultánea de extracto de semilla de amla en ratas a las que se les inyectó Triton, la proporción de colesterol HDL en relación con el colesterol total era de 0,42 que era 2,8 veces mayor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0119] En el Grupo II la inyección de Triton aumentó el nivel de LDL hasta 197,07 mg/dl. Mientras en el Grupo III, administración oral simultánea de extracto de semilla de amla en ratas a las que se les inyectó Triton, el nivel de LDL era de 39,75 mg/dl que era 4,9 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0120] En el Grupo II la inyección de Triton aumentó el nivel de VLDL hasta 128,93 mg/dl. Mientras en el Grupo III, la administración oral simultánea de extracto de semilla de amla en ratas a las que se les inyectó Triton, el nivel de VLDL era de 22,27 mg/dl que era 5,8 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0121] Los otros extractos de amla (preparados en los ejemplos 3 a 6) a 2,5 mg/kg fueron capaces de reducir el nivel de colesterol y triglicéridos solo hasta cierto punto, pero no fueron tan eficaces como el extracto de semillas de amla en los mismos niveles de dosis. No obstante, los estudios llevados a cabo indican que el fármaco de atorvastatina estándar era eficaz para reducir el colesterol así como los niveles de triglicéridos (Grupo VIII) pero menos eficaz en comparación con el extracto de semillas de amla.

Ejemplo 22

Actividad antidiabética del extracto de semillas de amla en ratas con diabetes inducida con estreptozocina

[0122] El extracto de semillas de amla preparado como en el ejemplo 1 se evaluó para observar su actividad antidiabética en ratas de laboratorio. Se mantuvieron ratas wistar albinas macho/hembra según las directrices normalizadas: alojadas en jaulas de polipropileno, en ciclos de 12 horas de luz artificial y de oscuridad a una temperatura de 24 ± 2 °C, con una dieta de pienso estándar y agua *ad libitum.* Los animales se aclimataron a las condiciones del animalario durante una semana antes de empezar el experimento.

[0123] La diabetes se indujo inyectando 35 mg/kg de estreptozocina disuelta en tampón de citrato de sodio 0,1 M de pH 4,5, por vía intraperitoneal. Cinco días tras la inducción de la diabetes (día 1 del estudio), se tuvieron a los animales en ayunas durante 12 horas y el nivel de glucosa en sangre (FBG, por sus siglas en inglés) en ayunas se estimó para el diagnóstico de ratas diabéticas. Los animales con un FBG de más de 200 mg/dl se consideraron diabéticos. Los animales diabéticos se dividieron al azar en tres grupos de seis animales cada uno.

[0124] La siguiente tabla 5 muestra la pauta de tratamiento proporcionada al respectivo grupo de animales durante 28 días.

Tabla 5: Pauta de tratamiento

Grupos	**Fármacos administrados**
Grupo I	Vehículo durante 28 días
Grupo II	Glibenclamida (0,5 mg/kg) durante 28 días
Grupo III	Extracto de semilla de amla según el Ejemplo 1 (10 mg/kg) durante 28 días

[0125] El nivel de glucosa en sangre en ayunas y el peso corporal se midió inicialmente y luego en el Día 7, Día 14, Día 21 y Día 28 del estudio. El nivel de CRP en el plasma se midió inicialmente y luego en el Dia 28 del estudio.

Tabla 6: Nivel de glucosa en sangre (FBG) en ayunas de ratas diabéticas tratadas con extracto de semilla de amla

Grupos	**Tratamiento**	**Nivel de glucosa en sangre en ayunas (mg/dl)**				
		Día 1 (inicial)	**Día 7**	**Día 14**	**Día 21**	**Día 28**
Grupo I	Vehículo	355	382	391	411	431

Grupos	Tratamiento	Nivel de glucosa en sangre en ayunas (mg/dl)				
		Día 1 (inicial)	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28
Grupo II	Glibenclamida	406	211	179	136	109
Grupo III	Extracto de semilla de amla según el Ejemplo 1	369	266	211	172	135

Tabla 7: Nivel de CRP en ayunas de ratas diabéticas tratadas con extracto de semilla de amla

Grupos	Tratamiento	Nivel de CRP (mg/L)	
		Día 1 (inicial)	Día 28 (final)
Grupo I	Vehículo	10,3	11,3
Grupo II	Glibenclamida	10,8	9,6
Grupo III	Extracto de semilla de amla según el Ejemplo 1	9,9	6,3

[0126] Tal como se muestra en los resultados, una única inyección intraperitoneal de estreptozocina aumentó el nivel de glucosa en sangre hasta un nivel muy alto y convirtió a las ratas en diabéticas. El tratamiento de las ratas diabéticas con extracto de semillas de amla redujo de manera significativa el nivel de glucosa en sangre en 28 días. Esto corresponde a una reducción de 2,7 veces en el nivel de glucosa en sangre de ratas diabéticas en comparación con la referencia (Día 1) después de la administración de extracto de semilla de amla durante 28 días. El tratamiento con glibenclamida también disminuyó el nivel de glucosa en sangre hasta un nivel casi normal en 28 días. El peso corporal de las ratas diabéticas tratadas con extracto de semilla de amla se recuperó de manera considerable en comparación con el grupo al que se le administró un vehículo. El nivel de CRP disminuyó de forma considerable en el grupo tratado con extracto de semilla de amla, pero la glibenclamida no redujo el nivel de CRP de manera significativa en comparación con el valor de CRP inicial. El tratamiento durante 28 días con extracto de semilla de amla en ratas diabéticas redujo el nivel de CRP 1,6 veces en comparación con el nivel inicial.

Ejemplo 23

Actividad hipolipemiante del extracto de semilla de amla en conejos alimentados con colesterol

[0127] El extracto de semillas de amla preparado como en el ejemplo 1 se evaluó para observar su actividad hipolipemiante en ratas de laboratorio. Para el experimento se utilizaron conejos blancos de Nueva Zelanda macho que pesan entre 1,5 y 2 kg. Se alojaron en un espacio con temperatura controlada (25±2 °C) en jaulas limpias de acero inoxidable con ciclos de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad y alimentados con una dieta de pienso normal y agua *ad libitum.*

[0128] Después del periodo de aclimatación de 10 días, se recogieron muestras de sangre de la vena auricular marginal de todos los conejos. Se dejó que la sangre se coagulara y luego se centrifugó a 3 000 rpm durante 10 minutos y el suero se extrajo cuidadosamente y se recogió en tubos separados. El suero se analizó para observar los niveles de colesterol total (TC), triglicéridos (TG), lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) utilizando un analizador automático.

[0129] Después de tomar un perfil lipídico de referencia los animales se dividieron en cuatro grupos comprendiendo seis animales en cada grupo. Se proporcionó el siguiente tratamiento a los animales durante los tres meses:

Tabla 8: Pauta de tratamiento

Grupos	Fármacos administrados
Grupo I	Vehículo durante 3 meses
Grupo II	Colesterol (100 mg/kg) + Vehículo durante 3 meses
Grupo III	Colesterol (100 mg/kg) + Extracto de semilla de amla según el Ejemplo 1 (10 mg/kg) durante 3 meses
Grupo IV	Colesterol (100 mg/kg) + Atorvastatina (10 mg/kg) durante 3 meses

[0130] Se recogieron muestras de sangre de todos los conejos tras 3 meses de tratamiento y se analizó el suero para observar el perfil lipídico. Después de recoger la sangre, los animales fueron sacrificados tras inyectarles pentobarbital y la aorta se extrajo mediante disección, se lavó con solución salina y se conservó en formalina al 10 % para su histopatología. Las secciones se cortaron utilizando un microtomo y se tiñeron con tinción

hematoxilina-eosina y se montaron en portaobjetos de vidrio. Los portaobjetos se observaron al microscopio y el grosor de la íntima media (IMT, por sus siglas en inglés) se midió mediante histomorfometría.

Tabla 9(A): Perfil lipídico (mg/dl) de conejos tratados con extracto de semilla de amla

Grupos	**TC**		**TG**		**HDL**	
	Antes	**Después**	**Antes**	**Después**	**Antes**	**Después**
Control normal (solo vehículo)	58,23	56,77	62,25	60,05	16,81	15,89
Colesterol + Vehículo	54,88	219,81	59,26	188,25	14,58	11,5
Colesterol + Extracto de semilla de amla	56,36	94,18	60,61	83,23	15,42	37,27
Colesterol + Atorvastatina	53,69	118,9	58,28	78,67	14,15	20,37

Tabla 9(B): Perfil lipídico (mg/dl) de conejos tratados con extracto de semilla de amla

Grupos	**LDL**		**VLDL**	
	Antes	**Después**	**Antes**	**Después**
Control normal (solo vehículo)	28,97	28,37	12,45	12,01
Colesterol + Vehículo	28,45	170,66	11,85	37,65
Colesterol + Extracto de semilla de amla	28,82	40,26	12,12	16,65
Colesterol + Atorvastatina	27,88	82,8	11,66	15,73

Tabla 10: Grosor de la íntima media (IMT) de conejos tratados con extracto de semilla de amla

Grupos	**Grosor de la íntima media aórtica (µm)**
Control normal (solo vehículo)	49,52
Colesterol + Vehículo	123,24
Colesterol + Extracto de semilla de amla	66,21
Colesterol + Atorvastatina	112,36

[0131] Los resultados indican que, antes del tratamiento, el valor de referencia de colesterol total, triglicéridos, HDL, LDL y VLDL en todos los grupos era comparable. Alimentarlos con colesterol durante tres meses aumentó los niveles de colesterol total y triglicéridos hasta niveles muy altos.

[0132] Administrar solo colesterol (Grupo II) aumentó considerablemente el nivel de colesterol total hasta 219,81 mg/dl. Mientras en el Grupo III, administración oral de colesterol + extracto de semilla de amla, el nivel de colesterol total era de 94,18 mg/dl que era 2,3 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo colesterol.

[0133] En el Grupo II la administración de colesterol aumentó el nivel de triglicéridos hasta 188,25 mg/dl. Mientras en el Grupo III, administración oral de colesterol + extracto de semilla de amla, el nivel de triglicéridos era de 83,23 mg/dl que era 2,3 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo colesterol.

[0134] En el grupo III, administración oral de colesterol + extracto de semilla de amla aumentó el HDL (colesterol bueno) de forma considerable desde un valor de referencia de 15,42 hasta 37,27 después de 3 meses de tratamiento. Esto fue un aumento de 2,4 veces en el colesterol HDL después de 3 meses de tratamiento.

[0135] Tras la administración de colesterol, el grupo al que se le administró solo colesterol mostró una proporción de HDL en relación con colesterol total de 0,05. Mientras en el Grupo III, administración oral de colesterol + extracto de semilla de amla, la proporción de colesterol HDL en relación con colesterol total era de 0,39, que era 7,8 veces mayor en comparación con el grupo al que se le administró solo colesterol.

[0136] En el Grupo II solo la administración de colesterol aumentó el nivel de LDL hasta 170,66 mg/dl. Mientras en el Grupo III, administración oral de colesterol + extracto de semilla de amla, el nivel de LDL era de 40,26 mg/dl que era 4,2 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0137] En el Grupo II solo la administración de colesterol aumentó el nivel de VLDL hasta 37,65 mg/dl. Mientras en el Grupo III, administración oral de colesterol + extracto de semilla de amla, el nivel de VLDL era de 16,65 mg/dl que era 2,3 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo colesterol.

[0138] La atorvastatina también disminuyó el colesterol total y el nivel de triglicéridos de manera significativa en comparación con el grupo de control sin tratar, pero el extracto de semillas de amla era mejor, sobre todo al aumentar el nivel de HDL.

[0139] Además, la administración de extracto de semilla de amla mostró una reducción de 1,9 veces en el grosor de la íntima media de la aorta en conejos en comparación con un grupo de control sin tratar.

Ejemplo 24

Actividad de prevención de la caída del cabello y de fomento del crecimiento del cabello del extracto de semillas de amla en humanos

Método:

[0140] 10 sujetos humanos que sufren de alopecia y caída del cabello severa (detectada por un dermatólogo) se dividieron aleatoriamente en dos grupos comprendiendo 5 sujetos cada uno.

Grupo I - Grupo de extracto de semillas de amla preparado según el Ejemplo 1
Grupo II - Grupo placebo

[0141] Se prohibió a todos los sujetos tomar cualquier tipo de medicamento (oral o tópico) que presentase un fomento del crecimiento del cabello, como minodixil, finasterida, etc., durante un mes antes del inicio del estudio. Los sujetos del Grupo I se aplicaron 5 ml de aceite de coco que contenía un 5 % de extracto de semilla de amla dos veces al día en el área afectada y también tomaron 100 mg de cápsulas de extracto de semilla de amla dos veces al día. A los sujetos del grupo de placebo se les proporcionó aceite de coco (sin extracto de semillas de amla) para que se lo aplicaran dos veces al día en el área afectada y se les proporcionó cápsulas de placebo para que se las tomaran dos veces al día. El tratamiento se continuó durante 3 meses y un dermatólogo tomó observaciones antes y después del periodo de estudio. También se determinó la longitud y el grosor de cinco cabellos arrancados aleatoriamente de cada sujeto.

Resultados:

[0142] Los cabellos de los sujetos tratados con extracto de semilla de amla eran brillantes, lustrosos y más densos en comparación con el grupo de placebo. La caída del cabello casi se detuvo en los sujetos tratados con extractos de semilla de amla. En cambio, los sujetos del grupo de placebo observaron una caída del cabello a la misma velocidad que antes de empezar el tratamiento. La longitud media de los cabellos de los sujetos tratados con extracto de semilla de amla era de aproximadamente un 25 % más que los sujetos del grupo de placebo. El grosor de los cabellos también era de aproximadamente un 20 % más en el grupo de extracto de semilla de amla en comparación con sujetos en el grupo de placebo. Por tanto, el extracto de semilla de amla fue útil para disminuir la caída del cabello así como para fomentar la caída del cabello. El extracto de semillas de amla también hizo que el cabello fuera más lustroso y brillante.

Ejemplo 25

Actividad hipolipemiante de extracto de semillas de amla en comparación con otros extractos de amla utilizando un modelo de dislipidemia inducida por Triton WR-1339

[0143] Cuarenta y ocho ratas albinas macho (cepa Sprague Dawley) que pesan aproximadamente 250-300 gramos se seleccionaron para el estudio. Los animales permanecieron en el animalario mantenido a una temperatura de 24±2 ºC, una humedad relativa de 65 % y un ciclo de 12 horas de luz/oscuridad. Las ratas se aclimataron durante dos semanas y durante este periodo tuvieron acceso a una dieta de pienso estándar y agua *ad libitum.* Después de dos semanas de aclimatación, todas las ratas se tuvieron en ayunas durante toda la noche antes de inyectarles Triton WR-1339 (Tiloxapol) y la administración de estándar/extractos de prueba Los animales se dividieron en doce grupos. Se dio el siguiente tratamiento a las ratas que se tuvieron en ayunas durante toda la noche:

Grupo I: Control normal (solo vehículo)
Grupo II: Triton WR 1339 (300 mg/kg, intraperitoneal)
Grupo III: Triton WR 1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de acetato de etilo de extracto de metanol de semillas de amla preparado según el ejemplo 1 (2,5 mg/kg, vía oral)
Grupo IV: Triton WR 1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de la parte acuosa del extracto de metanol de semilla de amla preparado según el ejemplo 1 (2,5 mg/kg, vía oral)
Grupo V: Triton WR 1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de extracto de acetato de etilo de semilla de amla preparado según el ejemplo 2 (2,5 mg/kg, vía oral)
Grupo VI: Triton WR 1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de polvo de semillas de amla secas preparado según el ejemplo 7 (2,5 mg/kg, vía oral)

Grupo VII: Triton WR 1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de extracto acuoso de polvo de semillas de amla secas preparado según el ejemplo 8 (2,5 mg/kg, vía oral)
Grupo VIII: Triton WR 1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de extracto de metanol de polvo de semillas de amla secas preparado según el ejemplo 8 (2,5 mg/kg, vía oral)
Grupo IX: Triton WR 1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de polvo de frutos de amla secos preparado según el ejemplo 10 (2,5 mg/kg, vía oral)
Grupo X: Triton WR-1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de extracto acuoso de polvo de frutos de amla secos preparado según el ejemplo 11 (2,5 mg/kg, vía oral)
Grupo XI: Triton WR-1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de extracto de metanol de polvo de frutos de amla secos preparado según el ejemplo 12 (2,5 mg/kg, vía oral)
Grupo XII: Triton WR-1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de Atorvastatina (2,5 mg/kg, vía oral)

[0144] Se privó de comida durante a los animales las siguientes 24 horas, pero tuvieron acceso a agua *ad libitum.* Después de 24 horas de tratamiento con fármacos, se recogieron 2 ml de muestras de sangre del plexo retro-orbital. Se dejó que la sangre se coagulara y luego se centrifugó a 3 000 rpm durante 10 minutos y el suero se extrajo cuidadosamente y se recogió en tubos separados. El suero se analizó para observar los niveles de colesterol total (TC), triglicéridos (TG), lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) utilizando un analizador automático.

Tabla 11(A): Perfil lipídico (mg/dl) de ratas tratadas con extracto de semilla de amla y extracto de frutos de amla en el mismo nivel de dosis

Grupos	**TC**		**TG**		**HDL**	
	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después
Control normal	90,15	94,16	58,18	61,65	30,12	31,01
Solo Triton	98,92	288,18	60,15	581,42	35,59	42,62
Triton + extracto de EtOAc de semilla de amla preparado según el ejemplo 1 (2,5 mg/kg)	101,12	106,41	62,42	90,47	34,14	48,15
Triton + parte acuosa de semila de amla preparado según el ejemplo 1 (2,5 mg/kg)	102,54	266,25	54,57	556,35	32,24	37,54
Triton + extracto de EtOAc de semilla de amla preparado según el ejemplo 2 (2,5 mg/kg)	99,35	122,25	55,87	99,5	36,25	42,51
Triton + polvo de semilla de amla seca preparado según el ejemplo 7 (2,5 mg/kg)	97,54	275,56	58,65	541,35	31,25	36,65
Triton + extracto acuoso de polvo de semilla de amla preparado según el ejemplo 8 (2,5 mg/kg)	104,55	284,66	61,23	571,44	33,14	38,51
Triton + extracto de metanol de polvo de semilla de amla preparado según el ejemplo 9 (2,5 mg/kg)	96,55	251,64	55,69	552,36	35,68	39,41
Triton + polvo de fruto de amla seco preparado según el ejemplo 10 (2,5 mg/kg)	95,64	253,14	59,68	575,36	33,54	37,74
Triton + extracto acuoso de polvo de fruto de amla preparado según el ejemplo 11 (2,5 mg/kg)	101,22	265,33	59,85	547,96	31,54	41,52
Triton + extracto de metanol de polvo de semilla de amla preparado según el ejemplo 12 (2,5 mg/kg)	99,64	254,39	60,77	577,63	34,88	40,57
Triton + atorvastatina (2,5 mg/kg)	104,44	123,14	49,54	195,25	36,54	39,56

Tabla 11(B): Perfil lipídico (mg/dl) de ratas tratadas con extracto de semilla de amla y extracto de frutos de amla en el mismo nivel de dosis

Grupos	**LDL**		**VLDL**	
	Antes	Después	Antes	Después
Control normal	48,39	50,82	11,64	12,33

Grupos	LDL		VLDL	
	Antes	Después	Antes	Después
Solo Triton	51,3	129,28	12,03	116,28
Triton + extracto de EtOAc de semilla de amla preparado según el ejemplo 1 (40 mg/kg)	54,5	40,17	12,48	18,09
Triton + parte acuosa de semila de amla preparado según el ejemplo 1 (2,5 mg/kg)	59,39	117,44	10,91	111,27
Triton + extracto de EtOAc de semilla de amla preparado según el ejemplo 2 (2,5 mg/kg)	51,93	59,84	11,17	19,09
Triton + polvo de semilla de amla seca preparado según el ejemplo 7 (2,5 mg/kg)	54,56	130,64	11,73	108,27
Triton + extracto acuoso de polvo de semilla de amla preparado según el ejemplo 8 (2,5 mg/kg)	59,16	131,86	12,25	114,29
Triton + extracto de metanol de polvo de semilla de amla preparado según el ejemplo 9 (2,5 mg/kg)	49,73	101,76	11,14	110,47
Triton + polvo de fruto de amla seco preparado según el ejemplo 10 (2,5 mg/kg)	50,16	100,33	11,94	115,07
Triton + extracto acuoso de polvo de fruto de amla preparado según el ejemplo 11 (2,5 mg/kg)	57,71	114,22	11,97	109,59
Triton + extracto de metanol de polvo de semilla de amla preparado según el ejemplo 12 (2,5 mg/kg)	52,61	98,29	12,15	115,53
Triton + atorvastatina (2,5 mg/kg)	57,99	44,53	9,91	39,05

[0145] En este estudio, se comparó el extracto de semillas de amla (2,5 mg de extracto/kg de peso corporal) fabricados en los ejemplos 1 y 2 con otros extractos de amla fabricados como en los ejemplos 7 a 12 al mismo nivel de dosis, es decir, a 2,5 mg de extracto/kg de peso corporal.

[0146] Los resultados indican que antes del tratamiento, el valor de referencia de colesterol total, triglicéridos, HDL, LDL y VLDL en todos los grupos era comparable.

[0147] Inyectar solo Triton (Grupo II) aumentó considerablemente el nivel de colesterol total hasta 288,18 mg/dl. Mientras en el Grupo III, administración oral simultánea de extracto de semilla de amla preparado según el ejemplo 1 en ratas a las que se les inyectó Triton, el nivel de colesterol era de 106,41 mg/dl que era 2,7 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0148] En el Grupo II la inyección de Triton aumentó el nivel de triglicéridos hasta 581,42 mg/dl. Mientras en el Grupo III, administración oral simultánea de extracto de semilla de amla preparado según el ejemplo 1 en ratas a las que se les inyectó Triton, el nivel de triglicéridos era de 90,47 mg/dl que era 6,4 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0149] En el grupo al que se le administró solo Triton, después de la inyección de Triton la proporción de HDL en relación con colesterol total era de 0,15. Mientras en el Grupo III, administración oral simultánea de extracto de semilla de amla preparado según el ejemplo 1 en ratas a las que se les inyectó Triton, la proporción de colesterol HDL en relación con el colesterol total era de 0,45 que era 3 veces mayor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0150] En el Grupo II la inyección de Triton aumentó el nivel de LDL hasta 129,28 mg/dl. Mientras en el Grupo III, administración oral simultánea de extracto de semilla de amla (preparado según el Ejemplo 1) en ratas a las que se les inyectó Triton, el nivel de LDL era de 40,17 mg/dl que era 3,2 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0151] En el Grupo II la inyección de Triton aumentó el nivel de VLDL hasta 116,28 mg/dl. Mientras en el Grupo III, administración oral simultánea de extracto de semilla de amla (preparado según el Ejemplo 1) en ratas a las que se les inyectó Triton, el nivel de VLDL era de 18,09 mg/dl que era 6,4 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0152] El extracto de acetato de etilo de semilla de amla (preparado en el ejemplo 2) a 2,5 mg/kg también fue capaz de reducir el nivel de colesterol y triglicéridos hasta cierto punto (Grupo V).

[0153] Los resultados indican que antes del tratamiento, el valor de referencia de colesterol total, triglicéridos, HDL, LDL y VLDL en todos los grupos era comparable.

[0154] Inyectar solo Triton (Grupo II) aumentó considerablemente el nivel de colesterol total hasta 288,18 mg/dl. Mientras en el Grupo III, administración oral simultánea de extracto de semilla de amla preparado según el ejemplo 2 en ratas a las que se les inyectó Triton, el nivel de colesterol era de 122,25 mg/dl que era 2,3 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0155] En el Grupo II la inyección de Triton aumentó el nivel de triglicéridos hasta 581,42 mg/dl. Mientras en el Grupo III, administración oral simultánea de extracto de semilla de amla preparado según el ejemplo 2 en ratas a las que se les inyectó Triton, el nivel de triglicéridos era de 99,5 mg/dl que era 5,8 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0156] En el grupo al que se le administró solo Triton, después de la inyección la proporción de HDL en relación con colesterol total era de 0,15. Mientras en el Grupo III, administración oral simultánea de extracto de semilla de amla preparado según el ejemplo 2 en ratas a las que se les inyectó Triton, la proporción de colesterol HDL en relación con colesterol total era de 0,35 que era 2,3 veces mayor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0157] En el Grupo II la inyección de Triton aumentó el nivel de LDL hasta 129,28 mg/dl. Mientras en el Grupo III, administración oral simultánea de extracto de semilla de amla (preparado según el Ejemplo 2) en ratas a las que se les inyectó Triton, el nivel de LDL era de 59,84 mg/dl que era 2,1 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0158] En el Grupo II la inyección de Triton aumentó el nivel de VLDL hasta 116,28 mg/dl. Mientras en el Grupo III, administración oral simultánea de extracto de semilla de amla (preparado según el Ejemplo 2) en ratas a las que se les inyectó Triton, el nivel de VLDL era de 19,9 mg/dl que era 5,8 veces menor en comparación con el grupo de solo Triton.

[0159] La parte acuosa del extracto de metanol (preparado en el ejemplo 1), el polvo de semilla de amla y otros extractos metanólicos y acuosos (preparados en el ejemplo 7 al 12) no estaban activos en la reducción de los niveles de colesterol o triglicéridos. No obstante, el fármaco de atorvastatina estándar era eficaz a la hora de reducir los niveles de colesterol así como de triglicéridos (Grupo XII), pero era menos eficaz en comparación con la parte de acetato de etilo del extracto de metanol de semillas de amla (según el ejemplo 1) o el extracto de acetato de etilo de semillas de amla (según el ejemplo 2).

Ejemplo 26

Actividad hipolipemiante del extracto de semillas de amla (Producto 3) en comparación con polvo de semilla de amla utilizando un modelo de dislipidemia inducida por Triton WR-1339

[0160] Veintiocho ratas albinas macho (cepa Sprague Dawley) que pesan aproximadamente 250-300 gramos se seleccionaron para el estudio. Los animales se mantuvieron a una temperatura de 24±2 ºC, una humedad relativa del 65 % y un ciclo de 12 horas de luz/oscuridad. Las ratas se aclimataron durante dos semanas y durante este periodo tuvieron acceso a una dieta de pienso estándar y agua *ad libitum.* Después de dos semanas de aclimatación, todas las ratas se tuvieron en ayunas durante toda la noche antes de inyectarles Triton WR-1339 (Tiloxapol) y la administración de estándar/extractos de prueba Los animales se dividieron en siete grupos. Se dio el siguiente tratamiento a las ratas que se tuvieron en ayunas durante toda la noche:

Grupo I: Control normal (solo vehículo)
Grupo II: Triton WR 1339 (300 mg/kg, intraperitoneal)
Grupo III: Triton WR 1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de la administración de producto de extracto de semilla de Amla (Producto 3) en el mismo día de la administración de Triton (0,5 mg/kg, vía oral)
Grupo IV: Triton WR 1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de Producto 2 (fracción de metanol al 50 % + fracción de metanol al 80 % + fracción acuosa) de extracto de semilla de amla en el mismo día de la administración de Triton (0,5 mg/kg, vía oral)
Grupo V: Triton WR 1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de Producto 1 (fracción de hexano) de extracto de semilla de amla en el mismo día en que se administró Triton (0,5 mg/kg, vía oral)
Grupo VI: Triton WR 1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de polvo de semillas de amla secas preparado según el ejemplo 8 (0,5 mg/kg, vía oral) El polvo de semillas de Amla secas se administró en el mismo día en que se administró Triton.
Grupo VII: Triton WR 1339 (300 mg/kg, intraperitoneal) seguido de la administración de Atorvastatina (10 mg/kg, vía oral) en el mismo día.

[0161] Se privó de comida durante a los animales las siguientes 24 horas, pero tuvieron acceso a agua *ad libitum.* Después de 24 horas de tratamiento con fármacos, se recogieron 2 ml de muestras de sangre del plexo retro-orbital. Se permitió que la sangre se coagulara y luego se centrifugó a 3 000 rpm durante 10 minutos y el suero se extrajo cuidadosamente y se recogió en tubos separados. El suero se analizó para observar los niveles

de colesterol total (TC), triglicéridos (TG), lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) utilizando un analizador automático.

Tabla 12(A): Perfil lipídico (mg/dl) de ratas tratadas con extractos de semillas de amla (producto 3) y distintas fracciones (Producto 1 y Producto 2)

Grupos	**TC**		**TG**		**HDL**	
	Antes	**Después**	**Antes**	**Después**	**Antes**	**Después**
Grupo I Control normal	91,05	95,11	57,16	60,47	29,31	30,11
Grupo II Solo Triton	109,55	386,4	49,5	583,33	32,5	43,2
Grupo III Triton + Producto 3 de semilla de Amla (0,5 mg/kg)	90,2	95,6	44,66	62,4	28,78	49,36
Grupo IV Triton + Producto 2 de semilla de Amla (0,5 mg/kg)	96,5	132,36	46,8	103,5	27,4	41,03
Grupo V Triton + Producto 1 de semilla de Amla (0,5 mg/kg)	95,7	184,5	50,12	119,4	30,9	47,97
Grupo VI Triton + polvo de semilla de amla seca preparado según el ejemplo 8 (0,5 mg/kg)	96,85	345,6	59,65	542,54	32,35	34,45
Grupo VII Triton + atorvastatina (10 mg/kg)	103,47	121,21	48,54	192,25	35,54	38,46

Tabla 12(B): Perfil lipídico (mg/dl) de ratas tratadas con extractos de semillas de amla (producto 3) y distintas fracciones (Producto 1 y Producto 2)

Grupos	**LDL**		**VLDL**	
	Antes	**Después**	**Antes**	**Después**
Grupo I Control normal	50,31	52,91	50,31	52,91
Grupo II Solo Triton	67,15	226,53	67,15	226,53
Grupo III Triton + Producto 3 de semilla de Amla (0,5 mg/kg)	60,81	33,76	60,81	33,76
Grupo IV Triton + Producto 2 de semilla de Amla (0,5 mg/kg)	62,3	70,63	62,3	70,63
Grupo V Triton + Producto 1 de semilla de Amla (0,5 mg/kg)	65,4	112,65	65,4	112,65
Grupo VI Triton + polvo de semilla de amla seca preparado según el ejemplo 8 (0,5 mg/kg)	52,57	202,64	52,57	202,64
Grupo VII Triton + atorvastatina (1 0 mg/kg)	58,22	44,30	58,22	44,30

[0162] Inyectar solo Triton (Grupo II) aumentó considerablemente el nivel de colesterol total hasta 386,4 mg/dl. Mientras en el Grupo III, tras la administración oral de Producto 3 de extracto de semilla de Amla a ratas a las que se les inyectó Triton, el nivel de colesterol era de 95,6 mg/dl. Por consiguiente, la administración de Producto 3 (Grupo III) resultó en un nivel 4 veces más bajo de colesterol en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton (Grupo II).

[0163] En el Grupo II la inyección de Triton aumentó el nivel de triglicéridos hasta 583,33 mg/dl. Mientras en el Grupo III, administración oral de Producto 3 en ratas a las que se les inyectó Triton, el nivel de triglicéridos era de 62,4 mg/dl que era 9,3 veces menor en comparación con el grupo de solo Triton (Grupo 2).

[0164] En el grupo al que se le administró solo Triton, después de la inyección de Triton la proporción de HDL en relación con colesterol total era de 0,11. Mientras en el Grupo III, la proporción de colesterol HDL en relación con colesterol total era de 0,51, que era 4,6 veces mayor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0165] En el Grupo II la inyección de Triton aumentó el nivel de LDL hasta 226,53 mg/dl. Mientras en el Grupo III, el nivel de LDL era de 33,76 mg/dl que era 6,7 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0166] En el Grupo II la inyección de Triton aumentó el nivel de VLDL hasta 116,67 mg/dl. Mientras en el Grupo III, el nivel de VLDL era de 12,48 mg/dl, que era 9,3 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0167] Inyectar solo Triton (Grupo II) aumentó considerablemente el nivel de colesterol total hasta 386,4 mg/dl. Mientras en el Grupo IV (Tritón seguido de la administración de Producto 2), el nivel de colesterol era de 132,36 mg/dl que era 2,9 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0168] En el Grupo II la inyección de Triton aumentó el nivel de triglicéridos hasta 583,33 mg/dl. Mientras en el Grupo IV, administración oral de Producto 2 en ratas a las que se les inyectó Triton, el nivel de triglicéridos era de 103,5 mg/dl que era 5,6 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0169] En el grupo al que se le administró solo Triton, después de la inyección de Triton la proporción de HDL en relación con colesterol total era de 0,11. Mientras en el Grupo IV, administración oral de extracto de semilla de amla (Producto 2) en ratas a las que se les inyectó Triton, la proporción de colesterol HDL en relación con colesterol total era de 0,30 que era 2,7 veces mayor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0170] En el Grupo II la inyección de Triton aumentó el nivel de LDL hasta 226,53 mg/dl. Mientras en el Grupo IV, administración oral de Producto 2 en ratas a las que se les inyectó Triton, el nivel de LDL era de 70,63 mg/dl que era 3,2 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0171] En el Grupo II la inyección de Triton aumentó el nivel de VLDL hasta 116,67 mg/dl. Mientras en el Grupo IV, administración oral de Producto 2 en ratas a las que se les inyectó Triton, el nivel de VLDL era de 20,7 mg/dl que era 5,6 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton (Grupo II).

[0172] Inyectar solo Triton (Grupo II) aumentó considerablemente el nivel de colesterol total a 386,4 mg/dl. Mientras en el Grupo V, administración oral simultánea de Producto 1 preparado según el ejemplo 13 en ratas a las que se les inyectó Triton, el nivel de colesterol era de 184,5 mg/dl que era 2,09 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0173] En el Grupo II la inyección de Triton aumentó el nivel de triglicéridos hasta 583,33 mg/dl. Mientras en el Grupo V, administración oral simultánea de Producto 1 en ratas a las que se les inyectó Triton, el nivel de triglicéridos era de 119,4 mg/dl que era 4,9 veces menor en comparación con el grupo de al que se le administró solo Triton.

[0174] En el grupo al que se le administró solo Triton, después de la inyección la proporción de HDL en relación con colesterol total era de 0,11. Mientras en el Grupo V, administración oral simultánea de Producto 1 preparado según el ejemplo 13 en ratas a las que se les inyectó Triton, la proporción de colesterol HDL en relación con colesterol total era de 0,26 que era 2,4 veces mayor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0175] En el Grupo II la inyección de Triton aumentó el nivel de LDL hasta 226,53 mg/dl. Mientras en el Grupo V, administración oral simultánea de Producto 1 preparado según el ejemplo 13 en ratas a las que se les inyectó Triton, el nivel de LDL era de 112,65 mg/dl que era 2 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

[0176] En el Grupo II la inyección de Triton aumentó el nivel de VLDL hasta 116,67 mg/dl. Mientras en el Grupo V, administración oral simultánea de Producto 1 preparado según el ejemplo 13 en ratas a las que se les inyectó Triton, el nivel de VLDL era de 23,88 mg/dl que era 4,9 veces menor en comparación con el grupo al que se le administró solo Triton.

REIVINDICACIONES

1. Mezcla de semillas de amla para su utilización en un método de tratamiento la dislipidemia, donde dicho método de tratamiento es un método de reducción del colesterol total y comprende administrar la mezcla de semillas de amla, donde la mezcla de semillas de amla comprende una mezcla de Producto 1 y Producto 2, donde el Producto 1 comprende ácido alfa-linolénico, ácido linolénico y ácido oleico, donde el Producto 2 comprende triterpenoides y ácidos hidroxicinámicos, donde una proporción de Producto 2 en relación con Producto 1 oscila de aproximadamente 1:60 a aproximadamente 99:1, y donde la mezcla puede obtenerse mediante un método que comprende mezclar el Producto 1 y el Producto 2 para obtener la mezcla de semillas de amla,

donde un método de preparación del Producto 1 comprende:
despepitar frutos frescos de *Emblica officinalis* para obtener semillas de *Emblica officinalis*;
machacar las semillas de *Emblica officinalis* para obtener semillas machacadas;
extraer las semillas machacadas con metanol al 95 % para obtener un residuo y un sobrenadante; concentrando el sobrenadante para obtener un extracto de metanol concentrado;
secar el extracto de metanol concentrado para obtener un polvo de extracto de metanol de semillas de *Emblica officinalis*;
dispersar el polvo del extracto de metanol de semillas de *Emblica officinalis* en agua para obtener una dispersión;
extraer la dispersión con hexano para obtener una fase acuosa y una fase de hexano; concentrando la fase de hexano para obtener una forma líquida de un extracto de hexano concentrado;
enfriar la forma líquida del extracto de hexano concentrado para obtener precipitados o cristales y una parte líquida;
separar la parte líquida de los precipitados o cristales para obtener un Producto 1 líquido;
extraer la fase acuosa con acetato de etilo para obtener una fase de acetato de etilo;
concentrar la fase de acetato de etilo para obtener una fase de acetato de etilo concentrada; secando la fase de acetato de etilo concentrada para obtener un polvo de un extracto de acetato de etilo;
mezclar el polvo de extracto de acetato de etilo con agua para obtener un líquido para una separación cromatográfica;
cargar el líquido para la separación cromatográfica en una columna de intercambio iónico;
eluir la columna de intercambio iónico con agua para obtener una fracción acuosa (Fracción 1);
concentrar la Fracción 1 para obtener un concentrado de Fracción 1;
secar el concentrado de Fracción 1 para obtener un polvo de Fracción 1;
eluir la columna de intercambio iónico con metanol al 50 % para obtener una Fracción 2;
concentrar la Fracción 2 para obtener un concentrado de Fracción 2;
secar el concentrado de Fracción 2 para obtener un polvo de Fracción 2;
eluir la columna de intercambio iónico con metanol al 80 % para obtener una Fracción 3;
concentrar la Fracción 3 para obtener un concentrado de Fracción 3;
secar el concentrado de Fracción 3 para obtener un polvo de Fracción 3;
combinar la Fracción 1, la Fracción 2 y la Fracción 3 para obtener un Producto 2; y
mezclar el Producto 2 y el Producto 1 en una proporción de Producto 2 a Producto 1, donde la proporción oscila de aproximadamente 1:60 a 99:1 para obtener la mezcla de semillas de amla.

2. Mezcla de semillas de amla para su utilización en un método de tratamiento de la dislipidemia, donde dicho método de tratamiento es un método de reducción de triglicéridos y comprende administrar la mezcla de semillas de amla, y donde la mezcla de semillas de amla es tal como se define en la reivindicación 1.

3. Mezcla de semillas de amla para su utilización en un método de tratamiento de la dislipidemia, donde dicho método de tratamiento es un método para mejorar el colesterol HDL y comprende administrar la mezcla de semillas de amla, y donde la mezcla de semillas de amla es tal como se define en la reivindicación 1.

4. Mezcla de semillas de amla para su utilización en un método de tratamiento de la dislipidemia, donde dicho método de tratamiento es un método para aumentar la proporción de colesterol HDL en relación con colesterol total y comprende administrar la mezcla de semillas de amla, y donde la mezcla de semillas de amla es tal como se define en la reivindicación 1.

5. Mezcla de semillas de amla para su utilización en un método de tratamiento de la dislipidemia, donde dicho método de tratamiento es un método para reducir los niveles de colesterol LDL y comprende administrar la mezcla de semillas de amla, y donde la mezcla de semillas de amla es tal como se define en la reivindicación 1.

6. Mezcla de semillas de amla para su utilización en un método de tratamiento de la dislipidemia, donde dicho método de tratamiento es un método para reducir la glucosa en sangre y comprende administrar la mezcla de semillas de amla, y donde la mezcla de semillas de amla es tal como se define en la reivindicación 1.

7. Mezcla de semillas de amla para su utilización en un método de tratamiento del engrosamiento de la íntima media, donde dicho método de tratamiento es un método para disminuir el engrosamiento de la íntima media y comprende administrar la mezcla de semillas de amla, y donde la mezcla de semillas de amla es tal como se define en la reivindicación 1.

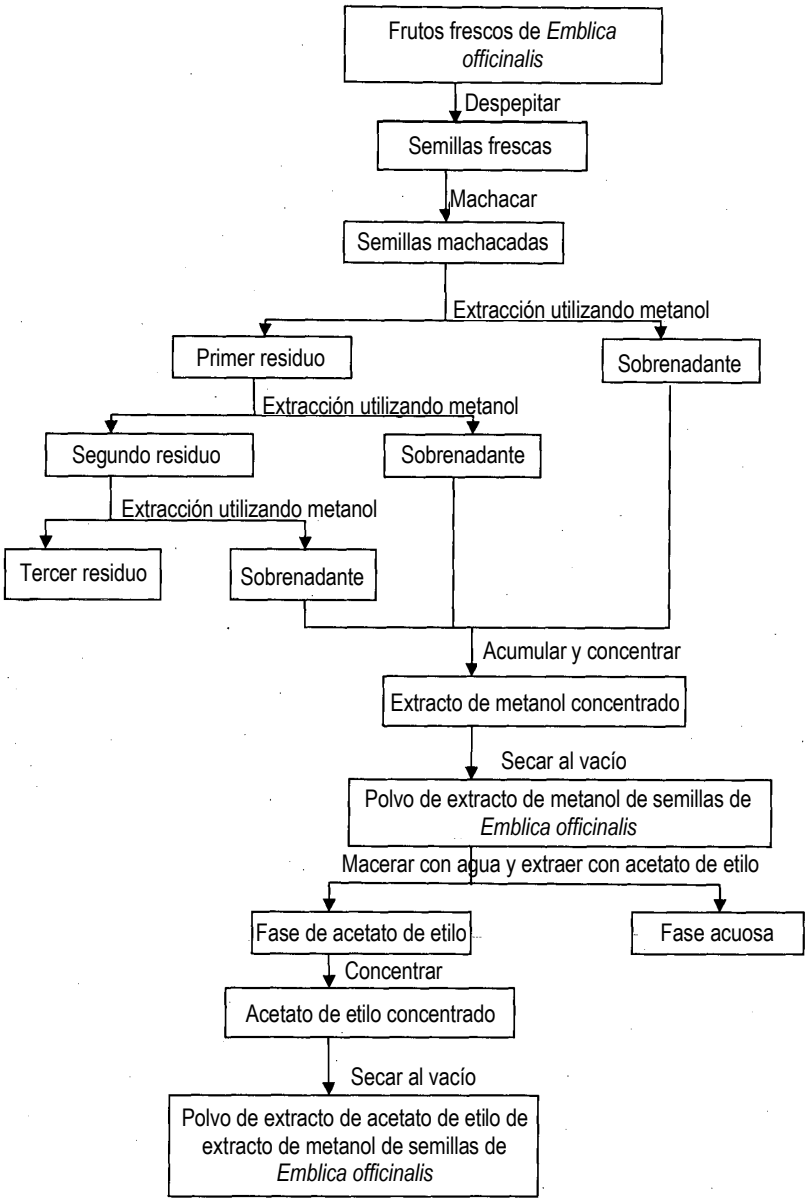
Frutos frescos de *Emblica officinalis*
Despepitar
Semillas frescas
Machacar
Semillas machacadas
Extracción utilizando metanol
Primer residuo
Sobrenadante
Extracción utilizando metanol
Segundo residuo
Sobrenadante
Extracción utilizando metanol
Tercer residuo
Sobrenadante
Acumular y concentrar
Extracto de metanol concentrado
Secar al vacío
Polvo de extracto de metanol de semillas de *Emblica officinalis*
Macerar con agua y extraer con acetato de etilo
Fase de acetato de etilo
Fase acuosa
Concentrar
Acetato de etilo concentrado
Secar al vacío
Polvo de extracto de acetato de etilo de extracto de metanol de semillas de *Emblica officinalis*

Fig 1

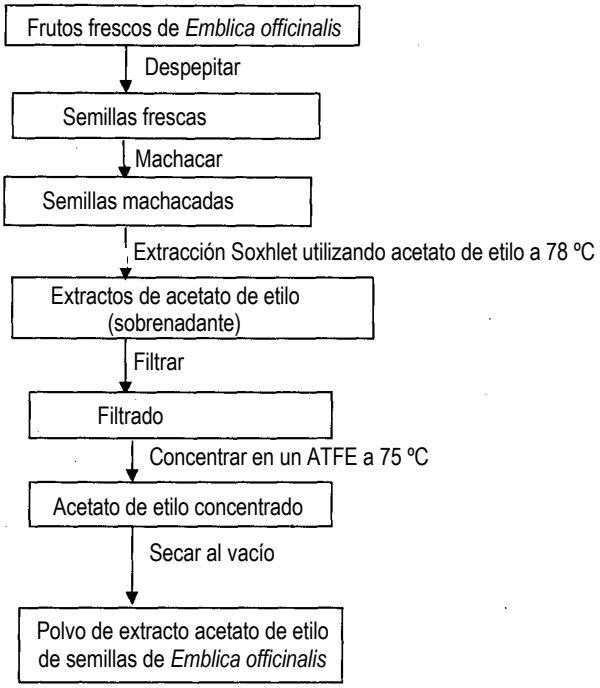
Frutos frescos de *Emblica officinalis*
Despepitar
Semillas frescas
Machacar
Semillas machacadas
Extracción Soxhlet utilizando acetato de etilo a 78 ºC
Extractos de acetato de etilo (sobrenadante)
Filtrar
Filtrado
Concentrar en un ATFE a 75 ºC
Acetato de etilo concentrado
Secar al vacío
Polvo de extracto acetato de etilo de semillas de *Emblica officinalis*

Fig 2

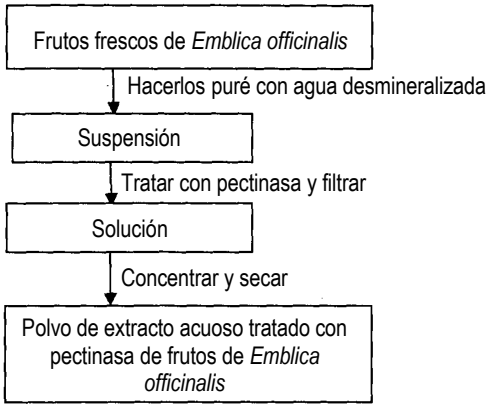
Frutos frescos de *Emblica officinalis*
Hacerlos puré con agua desmineralizada
Suspensión
Tratar con pectinasa y filtrar
Solución
Concentrar y secar
Polvo de extracto acuoso tratado con pectinasa de frutos de *Emblica officinalis*

Fig 3

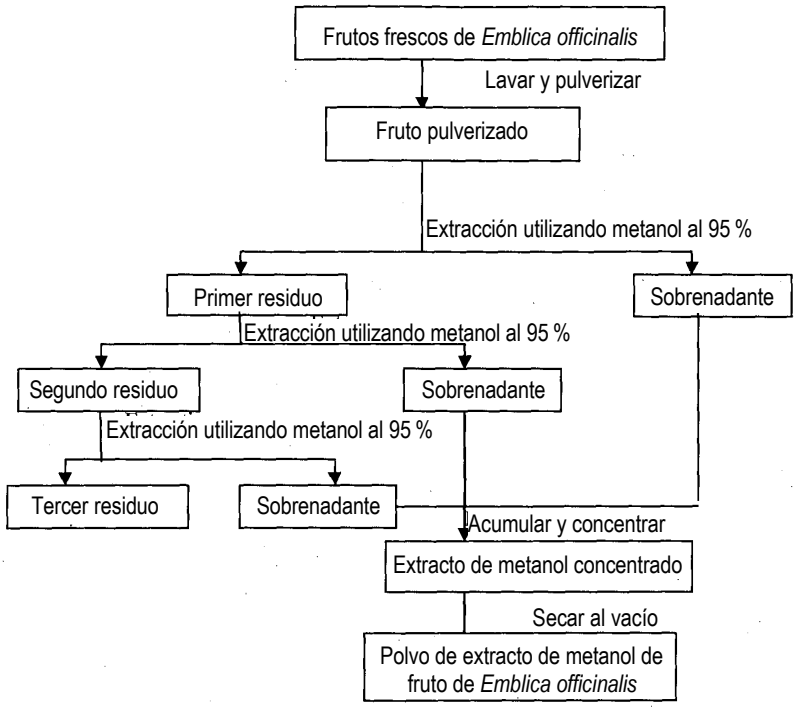
Frutos frescos de *Emblica officinalis*
Lavar y pulverizar
Fruto pulverizado
Extracción utilizando metanol al 95 %
Primer residuo
Sobrenadante
Extracción utilizando metanol al 95 %
Segundo residuo
Sobrenadante
Extracción utilizando metanol al 95 %
Tercer residuo
Sobrenadante
Acumular y concentrar
Extracto de metanol concentrado
Secar al vacío
Polvo de extracto de metanol de fruto de *Emblica officinalis*

Fig 4

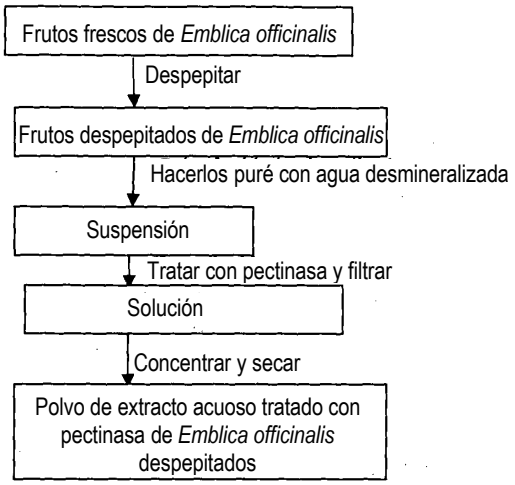
Frutos frescos de *Emblica officinalis*
Despepitar
Frutos despepitados de *Emblica officinalis*
Hacerlos puré con agua desmineralizada
Suspensión
Tratar con pectinasa y filtrar
Solución
Concentrar y secar
Polvo de extracto acuoso tratado con pectinasa de *Emblica officinalis* despepitados

Fig 5

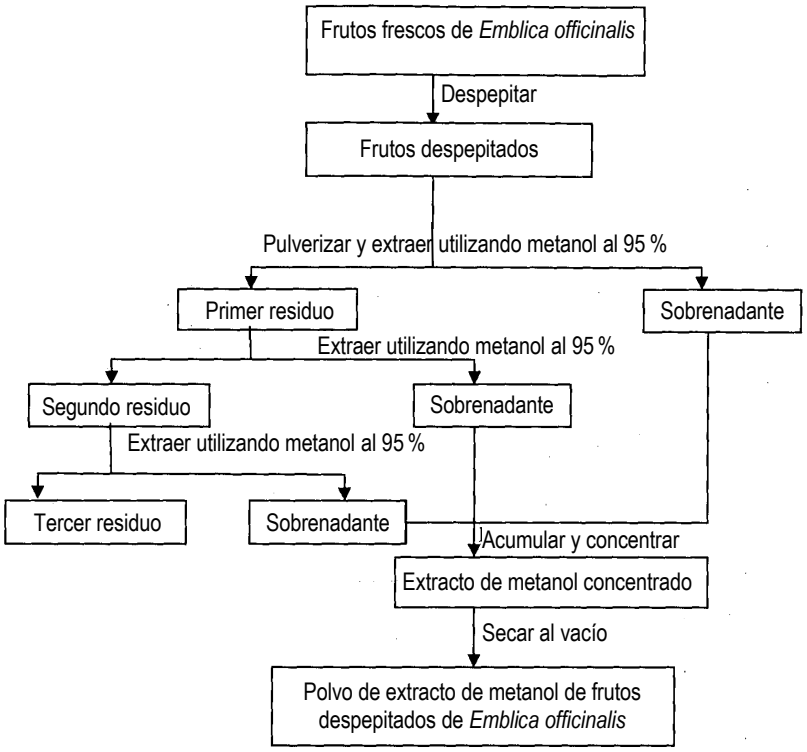
Frutos frescos de *Emblica officinalis*
Despepitar
Frutos despepitados
Pulverizar y extraer utilizando metanol al 95 %
Primer residuo
Sobrenadante
Extraer utilizando metanol al 95 %
Segundo residuo
Sobrenadante
Extraer utilizando metanol al 95 %
Tercer residuo
Sobrenadante
Acumular y concentrar
Extracto de metanol concentrado
Secar al vacío
Polvo de extracto de metanol de frutos despepitados de *Emblica officinalis*

Fig 6

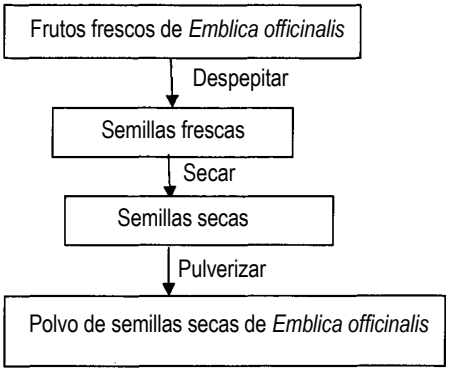
Frutos frescos de *Emblica officinalis*
Despepitar
Semillas frescas
Secar
Semillas secas
Pulverizar
Polvo de semillas secas de *Emblica officinalis*

Fig 7

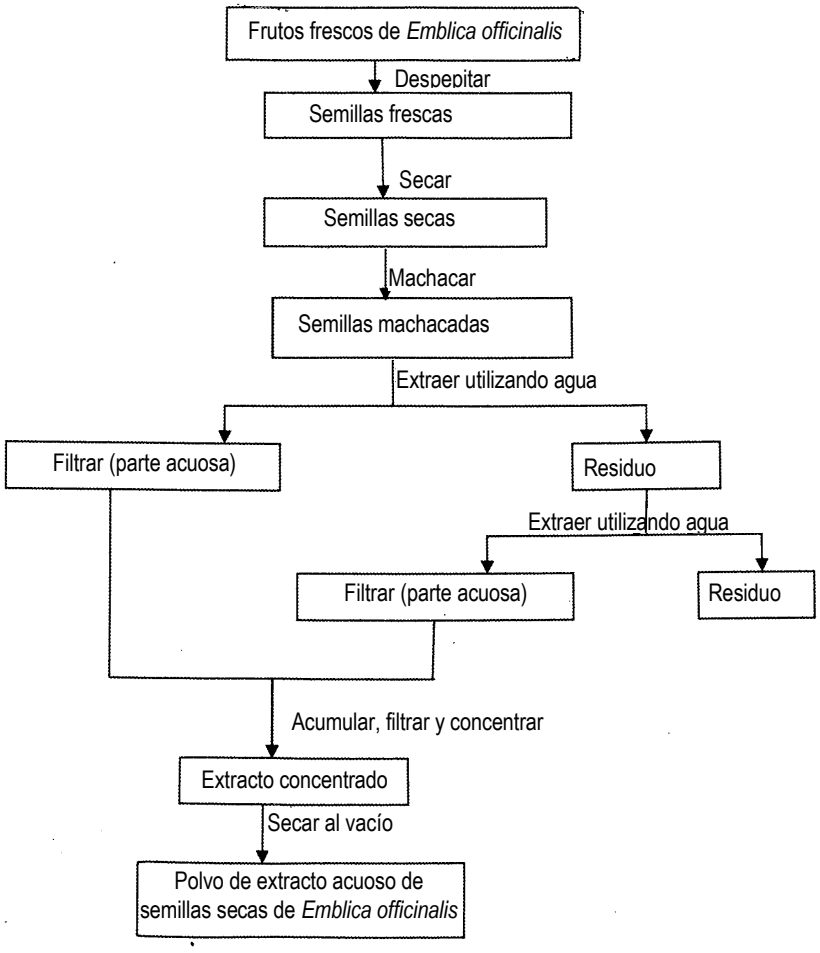
Frutos frescos de *Emblica officinalis*
Despepitar
Semillas frescas
Secar
Semillas secas
Machacar
Semillas machacadas
Extraer utilizando agua
Filtrar (parte acuosa)
Residuo
Extraer utilizando agua
Filtrar (parte acuosa)
Residuo
Acumular, filtrar y concentrar
Extracto concentrado
Secar al vacío
Polvo de extracto acuoso de semillas secas de *Emblica officinalis*

Fig 8

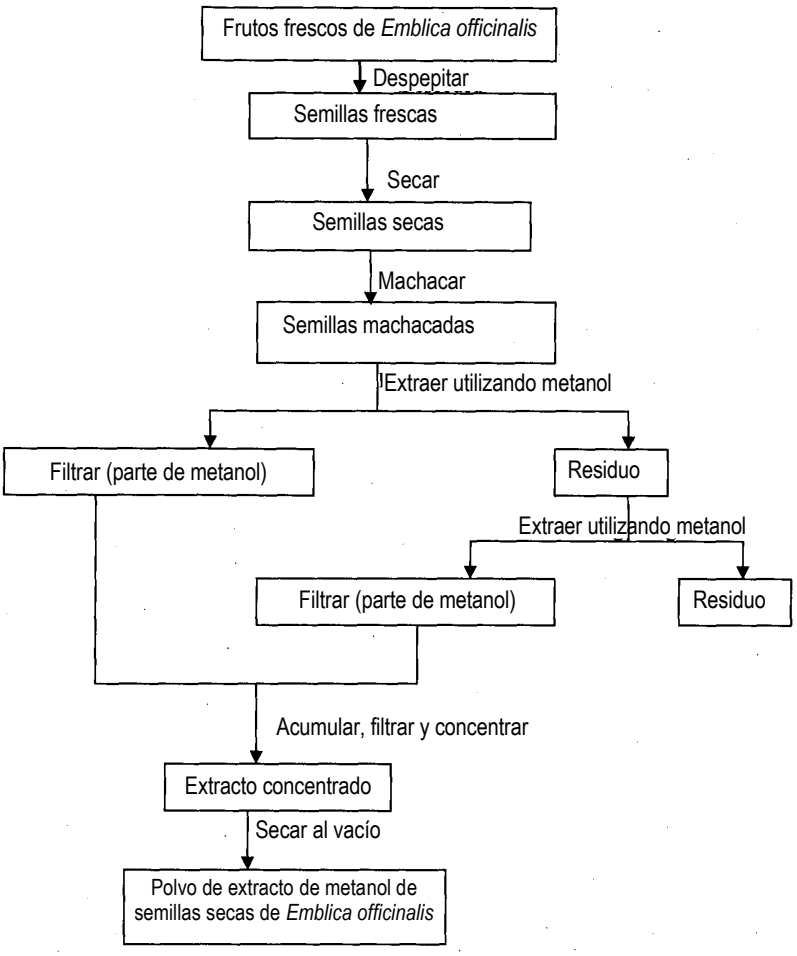
Frutos frescos de *Emblica officinalis*
Despepitar
Semillas frescas
Secar
Semillas secas
Machacar
Semillas machacadas
Extraer utilizando metanol
Filtrar (parte de metanol)
Residuo
Extraer utilizando metanol
Filtrar (parte de metanol)
Residuo
Acumular, filtrar y concentrar
Extracto concentrado
Secar al vacío
Polvo de extracto de metanol de semillas secas de *Emblica officinalis*

Fig 9

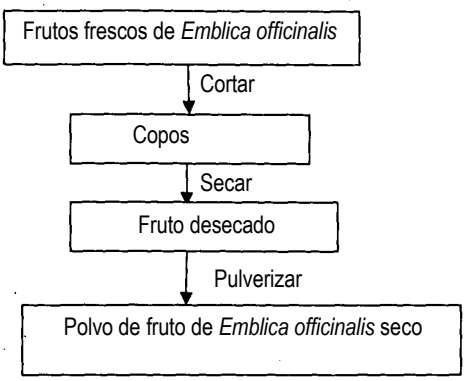
Frutos frescos de *Emblica officinalis*
Cortar
Copos
Secar
Fruto desecado
Pulverizar
Polvo de fruto de *Emblica officinalis* seco

Fig 10

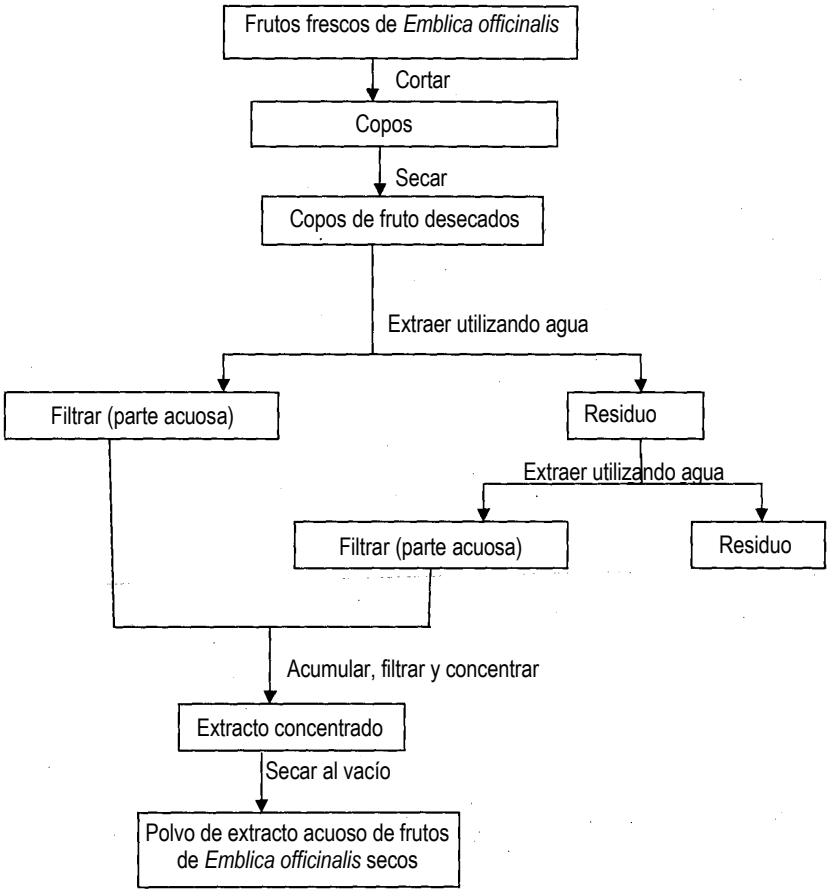
Frutos frescos de *Emblica officinalis*
Cortar
Copos
Secar
Copos de fruto desecados
Extraer utilizando agua
Filtrar (parte acuosa)
Residuo
Extraer utilizando agua
Filtrar (parte acuosa)
Residuo
Acumular, filtrar y concentrar
Extracto concentrado
Secar al vacío
Polvo de extracto acuoso de frutos de *Emblica officinalis* secos

Fig 11

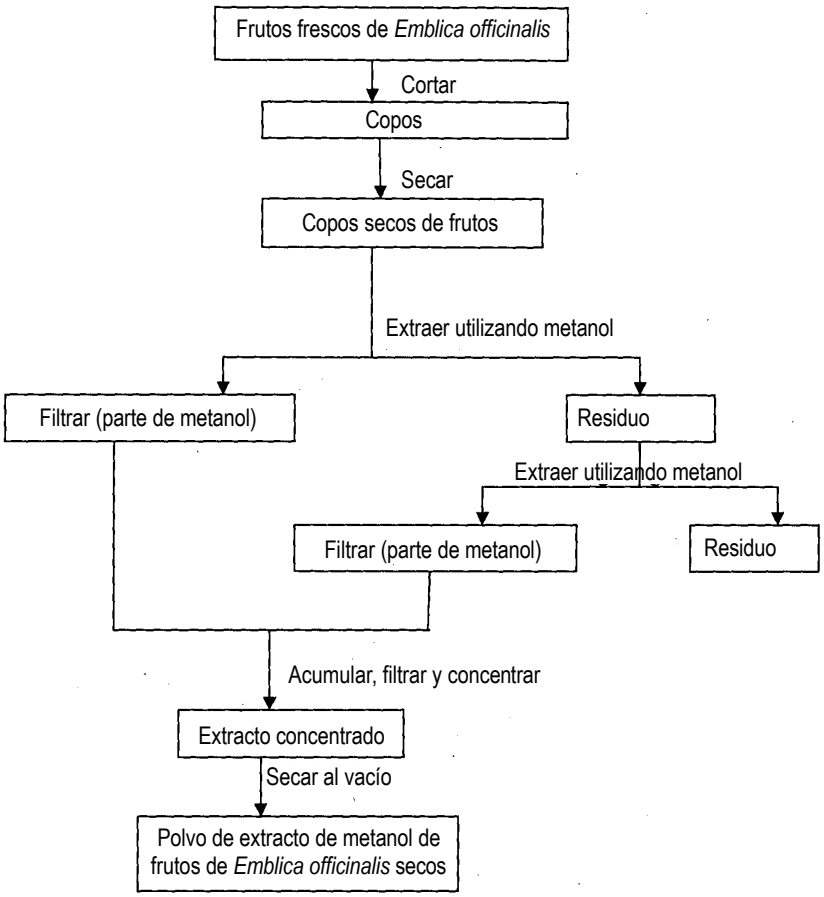
Frutos frescos de *Emblica officinalis*
Cortar
Copos
Secar
Copos secos de frutos
Extraer utilizando metanol
Filtrar (parte de metanol)
Residuo
Extraer utilizando metanol
Filtrar (parte de metanol)
Residuo
Acumular, filtrar y concentrar
Extracto concentrado
Secar al vacío
Polvo de extracto de metanol de frutos de *Emblica officinalis* secos

Fig 12

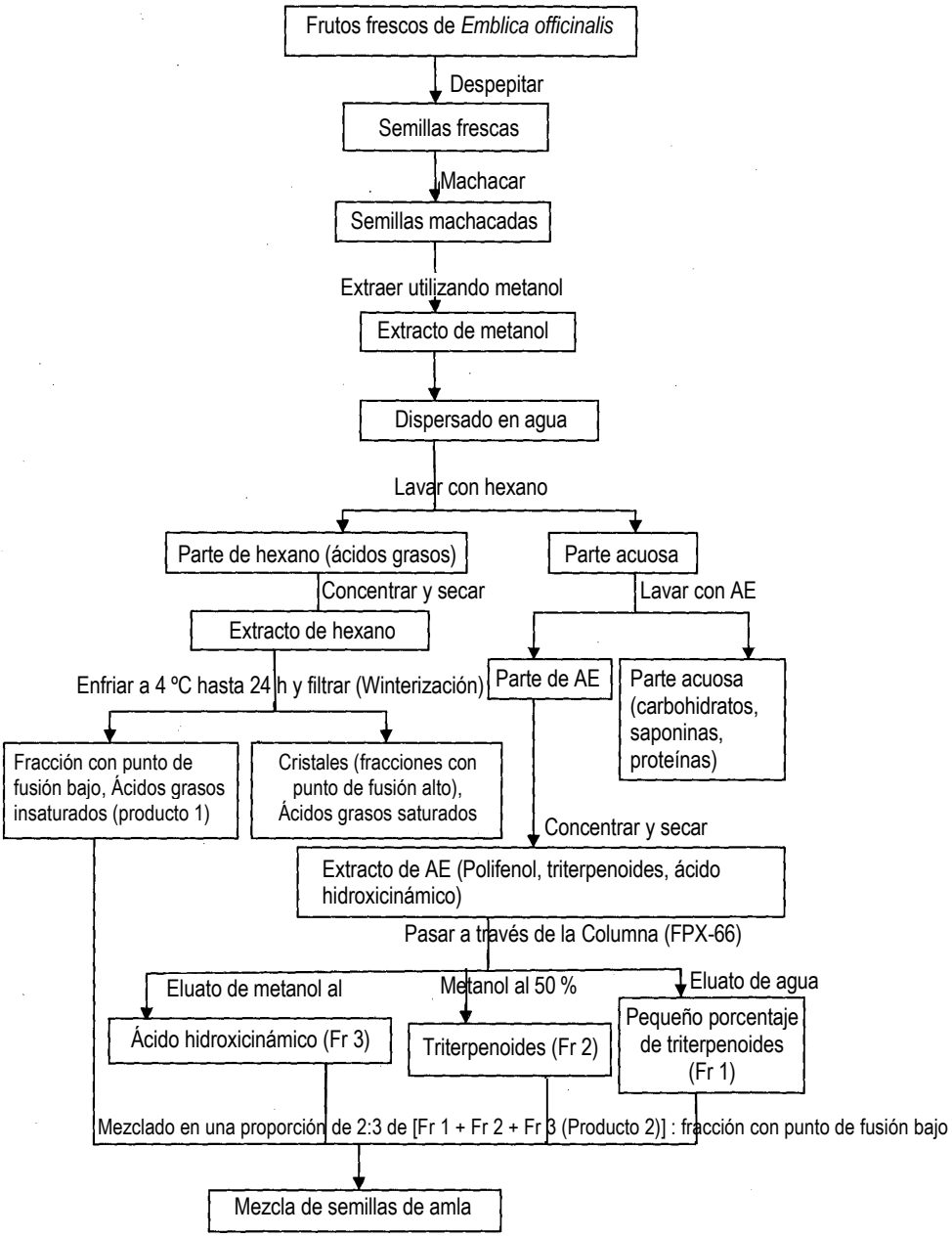
Frutos frescos de *Emblica officinalis*
Despepitar
Semillas frescas
Machacar
Semillas machacadas
Extraer utilizando metanol
Extracto de metanol
Dispersado en agua
Lavar con hexano
Parte de hexano (ácidos grasos)
Parte acuosa
Concentrar y secar
Lavar con AE
Extracto de hexano
Enfriar a 4 ºC hasta 24 h y filtrar (Winterización)
Parte de AE
Parte acuosa (carbohidratos, saponinas, proteínas)
Fracción con punto de fusión bajo, Ácidos grasos insaturados (producto 1)
Cristales (fracciones con punto de fusión alto), Ácidos grasos saturados
Concentrar y secar
Extracto de AE (Polifenol, triterpenoides, ácido hidroxicinámico)
Pasar a través de la Columna (FPX-66)
Eluato de metanol al
Metanol al 50 %
Eluato de agua
Ácido hidroxicinámico (Fr 3)
Triterpenoides (Fr 2)
Pequeño porcentaje de triterpenoides (Fr 1)
Mezclado en una proporción de 2:3 de [Fr 1 + Fr 2 + Fr 3 (Producto 2)] : fracción con punto de fusión bajo
Mezcla de semillas de amla

Fig 13