

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 803 924**

51 Int. Cl.:

**A61K 36/752** (2006.01)

**A61K 31/355** (2006.01)

**A61K 36/53** (2006.01)

**A61K 36/61** (2006.01)

**A61P 31/10** (2006.01)

**A61P 17/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.10.2017 PCT/EP2017/076807**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.05.2018 WO18077733**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.10.2017 E 17794915 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.04.2020 EP 3493825**

54 Título: **Composición para aplicación tópica con actividad antifúngica**

30 Prioridad:

**28.10.2016 IT 201600109403**

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

**01.02.2021**

73 Titular/es:

**BIO.LO.GA. S.R.L. (100.0%)  
Via Giuseppe Lazzarin, 66  
31015 Conegliano (TV), IT**

72 Inventor/es:

**PANIN, GIORGIO**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

ES 2 803 924 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 para aplicación tópica con actividad antifúngica

**Campo técnico**

La presente invención se refiere al campo de la industria farmacéutica y cosmética.

- 5 En particular, la invención se refiere a una composición para aplicación tópica para la prevención y el tratamiento de micosis cutáneas.

**Antecedentes de la técnica**

- 10 Las micosis son infecciones provocadas por hongos, que comprenden diferentes grupos de microorganismos, entre los cuales están los dermatofitos, levaduras, mohos etc., que pueden infectar la piel (dermatofitosis), el pelo (tiña), las uñas (onicomicosis) y las zonas genitales (por ejemplo, infecciones provocadas por *Candida albicans*).

Los dermatofitos son hongos que necesitan queratina para desarrollarse y que provocan la formación de máculas distintivas en forma de roseta en la piel. Algunos dermatofitos pueden infectar el cuero cabelludo (tiña de cabeza), la cara (tiña facial), las manos (tiña de las manos), el tronco (tiña corporal), las uñas (tiña de las uñas) y los pies (tiña del pie o pie de atleta).

- 15 Las levaduras (por ejemplo, *Candida albicans*) se ubican por el contrario en las zonas cálidas y húmedas (cavidad bucal, axilas, espacios interdigitales, genitales). En particular, *Candida albicans* puede provocar enfermedades en las comisuras de la boca, los labios (queilitis), la cavidad bucal (aftas), los genitales masculinos y femeninos y las uñas.

- 20 El diagnóstico de las micosis se basa en investigaciones por microscopía y/o cultivos en material biológico recogido de las zonas afectadas para detectar el tipo de hongo responsable de la infección y seleccionar la terapia antifúngica más adecuada para tratar tal hongo.

A veces, el procedimiento de diagnóstico no es fácil, también porque las infecciones pueden deberse a una pluralidad de hongos que pueden tener diferentes características de sensibilidad/resistencia con respecto a un agente antifúngico dado.

- 25 En consecuencia, las terapias de tratamiento tópico realizadas con los agentes antifúngicos convencionales (por ejemplo, econazol, fluconazol, ketoconazol, griseofulvina, amorolfina) en ocasiones pueden no ser completamente eficaces.

Por tanto, es deseable disponer de un agente terapéutico para el tratamiento tópico de la micosis que presente un amplio espectro de acción y que pueda usarse con la mayor seguridad.

- 30 A este respecto, el efecto antifúngico del extracto de *Melaleuca alternifolia* (árbol del té) se conoce desde hace mucho tiempo y se ha descrito, por ejemplo, por Nenoff P. *et al.* en Skin Pharmacol. 1996; 9(6): 388-94.

El uso de una composición líquida que comprende los aceites esenciales de árbol del té (*Melaleuca alternifolia*), lavanda y eucalipto para el tratamiento de la onicomicosis se conoce también a partir del documento US 6 413 555.

- 35 Además, el uso del aceite esencial de orégano para el tratamiento de la onicomicosis se conoce a partir del documento WO 9637210.

El documento KR 100285781 describe una composición con actividad antifúngica y antimicrobiana que contiene aceite de orégano y otro aceite esencial, que puede ser, entre otros, aceite de árbol de té.

- 40 Se conoce un método para el tratamiento de un tejido afectado por una infección provocada por organismos patógenos bacterianos, fúngicos o virales, que comprende la aplicación tópica de una composición que comprende aceite de árbol del té, un inmunoestimulante, normalmente coenzima Q, y un antioxidante, normalmente vitamina E a partir de la solicitud US 2004/151710. En la descripción de esta solicitud se afirma que la acción antimicrobiana se debe al aceite de árbol del té, mientras que la coenzima Q refuerza la respuesta inmunitaria del tejido infectado y el antioxidante elimina los radicales libres en el tejido infectado, contribuyendo así a la inhibición del daño provocado por los radicales libres.

- 45 La actividad antifúngica del aceite esencial de lima hacia varias cepas de hongos se informa en el artículo de Tago D. *et al.* "A Comparison of The Antimicrobial (Antifungal) Properties Of Garlic, Ginger And Lime On Aspergillus Flavus, Aspergillus Niger And Cladosporium Herbarum Using Organic And Water Base Extraction Methods", The Internet Journal of Tropical Medicine, vol. 7, n.º 1.

- 50 El documento WO 2015/144583 da a conocer una formulación para la higiene personal en forma de una emulsión de aceite en agua con un pH de desde 5,5 hasta 6,5, libre de tensioactivos, que comprende un emulsionante que

consiste en un alcohol graso de desde 14 hasta 22 átomos de carbono o de estearato de glicerilo, o una mezcla de los mismos, caprilato de coco y/o caprilato/caprato de coco, vitamina E o un éster de la misma, y aceite de *Melaleuca alternifolia*.

5 El documento WO 2016/051403 da a conocer un material compuesto bactericida, fungicida, repelente de insectos para la conservación de cultivos, incluyendo el material un material textil no tejido y un aceite esencial microencapsulado incrustado en el material textil no tejido, en el que el aceite esencial microencapsulado puede seleccionarse entre una gran cantidad de aceites esenciales, incluyendo los aceites de lima, árbol del té y orégano. Los ejemplos proporcionados en la descripción contemplan (ejemplo 1) el uso de un fungicida (nefocida) + aceite de árbol del té (o aceite de orégano) + aceite de romero o (ejemplo 2) el uso de aceite de orégano (o aceite de árbol del 10 té) + aceite de romero. La eficacia se ha demostrado sólo para el aceite de árbol del té (ejemplo 8), el aceite de mostaza (ejemplo 8b) y el aceite de orégano (ejemplo 8C).

15 El documento US 2009/186096 da a conocer un método para la preparación de aceites esenciales microencapsulados. Los aceites de orégano y de árbol del té se mencionan entre una gran cantidad de aceites esenciales que pueden usarse, junto con posibles aditivos, incluyendo, entre otros, vitamina E, para aplicación oral o tópica con acción repelente contra insectos y acción bactericida. El aceite de lima sólo se menciona entre los aceites esenciales que pueden encapsularse como repelentes de insectos o insecticidas. Este documento se centra en el tratamiento de la mastitis bovina, provocada por infecciones bacterianas.

20 Finalmente, el documento US 6 680 074 da a conocer una composición que incluye propóleo, aceite de orégano y al menos un aceite esencial, para aplicación tópica y útil para tratar infecciones microbianas, incluyendo infecciones virales y micóticas. El aceite esencial mencionado anteriormente puede ser, entre otros, aceite de *Melaleuca alternifolia*.

### Sumario de la invención

25 El problema subyacente a la presente invención fue el de proporcionar una composición para el tratamiento tópico de micosis cutáneas, que contenía sustancias activas de origen natural, que presentaba una gran tolerabilidad y que se proporcionaba con una acción mejorada con respecto a la de las composiciones de la técnica anterior.

Tal problema se ha resuelto proporcionando una composición para aplicación tópica con actividad antifúngica que contiene aceite esencial de *Melaleuca alternifolia*, aceite esencial de orégano, aceite esencial de lima y un éster de vitamina E.

30 Por "vitamina E" quiere decirse tocoferol, en forma de D-alfa-tocopherol, así como en forma de mezcla de los dos enantiómeros d y l del alfa-tocopherol, o una mezcla de otros tocoferoles ( $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\zeta$ ,  $\eta$ ) o un tocotrienol.

Por "éster de vitamina E" quiere decirse un éster de vitamina E tal como se definió anteriormente con un ácido carboxílico de fórmula R-COOH, en la que R es un radical alquilo que tiene desde 1 hasta 19 átomos de carbono, o un radical alquenoilo o alquinoilo que tiene desde 2 hasta 19 átomos de carbono.

Preferiblemente, el éster mencionado anteriormente es acetato, n-propionato o linoleato de vitamina E.

35 Particularmente preferido es el uso de acetato de vitamina E, en particular acetato de alfa-tocopherol.

Preferiblemente, los aceites esenciales de *Melaleuca alternifolia*, orégano y lima mencionados anteriormente constituyen al menos el 3% en peso de la composición y cada uno de ellos constituye al menos el 1% en peso de la composición.

40 La composición según la invención contiene preferiblemente desde el 10% hasta el 97% de dicho éster de vitamina E, que es preferiblemente acetato de alfa-tocopherol.

Según un aspecto de la presente invención, la composición consiste en aceite esencial de *Melaleuca alternifolia*, aceite esencial de orégano, aceite esencial de lima y un éster de vitamina E, preferiblemente acetato de alfa-tocopherol.

45 Una composición particularmente preferida consiste en el 95%-97% de acetato de alfa-tocopherol y el 3-5% de los aceites esenciales mencionados anteriormente, constituyendo cada uno de estos aceites esenciales al menos el 1% en peso de la composición.

50 En otro aspecto de la presente invención, la composición se formula como un gel hidrófobo que contiene al menos el 3% de los aceites esenciales de *Melaleuca alternifolia*, orégano y lima mencionados anteriormente, constituyendo cada uno de estos aceites esenciales al menos el 1% en peso de la composición, desde el 10% hasta el 50% de un éster de vitamina E, preferiblemente acetato de alfa-tocopherol, desde el 20% hasta el 60% de una manteca o cera vegetal, desde el 10% hasta el 30% de triglicérido de ácido caprílico y cáprico y desde el 5 hasta el 20% de un agente gelificante para lípidos, tal como, por ejemplo, el triglicérido de ácido palmítico y esteárico.

Tal gel hidrófobo puede comprender además uno o más de aceite de ricino hidrogenado, fitoesteres y ceramida.

Preferiblemente, la manteca vegetal es manteca de karité y la ceramida es ceramida-NP.

La composición según la presente invención, cuando se aplica tópicamente sobre la piel, el cuero cabelludo y las uñas, ejerce una potente actividad antifúngica contra un amplio espectro de hongos, que incluyen dermatofitos, levaduras y mohos. La composición según la presente invención está particularmente indicada para el tratamiento de onicomicosis.

Tal como se demostrará por los resultados experimentales proporcionados en la descripción detallada de la invención, los tres aceites esenciales incluidos en la composición según la invención demuestran actuar de manera sinérgica contra varios hongos responsables de diversas dermatomycosis.

La presencia de una cantidad considerable de un éster de vitamina E en la composición según la invención permite prevenir o contrarrestar los posibles efectos irritantes o alergizantes que a veces se han encontrado durante la aplicación tópica de los aceites esenciales en cuestión.

De hecho, tal como se explica en la solicitud de patente WO 97/45098, la vitamina E esterificada, en particular el acetato de vitamina E, se propaga con bastante facilidad, se absorbe de manera sorprendentemente rápida y, al no ser una molécula extraña para el organismo humano, puede integrarse fácilmente con los lípidos presentes en el estrato córneo, ejerciendo un efecto hidratante y lenitivo considerable, útil para prevenir o contrarrestar los posibles efectos irritantes de los aceites mencionados anteriormente.

A diferencia de la vitamina E usada en su forma libre en la composición según la solicitud de patente US 2004/151710, los ésteres de vitamina E, y en particular el acetato de vitamina E, no realizan ninguna acción antioxidante. Por tanto, su contribución a la acción de la composición según la presente invención se atribuye a los efectos hidratante y lenitivo mencionados anteriormente.

Se obtiene un efecto similar de prevención o contrarresto de los posibles efectos irritantes o alergizantes de los aceites esenciales mediante la formulación de la composición según la invención en forma de un gel hidrófobo, tal como se describió anteriormente.

El término "hidrófobo" atribuido a tales formulaciones significa que no contienen agua u otro disolvente acuoso o polar en ningún estado, por ejemplo, libre o emulsionado, que comprende en su lugar las sustancias hidrófobas indicadas en la presente invención.

La manteca vegetal usada en tales formulaciones puede seleccionarse de las que están comúnmente disponibles, tales como: karité, cacao, almendra, kokum (*Garcinia indica*), té verde, albaricoque, naranja, limón, pistacho, café, etc. La manteca de karité es particularmente preferida. La cera también puede seleccionarse de las comúnmente disponibles; las ceras preferidas son cera de arroz y cera de abejas. La manteca o cera vegetal se emplea en una cantidad comprendida entre el 20 y el 60%, preferiblemente entre el 30 y el 50%, por ejemplo entre el 35-45%.

El triglicérido de ácido caprílico y cáprico es un triéster sintético de glicerina con ácido C8-C10, ácido caprílico (C8) y ácido cáprico (C10), derivado del fraccionamiento del aceite de coco. Es un líquido de incoloro a ligeramente amarillo, ligeramente viscoso e inodoro. Es un sustituto válido de los aceites vegetales y con respecto a estos últimos es estable frente a la oxidación porque está completamente saturado. Tiene notables cualidades emolientes. Este producto se emplea en las presentes formulaciones en una cantidad comprendida entre el 10 y el 30%, preferiblemente entre el 15 y el 25%.

El agente gelificante para lípidos se selecciona preferiblemente del grupo que comprende triglicérido de ácido palmítico y esteárico (nombre INCI: triglicérido palmítico/esteárico), olivato de sorbitano, dibutil lauroil glutamida, dibutil etilhexanoil glutamida, hidróxido/carbonato de magnesio/aluminio, hidróxido de magnesio, hidróxido de carbonato de zinc/hidróxido de aluminio, sílice o polímeros de metilcelulosa.

Los agentes gelificantes preferidos son olivato de sorbitano, que otorga además un efecto de barrera, y el triglicérido de ácido palmítico y esteárico, que también tiene propiedades emolientes y antioxidantes para la piel, y la sílice; tanto el olivato de sorbitano como el triglicérido de ácido palmítico y esteárico son altamente respetuosos con el medio ambiente y estables frente a la oxidación. Tales productos están disponibles comercialmente de varias fuentes, por ejemplo, con la marca registrada Olifeel® (perlas) en lo que respecta al triglicérido de ácido palmítico y esteárico, y con la marca comercial Olivem® 900 en lo que respecta al olivato de sorbitano. El agente gelificante se emplea en las formulaciones en una cantidad comprendida entre el 5 y el 20%.

Las presentes formulaciones pueden contener opcionalmente una cantidad menor de ceramida y/o fitoesteres. La ceramida es un lípido ceroso compuesto por esfingosina y ácidos grasos; está presente normalmente en el estrato córneo de la piel, donde evita los fenómenos de deshidratación e incrementa su función de barrera. Se conocen nueve ceramidas naturales, y todas ellas pueden usarse dentro del alcance de la invención, solas o mezcladas entre sí. Particularmente preferida es la ceramida-NP o ceramida-3, compuesta por ácidos grasos de N-acilo no hidroxilados y esfingosina.

Los fitoesteres son un grupo de esteroides vegetales, con una estructura similar a la del colesterol. Los miembros

típicos de esta clase son el estigmasterol, el sitosterol, el campesterol, etc., que pueden usarse individualmente o mezclarse entre sí. Las composiciones preferidas pueden comprender desde el 0,1 hasta el 1% de ceramida (preferiblemente desde el 0,01 hasta el 0,4%) en peso sobre el peso de la composición. Además, pueden comprender desde el 0,1 hasta el 2% en peso de fitosteroles del peso total de la composición.

- 5 Opcionalmente, las formulaciones de la invención pueden incluir componentes adicionales, que pueden ser excipientes o sustancias activas adicionales. Entre los excipientes, en particular, hay aceite de ricino hidrogenado, preferiblemente presente en un porcentaje entre el 1 y el 10%, más preferiblemente entre el 0,1 y el 6% en peso del peso de la composición. Otros excipientes pueden ser componentes hidrófobos adicionales, conservantes, modificadores de la reología, perfumes, etc. Otros componentes hidrófobos son, por ejemplo, aceites vegetales y ésteres de ácidos grasos tales como palmitato de octilo, miristato de isopropilo y oleato de etilo, o sus mezclas.
- 10

El gel hidrófobo según la invención tiene una estabilidad óptima, una gran capacidad de extensión sobre la piel y se absorbe con gran rapidez, ejerciendo un notable efecto hidratante y emoliente, que se mantiene durante muchas horas después de la aplicación y es útil para prevenir o contrarrestar los posibles efectos irritantes de los aceites esenciales mencionados anteriormente.

### 15 Descripción detallada

La presente invención se describirá adicionalmente con referencia a algunas realizaciones a modo de ejemplo, en las que los porcentajes indicados son porcentajes en peso del peso total de cada composición.

#### Ejemplo 1

Acetato de alfa-tocoferilo	97%
Aceite de <i>Melaleuca alternifolia</i>	1%
Aceite de orégano	1%
Aceite de lima	1%

- 20 Se ha preparado una composición según la invención con los componentes enumerados anteriormente, dispersando los tres aceites esenciales en el acetato de alfa-tocoferilo con agitación a temperatura ambiente, hasta que se obtiene un fluido oleoso, límpido y viscoso.

#### Ejemplo 2

Acetato de alfa-tocoferilo	96%
Aceite de <i>Melaleuca alternifolia</i>	2%
Aceite de orégano	1%
Aceite de lima	1%

Se preparó esta composición de la misma manera tal como se ilustra en el ejemplo 1.

#### Ejemplo 3

Manteca de karité	38%
Acetato de alfa-tocoferilo	30%
Triglicérido de ácido caprílico y cáprico	19%
Triglicérido de ácido palmítico y esteárico	7%
Aceite de ricino hidrogenado	2,3%
Aceite de <i>Melaleuca alternifolia</i>	1%
Aceite de orégano	1%

Aceite de lima	1%
Fitoesteroles	0,4%
Ceramida-NP	0,3%

5 Se preparó un gel hidrófobo con los componentes mencionados anteriormente de la siguiente manera: se prepara una primera fase que comprende acetato de alfa-tocoferilo, aceite de ricino hidrogenado, fitoesteroles, ceramidas, calentando todo hasta 120°C para obtener una disolución homogénea. En un recipiente diferente, se calientan los componentes restantes hasta 60°C. Entonces se juntan las dos fases y se mezclan entre sí durante aproximadamente 30 minutos a temperatura ambiente.

Se sometió a prueba la actividad antifúngica de la composición según la presente invención usando la formulación del ejemplo 1 en comparación con formulaciones similares con un contenido de aceites esenciales diferente.

En particular, se han comparado las composiciones proporcionadas en la siguiente tabla 1:

Tabla 1

Composición	Ejemplo 1	Comparación 1	Comparación 2	Comparación 3
Acetato de alfa-tocoferilo	97	97	97	97
Aceite de <i>Melaleuca alternifolia</i>	1	-	1,5	3
Aceite de orégano	1	-	-	-
Aceite de lima	1	3	1,5	-

10 Se ha evaluado la actividad inhibidora de cada una de las cuatro composiciones enumeradas anteriormente contra dermatofitos, que son la causa de micosis cutáneas, basándose en estudios *in vitro*.

Tal evaluación se ha realizado por medio de los siguientes dos métodos:

Método 1: método de difusión en agar o prueba de sensibilidad de CMI (concentración mínima inhibitoria).

15 Es un método cuantitativo para evaluar la sensibilidad de cepas de dermatofitos hacia sustancias con una actividad de inhibición hacia su crecimiento o con una actividad antimicrobiana *in vitro*.

Se han usado las siguientes cepas de microorganismos:

Dermatofito:	ATCC
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9533
<i>Trichophyton rubrum</i>	18753
<i>Fusarium species</i>	3636
<i>Candida albicans</i>	10231
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	16404

Se cultivaron los microorganismos enumerados anteriormente en placas que contenían como medio de crecimiento "agar de dextrosa de Sabouraud" con cicloheximida, cloranfenicol y gentamicina.

20 Se pusieron en contacto discos de nitrocelulosa con un diámetro de 1,0 cm con cada una de las composiciones de la tabla 1, hasta la completa imbibición del disco.

Después se colocaron tales discos, lo suficientemente espaciados entre sí, en placas que contenían los microorganismos mencionados anteriormente.

Entonces se incubaron las placas que contenían *Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum* a 25°C

durante 15 días, aquellas que contenían *Fusarium species* durante 10 días a 25°C, aquellas que contenían *Candida albicans* durante 5 días a 25°C y aquellas que contenían *Aspergillus brasiliensis* durante 7 días a 25°C.

Después del final del periodo de incubación a 25°C, se midió el diámetro del halo de inhibición formado alrededor de cada disco.

- 5 La sensibilidad de cada microorganismo con respecto a la composición sometida a prueba se establece basándose en la medición del diámetro del halo de inhibición, atribuyendo las siguientes evaluaciones:

R (resistente), cuando el diámetro es nulo (no hay halo de inhibición);

L (ligera), cuando el diámetro es pequeño; ligera sensibilidad del microorganismo;

M (media), cuando el diámetro es medio; sensibilidad media del microorganismo;

- 10 S (fuerte), cuando el diámetro es grande; el microorganismo es muy sensible.

Los resultados obtenidos mediante esta experimentación se notifican en la siguiente tabla 2.

Tabla 2

Microorganismo	Ejemplo 1	Comparación 1	Comparación 2	Comparación 3
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	S	L	S	S
<i>Trichophyton rubrum</i>	M	L	M	M
<i>Fusarium species</i>	M	M	M	M
<i>Candida albicans</i>	S	S	M	S
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	S	S	M	S

Método 2: método de suspensión

- 15 Con este método, se evaluó la capacidad o incapacidad de un microorganismo de multiplicarse *in vitro* en presencia de una concentración dada de una sustancia con una actividad antimicrobiana.

Se prepararon suspensiones respectivas de los microorganismos mencionados anteriormente en un medio de crecimiento líquido, constituido por "caldo de dextrosa de Sabouraud" con cicloheximida, cloranfenicol y gentamicina. Tales suspensiones contenían una cantidad conocida de microorganismos, expresada en unidades formadoras de colonias por ml (UFC/ml), en el orden de 10<sup>5</sup>.

- 20 Dentro de un tubo, se pusieron en contacto 9 g de formulación de prueba con 1 ml de suspensión con una concentración conocida de cada microorganismo.

Después de un tiempo de contacto de 1 hora a 37°C, se determinó el recuento microbiano total mediante la inclusión de 1 ml de una muestra por duplicado en una placa de la dilución en serie. El resultado se expresó en UFC/ml.

Los resultados se resumen en la siguiente tabla 3:

Tabla 3

Microorganismo	Inóculo inicial (UFC/ml)	Ejemplo 1 (UFC/ml)	Comparación 1 (UFC/ml)	Comparación 2 (UFC/ml)	Comparación 3 (UFC/ml)
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	1,80·10 <sup>5</sup>	4,0·10 <sup>3</sup>	1,0·10 <sup>5</sup>	3,0·10 <sup>4</sup>	1,0·10 <sup>4</sup>
<i>Trichophyton rubrum</i>	1,80·10 <sup>5</sup>	2,0·10 <sup>4</sup>	9,0·10 <sup>4</sup>	6,0·10 <sup>4</sup>	2,8·10 <sup>4</sup>
<i>Fusarium species</i>	1,90·10 <sup>5</sup>	8,0·10 <sup>3</sup>	1,0·10 <sup>5</sup>	2,9·10 <sup>4</sup>	1,8·10 <sup>4</sup>
<i>Candida albicans</i>	2,30·10 <sup>5</sup>	1,0·10 <sup>3</sup>	5,0·10 <sup>3</sup>	2,2·10 <sup>3</sup>	1,0·10 <sup>3</sup>
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	1,00·10 <sup>5</sup>	1,2·10 <sup>3</sup>	1,0·10 <sup>3</sup>	7,0·10 <sup>3</sup>	1,0·10 <sup>3</sup>

Basándose en tales resultados, es posible calcular la reducción microbiana obtenida con las diferentes formulaciones, expresada en porcentajes con respecto al recuento microbiano inicial. Los valores de reducción microbiana calculados de esta manera se notifican en la siguiente tabla 4.

Tabla 4

Microorganismo	Reducción microbiana (%)			
	Ejemplo 1	Comparación 1	Comparación 2	Comparación 3
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	97,78%	44,44%	83,33%	94,44%
<i>Trichophyton rubrum</i>	88,89%	50,00%	66,67%	84,44%
<i>Fusarium species</i>	95,79%	47,37%	84,74%	90,53%
<i>Candida albicans</i>	99,57%	97,83%	99,04%	99,57%
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	98,80%	99,00%	93,00	99,00

5

Se observa a partir de la tabla 4 que la composición según el ejemplo 1 produce una reducción microbiana significativamente mayor que la provocada por las composiciones de comparación para los tres primeros microorganismos usados en la prueba y una reducción microbiana sustancialmente equivalente a la determinada por la comparación 3 (el 3% de aceite de *Melaleuca alternifolia*, el 97% de acetato de alfa-tocoferilo) para *Candida albicans* y *Aspergillus brasiliensis*.

10

Este resultado es completamente inesperado porque la composición según el ejemplo 1 difiere de aquella según la comparación 3 en que sólo contiene el 1% de aceite de *Melaleuca alternifolia* en lugar del 3% y en que contiene, además del 1% de aceite de orégano, el 1% de aceite esencial de lima, que en la composición de la comparación 2 (el 1,5% de aceite de lima, el 1,5% de aceite de *Melaleuca alternifolia*, el de 97% acetato de alfa-tocoferilo) ha provocado por el contrario una clara disminución en la reducción microbiana con respecto a la lograda con la composición de la comparación 3.

15

Debido a la superioridad demostrada por la composición según el ejemplo 1 en las pruebas comparativas mencionadas anteriormente, se investigó adicionalmente el espectro de actividad de esta composición.

Se repitió el método 2 descrito anteriormente usando otros microorganismos que son responsables de infecciones fúngicas cutáneas y se obtuvieron los resultados de la siguiente tabla 5:

20

Tabla 5

Microorganismo	Inóculo (UFC/ml) inicial	Ejemplo 1 (UFC/ml)	Reducción microbiana (%)
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i> ATCC 62614	$1,60 \cdot 10^5$	$5,5 \cdot 10^4$	65,63%
<i>Epidermophyton floccosum</i> ATCC 28188	$1,30 \cdot 10^5$	$1,4 \cdot 10^4$	89,23%
<i>Acremonium species</i> ATCC 90507	$1,80 \cdot 10^5$	$1,8 \cdot 10^4$	90,00%
<i>Penicillium species</i> ATCC 10106	$1,80 \cdot 10^5$	$1,0 \cdot 10^4$	94,44%

5 Tal como puede observarse a partir de las tablas 4 y 5, la composición según el ejemplo 1 ha demostrado ser eficaz contra un amplio espectro de microorganismos susceptibles a provocar infecciones fúngicas cutáneas. Por consiguiente, la composición según la presente invención puede usarse para el tratamiento de micosis en la piel, el cuero cabelludo y las uñas, sin la necesidad de investigaciones de diagnóstico preventivas con el objetivo de identificar el microorganismo o los microorganismos implicados.

10 Además, basándose en sustancias de origen natural, tales como los aceites esenciales de *Melaleuca alternifolia*, orégano y lima, está desprovista sustancialmente de toxicidad. La presencia de una cantidad sustancial de ésteres de vitamina E también previene o al menos mitiga cualquier efecto irritante o alérgico debido a los aceites esenciales.

A partir de las pruebas preliminares llevadas a cabo con la composición según el ejemplo 3 en los microorganismos mostrados en la tabla 4, se encontraron efectos de reducción microbiana similares a los obtenidos con la composición según el ejemplo 1.

**REIVINDICACIONES**

1. Composición para aplicación tópica con actividad antifúngica, que contiene aceite esencial de *Melaleuca alternifolia*, aceite esencial de orégano, aceite esencial de lima y un éster de vitamina E.
- 5 2. Composición según la reivindicación 1, en la que dicho éster de vitamina E es un éster con un ácido carboxílico de fórmula R-COOH, en la que R es un radical alquilo que tiene desde 1 hasta 19 átomos de carbono, o un radical alqueno o alquino que tiene desde 2 hasta 19 átomos de carbono.
3. Composición según la reivindicación 2, en la que dicho éster es acetato, n-propionato o linoleato de vitamina E, preferiblemente acetato de alfa-tocoferilo.
- 10 4. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que dichos aceites esenciales de *Melaleuca alternifolia*, orégano y lima constituyen al menos el 3% en peso de la composición y cada uno de ellos constituye al menos el 1% en peso de la composición.
5. Composición según la reivindicación 4, que contiene desde el 10% hasta el 97% de dicho éster de vitamina E.
6. Composición según la reivindicación 5, en la que dicho éster de vitamina E es acetato de alfa-tocoferilo.
- 15 7. Composición según la reivindicación 5, caracterizada porque consiste en aceite esencial de *Melaleuca alternifolia*, aceite esencial de orégano, aceite esencial de lima y dicho éster de vitamina E, que es preferiblemente acetato de alfa-tocoferilo.
8. Composición según la reivindicación 7, que consiste en el 95%-97% de acetato de alfa-tocoferilo y el 3-5% de dichos aceites esenciales, constituyendo cada uno de dichos aceites esenciales al menos el 1% en peso sobre el peso de la composición.
- 20 9. Composición según la reivindicación 4, en forma de gel hidrófobo, que contiene del 10 al 50% de dicho éster de vitamina E, del 20 al 60% de una manteca o cera vegetal, desde el 10 hasta el 30% de triglicérido de ácido caprílico y cáprico y desde el 5 hasta el 20% de un agente gelificante para lípidos.
- 25 10. Composición según la reivindicación 9, en la que el agente gelificante para lípidos se selecciona del grupo que consiste en triglicérido de ácido palmítico y esteárico, olivato de sorbitano y sílice.
11. Composición según la reivindicación 10, que comprende además uno o más de aceite de ricino hidrogenado, fitoesteres y ceramida.
12. Composición según la reivindicación 11, en la que dicho éster de vitamina E es acetato de alfa-tocoferilo, dicha manteca vegetal es manteca de karité y dicha ceramida es ceramida-NP.