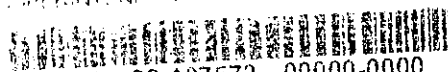


PETITORIO

AS: 108.616



SECRETARÍA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



Nº. 08-107572-00000-0000

Dep. 0020 NUECREACION
FOLIO 378 FASE NACIONAL
FOLIO 147

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

1

SOLICITUD DE:☒ Patente de Invención.☐ Patente de Modelo de Utilidad.☐ Capítulo I.☒ Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)Nombre: **PANACEA BIOTEC LTD.**

Dirección: B-1 Extn./A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi 110 044, India

Nacionalidad o Domicilio: India

Lugar de Constitución: India

Teléfono:

Fax:

E-mail

IDENTIFICACIÓNC.C. ☐ NIT ☐C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

3

REPRESENTANTE
O APODERADONombre: **JUAN PABLO CADENA SARMIENTO**

Dirección: Cra. 7 No. 71-21 Torre B – Piso 4, Bogotá, Colombia.

Teléfono: 744-2200

Fax: 742-2200

E-mail:

IDENTIFICACIÓNC.C. ☒ NIT ☐C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número 80.410.337 TP 57492

4

INVENTOR (ES)
(72)Nombre: **Rajesh JAIN, Kour Chand JINDAL, Aniruddha DATTA.**

Dirección: Panacea Biotec Ltd, B-1 Extn./A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi - 110 044, IN; Panacea Biotec Ltd, B-1 Extn., A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi - 110 044, IN; Panacea Biotec Ltd, B-1 Extn., A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi 110 044, IN (Respectivamente).

Nacionalidad o Domicilio: India (Respectivamente).

5 PCT (86)Solicitud Internacional No. PCT/IN2007/000111Fecha 19-03-2007Publicación Internacional No. WO 2007/113851 A2Fecha 11-10-2007**6 Título (54):** **COMPOSICIONES NOVEDOSAS PARA TRASTORNOS DEL CABELLO, Y PROCEDIMIENTO DE PREPARACION DE LAS MISMAS****7 Clasificación Internacional (51):** _____**8 Prioridad**SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

IN

(32) Fecha

31-03-2006

(31) Número de Solicitud

930/DEL/2006

9 Comprobante de pago No.08 - 66, 164**Fecha**08-10-2008

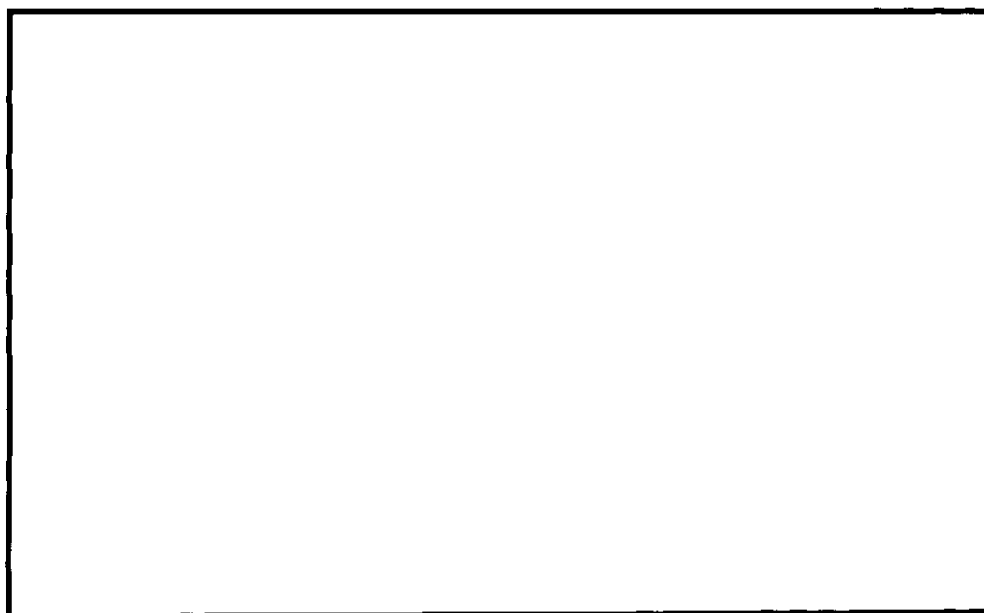
Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

10

ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud. \$ 501.000
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Poderes, si fuere el caso. **Fotocopia autenticada**
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones.
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- ☐ Arte final 12x12.
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☒ Otros: Tarjeta de Propietarios
Documentos PCT

11 FIGURA CARACTERÍSTICA:



12 Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: JUAN PABLO CADENA SARMIENTO

FIRMA:

[Handwritten signature]

C.C. 80.410.337 de Usaquén TP 57492 del C.S.J.

Instrucciones para la presentación de los anexos, ver reverso de esta página.

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
11 October 2007 (11.10.2007)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2007/113851 A2

(51) International Patent Classification:

A61Q 7/00 (2006.01) A61K 36/28 (2006.01)
A61K 8/97 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/IN2007/000111

(22) International Filing Date: 19 March 2007 (19.03.2007)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

930/DEL/2006 31 March 2006 (31.03.2006) IN

(71) Applicant (for all designated States except US):
PANACEA BIOTEC LTD. [IN/IN]; B-1 Extn./A-27,
Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road,
New Delhi 110 044 (IN).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): JAIN, Rajesh
[IN/IN]; Panacea Biotec Ltd, B-1 Extn./A-27, Mohan
Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New
Delhi - 110 044 (IN). JINDAL, Kour, Chand [IN/IN];
Panacea Biotec Ltd, B-1 Extn., A-27, Mohan Co-operative
Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi - 110 044
(IN). DATA, Aniruddha [IN/IN]; Panacea Biotec Ltd,
B-1 Extn., A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate,
Mathura Road, New Delhi 110 044 (IN).

(74) Agent: GUPTA, Bhartee; Panacea Biotec Ltd, B-1 Extn.,
A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura
Road, New Delhi 110 044 (IN).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES,
FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN,
IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR,
LS, LT, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY,
MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS,
RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL,
PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,
GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

- as to applicant's entitlement to apply for and be granted a
patent (Rule 4.17(ii))
- as to the applicant's entitlement to claim the priority of the
earlier application (Rule 4.17(iii))
- of inventorship (Rule 4.17(iv))

Published:

- without international search report and to be republished
upon receipt of that report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guid-
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-
ning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: NOVEL COMPOSITIONS FOR HAIR DISORDERS AND PROCESS OF PREPARATION THEREOF

(57) Abstract: Novel compositions for hair loss prevention and/or hair growth promotion comprising at least active agent prefer-
ably derived from natural source such as from the plant Vernonia sp., either alone or in combination with other active agent(s) and
optionally one or more excipient(s) are provided. The process for the extraction of hair growth promoting agent and preparation of
compositions comprising such active agent are also described. The novel composition is preferably in the form of an oral or topical
preparation such as tablet, capsule, liquid solution or suspension, cream, gel, lotion or spray and is useful against hair disease(s)/dis-
order(s) and/or other associated disorders particularly in the management of testosterone induced androgenic alopecia.

WO 2007/113851 A2

54

NOVEL COMPOSITIONS FOR HAIR DISORDERS AND PROCESS OF PREPARATION THEREOF

FIELD OF THE INVENTION

5 The present invention relates to novel compositions for hair loss prevention and/or hair growth promotion comprising at least one agent preferably derived from natural source as active agent, either alone or in combination with other active agent(s), and at least one carrier, optionally with one or more other excipient(s). The active agent is preferably extracted from the plant *Vernonia sp.* The present invention also describes
10 process for extraction of the hair growth promoting agent and also process of preparation of compositions comprising such active agent. Also the present invention provides method of using such compositions. The novel composition is in the form of an oral preparation such as tablet or capsule, or a topical preparation such as liquid solution or suspension, cream, gel, lotion or spray. The compositions are particularly
15 useful against hair disorders and/or other associated disorders particularly in the management of testosterone induced androgenic alopecia. The compositions of the present invention are useful as a pharmaceutical or a cosmetic or an ayurvedic product.

BACKGROUND OF THE INVENTION

20 The use of herbal products for medicinal benefits has played an important role in nearly every culture on earth. Herbal medicine was practiced by ancient people in Africa, Asia, Europe, and the Americas. The recent increase in the use of herbal products is associated with the belief that herbs can provide some benefits over and above allopathic medicine and allows users to feel that they have some control in their choices of medications. In
25 India particularly, Ayurveda is an example of a long standing tradition that offers a unique insight into approaches for the prevention and/or treatment of various human ailments. These herbal products are safe compared to allopathic drugs.

Vernonia anthelmintica plant is cultivated by the Sri Lankans, and is in great repute as a
30 remedy, which is indicated by its name. The bitter, nauseous, black seeds of this plant, in doses of 50 to 60 grains, are valued in Sri Lanka as an anthelmintic and are commonly used for expelling the *Ascaris lumbricoides*, and also as a vermicide. The dose of the powdered seed to an adult is from $\frac{1}{2}$ to 1 drachm. The native physicians prescribe it generally as a tonic in the shape of an infusion. The Sri Lankan name and the Tamil name

5

- of *Vernonia anthelmintica* is *sanne nayan* and *kado-seragam* respectively. The *Vernonia* plant is a small herb found all over India and its powdered seed is especially mixed with honey to expel intestinal worms, cough and indigestion. It is also commonly referred to as Iron weed and is a very common plant in the Western states, growing in the woods and prairies, and along river streams, and flowering from July to September. The root, which is the part used, is bitter, and imparts its properties to water or alcohol. Iron weed is a bitter tonic, deobstruent, and alterative. In powder or decoction, the root is beneficial in amenorrhoea, dysmenorrhoea, leucorrhoea, and menorrhagia. In intermittent, remittent and bilious fevers, the decoction or a saturated tincture has been recommended. It is also said to have been useful in scrofula, and some cutaneous diseases. Dose of the decoction is usually 1 to 2 fluid ounces; of the tincture, 1 to 2 fluid drachms. The leaves or powdered root in the form of poultice make an excellent discutient application to tumors. Several species of the plant *Vernonia* such as *Vernonia noveboracense*, Willdenow, and its variety, *V. praealta*, bearing purple flowers, and the *V. tomentosa*, with some other species possess similar medicinal properties as *Vernonia anthelmintica*. The root of *V. nigritiana*, Oliver, of West Africa, is used in Senegambia, under the name of *batiation*, as a febrifuge. It contains the glucoside namely *vernonin* (Heckel and Schlagdenhauffen, *Amer. Jour. Pharm.*, 1889, p. 40).
- Vernonia* belongs to the Asteraceae family. Its sesquiterpene lactones have demonstrated anti-tumor activity, and the *Vernonia* chemicals (vernoniosides) of the pith have proven effective against drug-resistant malarial parasites, which are very common within the range of this plant. *Vernonia* have been part of Tanzanian folk medicine for hundreds of years. The WaTongwe traditionally use *Vernonia* for stomachaches and several parasitic infections. *V. latifolia* has been reported to stop bleeding by inducing clot formation. The leaves are used in soup and stew as a strength-giving tonic by the local people after soaking them in water and cooking them. They also widely use *Vernonia* to treat parasites and other ailments in themselves and their livestock, indicating potential agricultural applications for other countries. Additionally, it is documented that *Vernonia* is used locally as an insecticide.

Study has been conducted to evaluate the effect(s) of a novel water-soluble leaf extract of *Vernonia amygdalina* (VA) on human breast cancer cell DNA synthesis. MCF-7 cell line, considered a suitable model, was used in this study. Treatment of cells with

76

- physiologically relevant concentrations of water-soluble VA extract potently inhibited DNA synthesis in a concentration-dependent fashion both in the absence and presence of serum. The studies demonstrate anticancer activities of both crude and fractions of a water-soluble leaf extract of VA. Earlier investigators have shown that purified fractions
- 5 of chloroform extract of VA elicited anticancer effects in human carcinoma of the nasopharynx. The process began with chloroform extraction of VA dried leaves to generate fractions A and B. Purification of A between 10% aqueous methanol and petroleum ether yielded an aqueous methanol fraction D. Fractionation of fraction D with silicic acid chromatography resulted in two cytotoxic fractions called F and H. Further
- 10 chromatography of fraction H produced colorless oil called vernodaline, while rechromatography of the cytotoxic fraction F yielded two similar crystalline compounds, vernolide and vernomygdine. These three pure fractions elicited cytotoxic effects in human carcinoma nasopharynx cells with IC_{50} values of 1.8, 2.0, and 1.5 $\mu\text{g/ml}$ respectively. The investigators concluded that the activities of these three compounds
- 15 were dependent on their possessions of the α -methyl- γ -lactone group as part of their structures. Jisaka and colleagues also showed that vernodaline and vernolide elicited antitumoral effects in leukemia cells P-388 and L-1210 with IC_{50} values of 0.11 and 0.17 $\mu\text{g/ml}$ for vernodaline and 0.13 and 0.11 $\mu\text{g/ml}$ for vernolide, respectively.
- 20 Phytochemical analysis of *V. amygdalina* samples collected at Mahale from individual plants known to be used by chimpanzees revealed the presence of two major classes of bioactive compounds. A number of known sesquiterpene lactones, and 13 new stigmastane-type steroid glucosides and their freely occurring aglycones, have been isolated (Ohigashi et al. 1991, Jisaka et al. 1992a, 1992b, 1993a, 1993b). The
- 25 sesquiterpene lactones present in *V. amygdalina* are also found in *V. colorata* and in a number of other *Vernonia* species. They are well known for their anthelmintic, antiamoebic, antitumor, and antibiotic properties (Toubiana and Gaudemer 1967, Kupchan et al. 1969, Asaka et al. 1977, Gasquet et al. 1985, Jisaka et al. 1992a, 1993b). Crude methanol extracts of the leaves exhibited immunosuppressive activity and
- 30 inhibition of the process that initiates the first stage of tumor cell growth (Koshimizu et al. 1993). The cytotoxic sesquiterpene lactones were found to be most abundant in the leaves and bark. *Vernonia* leaves are thus used to treat stomachaches and parasitic infections, and the plant is also used as an insecticide, strength giver, and a blood

87

clotter (McGraw Hill, 2000). Further, a traditional report from Indian traditional medicine has found that the tropical plant *Vernonia anthelmintica* seeds are both anti-inflammatory and cytotoxic.

- 5 Alopecia is the absence or slowing of hair growth in an area of the body where hair formerly grew. It may be caused by physical damage to the hair itself or to the hair follicles, but it is most often the result of changes in the natural growth cycle of hair. In some types of alopecia, the growth cycle is disrupted by some temporary situation such as a chemical imbalance or stress. However, the vast majority (95%) of cases of hair
- 10 loss in both men (male pattern baldness) and women (female diffuse baldness) are genetic in origin. Below the surface of the skin is the hair root, which is enclosed within a hair follicle. At the base of the hair follicle is the dermal papilla (or papilla). The dermal papilla is fed by the bloodstream which carries nourishment to produce new hair. The dermal papilla is a structure very important to hair growth because it contains
- 15 receptors for male hormones and androgens. Androgens regulate hair growth and in scalp hair androgens may cause the hair follicle to get progressively smaller and contribute to the development of alopecia (Hoffmann, 2001).

- Causes of hair loss are varied. Six major types of hair loss are namely alopecia areata,
- 20 androgenetic alopecia, anagen effluvium (cancer treatment hair loss), self induced hair loss, telogen effluvium and scarring alopecia. Other types of hair loss include syphilitic alopecia (usually a manifestation or secondary syphilis), scleroderma (a disease that causes fibrosis i.e. hardening and tightening of the skin which interferes with the normal functioning of the hair follicles and growth of the hair and tinea capitis (which
- 25 causes hair loss by digesting the keratin of the hair). Alopecia areata is thought to be an auto-immune disease of the hair, initially appearing as a rounded bare patch about an inch across the scalp. Alopecia areata affects both men and women equally and is often experienced first in childhood. Androgenetic alopecia accounts for 95% of all hair loss. It can affect both men and women although men experience a much greater degree of
- 30 loss. When androgenetic alopecia occurs, large active hair follicles in specific areas begin to change to smaller less active ones that shrink slightly with each new growth cycle. Testosterone 5 α -reductase converts testosterone to 5 α -DHT. 5 α -DHT causes the hair shafts to narrow producing progressively finer hairs with each new growth cycle

98

until eventually the hair becomes transparent and stop emerging. Thus this male hormone, 5 α -DHT contributes to androgenetic alopecia in those who are genetically predisposed. It is interesting to note that individuals with a deficiency in testosterone 5 α -reductase do not develop androgenetic alopecia. This is because the body is unable to convert testosterone into 5 α -DHT (Hoffmann et al., 2000; Hibberts et al., 1998).

Anagen Effluvium is the sudden hair loss which occurs as a result of chemicals or radiation, such as the hair loss that results during certain types of chemotherapy or radiation treatment. The hair loss is usually sudden occurring 1 to 3 weeks after exposure to the chemicals or radiation has occurred. Damage to the hair in some cases is self inflicted sometimes consciously or unconsciously. The two main types of self induced hair loss are trichotillomania (which results from the continuous pulling or plucking of the hair) and traction alopecia (usually caused by continuous and excessive pulling on the hair due to various types of hairstyling). Telogen Effluvium occurs when sudden or severe stress causes an increase in the shedding of hair (Brajac et al., 2003). Scarring alopecia occurs when there is inflammation in the hair follicles due to infection. It is easy to identify a case of severe scarring alopecia because there will be rough patches on the surface of the scalp made up of small blood vessels and connective tissue. Scarring alopecia is mainly caused by Discoid Lupus Erythematosus, Lichen Planus, Pseudopelade of Brocq, Aplasia Cutis Congentia or Congenital Atrichia

Several drugs are available to treat alopecia such as 5 α -DHT inhibitors (Anti-androgens), SOD (Super oxide dismutases) mimetics, Vasodilators, Activation of PGHS-1 (Prostaglandin-H synthase-1) and Potassium channel openers (PCOs).

The main cause of hair loss is the binding of 5 α -DHT to the androgen receptors. The term "5 α -DHT inhibitor" is used for the substances that inhibit enzymes responsible for producing 5 α -DHT, such as testosterone 5 α -reductase, or otherwise block or mask activity of 5 α -DHT by binding to 5 α -DHT thereby inactivating it and/or binding to 5 α -DHT receptors. The 5 α -DHT inhibitors used in the treatment of alopecia are saw palmetto extract, nettle root extract, azelaic acid and *Ginkgo biloba* (Hiipakka et al., 2002; Kaufman, 2002). Super oxide dismutases are enzymes which destroy super oxide free radical, an important biological mediator. In many systems super oxide opposes the action of another ubiquitous messenger substance, nitric oxide. Nitric oxide is natural hair-growth stimulating factor. SOD mimetics include prazotide copper and a copper-

709

binding peptide. TEMPOL (4-Hydroxy-2, 2, 6, 6-tetramethyl piperidiny1 oxyl or 4-Hydroxy TEMPO) is another SOD mimetic. Vasodilators act by increasing the amount of blood to the hair follicle. Topical minoxidil was originally a drug for hypertension and because it is a vasodilator, it is now the most widely recommended treatment for androgenetic alopecia. Recent studies have shown that topical minoxidil does not cause an increase in skin blood flow which was originally thought to be the mechanism by which minoxidil works. Studies carried out suggest that minoxidil works by activating PGHS-1 which helps in promoting hair growth (Messenger et al., 2004). The opening of intracellular potassium channels is a common mechanism of action for a set of anti-hypertensive drugs that includes the hair-growth-inducing agent minoxidil. Recent work suggests PCOs also influence hair growth.

Treatment of alopecia areata involves use of corticosteroids (topical application), dithranol, retin A (tretinoin), topical minoxidil (marketed as Regaine, Rogaine or Headway) and zinc (Alabdulkareem et al., 1998; Meidan et al., 2001) or administration of systemic cortisone, PUVA treatment, or use of irritants. Treatments for androgenetic alopecia particularly for male pattern baldness include minoxidil (most widely used), propecia (finasteride), retin-A (tretinoin), zinc and skinoren / azelaic acid (Kaufman et al., 1999) and for female pattern baldness include Diane 35 (cyproterone acetate with ethinylloestradiol), cimetidine, cyproterone acetate, spironolactone, nizoral / ketoconazole. The treatment for trichotillomania often involves counseling or psychiatric help; however in some cases an antidepressant may be prescribed. Generally a change in hairstyle that reduces the traction on the hair and hair follicle is all that is required in the treatment of traction alopecia. Telogen Effluvium which is the hair loss caused by child birth, pregnancy termination, starting or stopping birth control pills, drug therapy, severe emotional stress, etc. are usually temporary and in most cases hair will grow back normally soon after it has fallen out. Treatment of scarring alopecia includes use of topical corticosteroid ointments such as triamcinolone acetonide, anti-malarial drugs such as hydroxychloroquine, steroid lotions, etc. For syphilitic alopecia, penicillin is often used to treat the condition. Tinea Capitis, which is the hair loss caused by ringworm infection, involves use of commonly used treatment for ringworm such as an anti-fungal agent e.g. Nizoral shampoo (ketoconazole 2%).

X 10

- Natural Products in the treatment of alopecia include Aloe (*Aloe barbadensis*), Burdock (*Arctium minus*), Capsicum (*Capsicum annuum L*), Ginger (*Zingiber officinale*), Ginkgo (*Ginkgo biloba*), Green Tea (*Camellia sinensis*), Hip (*Rosa canina*), Lavender (*Lavendula officinale*), Milfoil (*Achillea millefolium*), Onion (*Allium cepa*), Pygeum (*Pygeum africanum*), Rattanjot (*Arnebia sp.*), Red Pepper (*Capiscum annum*), Rosemary (*Rosamarinus officinalis*), Safflower oil (*Carthamus tinctorious*), Saw Palmetto (*Serenoa repens*), Stinging Nettle (*Urtica dioica*) and Tea Tree Oil (*Melaleuca alternifolia*).
- 10 *Aloe barbadensis* contains an enzyme called superoxide dismutase and activates the production of nitric oxide that stimulates hair re-growth in those suffering from male pattern baldness. Emollient properties also protect against damage to the scalp and hair. *Arctium minus* extract helps reverse scalp conditions due to alopecia and promotes recovery of scalp irritation. It also helps to improve hair strength, shine and body with its
- 15 natural phytosterols and essential fatty acids. *Capsicum annuum L* stimulates hair growth by 50% and increases blood flow to the scalp as well as histamine release to stimulate cell division. It is excellent at accelerating new hair growth. Ginger has circulatory agents that stimulate the hair follicle's growth cycle. Additionally, ginger is rich in fatty acids which are recommended for hair loss, and the thinning of the hair shaft. Ginkgo extracts
- 20 have 5 α -DHT inhibitory activity and hence possess hair growth stimulatory activity. It also enhances the microcirculation in the roots and hence stimulates hair growth. It is thought that natural chemicals called catechins found in green tea may inhibit the enzyme type-I testosterone 5 α -reductase which converts testosterone into 5 α -DHT. Green tea is therefore believed to effective in preventing and treating male pattern type baldness. Hip
- 25 extract is rich in vitamins C, B1, B2, pyrophosphate P, K and E, tannins, pectin and fruit acids. Vitamin B1 takes part in skin moisture balance and is essential for normal skin functions. Vitamin B2 decreases sebaceous secretions and prevents hair loss. It improves local circulation, thus stimulating hair growth and nourishing skin. Lavender has very strong anti-inflammatory properties to help combat alopecia. It provides shine, volume
- 30 and lift without stripping hair color. *Achillea millefolium* extract contains essential oils, tannins and organic acids. The extract has healing, anti-inflammatory and soothing action and stimulates hair growth. Nettles have been used to treat alopecia due to their effectiveness in blocking 5 α -DHT. *Allium cepa* extract has a high sulfur content which is

1211

believed to be a hair-healing mineral. *Pygeum africanum* extract inhibits the enzyme type-I testosterone 5 α -reductase. It is widely used to prevent male pattern baldness. *Arnebia sp.* root extract of the plant yields a naphthaquinone named as shikonin. Shikonin is testosterone 5 α -reductase inhibitor and so is proposed to have hair fall preventive activity. *Capiscum annum* extract acts as a skin irritant to draw blood and nutrients to the scalp and also encouraged the release of histamines that stimulated cell division and hair re-growth. Rosemary has been shown to promote increased circulation as well as help remove dandruff and sebum accumulations on the scalp. *Carthamus tinctorious* extract acts as a vasodilator that dilates blood vessels. This allows more blood to deliver nutrients to the hair follicles. *Serenoa repens* extract is very effective at blocking the formation of 5 α -DHT and appears to block the androgen receptors which are found on the hair follicles. It blocks both the type-1 and type-2 forms of testosterone 5 α -reductase. *Urtica dioica* extract is thought to block the conversion of testosterone into 5 α -DHT. The essential oil extract of *Melaleuca alternifolia* has shown to kill the yeast (*Pityrosporum ovale*) responsible for causing dandruff. This yeast infects the scalp, causing inflammation and itching leading to hair loss. Tea tree oil soaks through the skin and kills the yeast so that the hair is free from dandruff and hence reduces the hair loss. The bioactive constituents such as essential oils derived from pine needles and burdock roots; tannins (oak and willow bark); bioflavonoids (willow bark, pine needles and rice husks) and vitamins B1, B6 and B7 (rice husks and pine needles) have shown to possess hair growth promoting activity.

It is well known in the art that certain undesirable physiological manifestations, such as acne vulgaris, seborrhea, female hirsutism, male pattern baldness and benign prostatic hypertrophy, are the result of hyperandrogenic stimulation caused by an excessive accumulation of testosterone or similar androgenic hormones in the metabolic system. Hair growth depends on a close interaction of different cell populations of the hair follicle. In certain regions of the body, androgens interfere with this highly regulated cooperation in a yet poorly understood manner. The response of hair follicles to androgens can be categorized as androgen-dependent, e.g. in the beard, androgen-sensitive, e.g. in the frontal scalp of affected individuals, or androgen-independent, e.g. in the occipital scalp. At the target cell level, the balance between 5 α -reductase, 17 beta-hydroxysteroid-dehydrogenase (17 β -HSD) and 3 α -hydroxysteroid

1312

- dehydrogenase (3 alpha-HSD) yields metabolites with different androgenic potential. Early attempts to provide a chemotherapeutic agent to counter the undesirable results of hyperandrogenicity resulted in the discovery of several steroidal antiandrogens having undesirable hormonal activities of their own. The estrogens, for example, not only
- 5 counteract the effect of the androgens but have a feminizing effect as well. Non-steroidal antiandrogens have also been developed, for example, 4'-nitro-3'-trifluoromethylisobutyranilide. However, these products, though devoid of hormonal effects, are peripherally active, competing with the natural androgens for receptor sites, and hence have a tendency to feminize a male host or the male fetus of a female host. It
- 10 recently became known in the art that the principal mediator of androgenic activity in some target organs is 5 alpha-dihydrotestosterone, and that it is formed locally in the target organ by the action of testosterone-5 alpha-reductase. It therefore has been postulated and demonstrated that inhibitors of testosterone-5 alpha-reductase will serve to prevent or lessen symptoms of hyperandrogenic stimulation.
- 15 Finasteride (Propecia®) is a specific type II 5-alpha reductase inhibitor. That is, it inhibits the enzyme responsible for regulating conversion of testosterone to dihydrotestosterone (DHT). By reducing DHT levels in the scalp, the drug decreases DHT's effects on the hair follicles, reversing the process of hair loss. Finasteride
- 20 inhibits expression of the enzyme, 5-alpha reductase, which regulates production of dihydrotestosterone (DHT). By lowering DHT levels in the scalp, it reduces DHT's harmful effect on hair follicles. Finasteride decreases DHT concentrations in the serum and the scalp by up to 70% and 60%, respectively.
- 25 Recently, there has been increased interest in the use of natural therapy for treatment of a diseased state. A number of herbal extracts have been demonstrated to be useful in the treatment of benign prostatic hyperplasia. One such herbal extract is the extract of the berries of Saw Palmetto. Saw Palmetto is a small palm tree with large leaves and large deep red black berries. Saw Palmetto berries contain an oil with a variety of fatty acids and
- 30 phytosterols. The fat soluble extract of Saw Palmetto berries has been shown to inhibit the conversion of testosterone, which is thought to be responsible for the enlargement of the prostate. In addition, Saw Palmetto extract inhibits the binding of DHT to receptors, thus blocking DHT's action and promoting the breakdown of the potent compound. Another herbal extract utilized is African Pygeum. Pygeum is a large evergreen tree growing in the

143

higher plateaus of southern Africa. The bark of the tree is processed to produce a fat-soluble fraction, which contains phytosterols, pentacyclic triterpenoids and ferulic esters of long chain fatty acids. African Pygeum extracts in double blind clinical trials have been found to be effective in treating a wide range of prostatic hyperplasia. Consumption of Pygeum extract
5 resulted in a significant amelioration of symptoms, reduction in prostate size and clearance of bladder neck urethral obstruction. Stinging nettles extract, which are an extract of a perennial plant growing worldwide, have been demonstrated to show a reduction in prostatic growth potential in mice with the administration of a high dosage of the nettle root extract. Stinging nettles have also been traditionally been known as a hair and skin tonic, stimulating hair
10 growth, improving condition of the hair and skin and treating dandruff. There still remains a need for a natural hair growth stimulant for use in treating androgenetic alopecia, having reduced side effects and risk of toxicity compared with synthesized pharmaceutical compounds. The conversion of testosterone (T) to dihydrotestosterone (DHT) via the enzyme 5-alpha reductase (5AR) contributes to hair loss.

15

No literature has been found relating to the use of *Vernonia sp.* extract for the treatment of hair loss. There still exists a need for a continued search for novel natural products that may be used for prevention of hair loss and/or regeneration of hair devoid of any toxic effects and preferably which aids in restoration of hair. The present invention not
20 only provides a novel solution to the aforementioned problem but also describes pharmaceutical compositions comprising an extract of a natural product highly effective for treatment of such hair related disorders.

SUMMARY OF THE INVENTION

25 It is an objective of the present invention to provide novel compositions for hair loss prevention and/or hair growth promotion comprising at least one agent(s) derived from a natural source or synthetic source or semi-synthetic source as the active agent, either alone or in combination with other active agent(s) and optionally one or more excipient(s).

30

It is an objective of the present invention to provide novel compositions for hair loss prevention and/or hair growth promotion comprising an extract obtained from the plant *Vernonia sp.* as the active agent, either alone or in combination with other active agent(s) and optionally one or more excipient(s).

H14

It is an objective of the present invention to provide novel compositions for hair loss prevention and/or hair growth promotion comprising an extract obtained from the plant *Vernonia anthelmintica* as the active agent, either alone or in combination with other active agent(s) and optionally with one or more excipient(s).

5

It is another objective of the present invention to provide process for preparation or extraction of the hair loss preventing and/or hair growth promoting agent from a natural source or synthetic source or semi-synthetic source.

- 10 It is another objective of the present invention to provide process for preparation of compositions comprising the hair loss preventing and/or hair growth promoting active agent.

It is a further objective of the present invention to provide process for the preparation of such novel composition which comprises the following steps:

15

- i) mixing the hair loss preventing and/or hair growth promoting active agent(s) with one or more excipient(s), and
- ii) formulating the mixture into a suitable dosage form.

- 20 It is a further objective of the present invention to provide a method of using such novel hair loss preventing and/or hair growth promoting agent or pharmaceutical compositions comprising such agent which comprises administering to a subject in need thereof an effective amount of such agent or composition thereof.

- 25 The novel compositions of the present invention are preferably in the form of oral or topical preparations, more preferably in the form of topical preparations such as liquid, cream, gel, lotion or spray. The compositions are useful for hair loss prevention and/or hair growth promotion preferably for the treatment of testosterone induced androgenic alopecia.

30

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

- The present invention provides novel compositions for hair loss prevention and/or hair growth promotion comprising at least one agent(s) derived from a natural source or synthetic source or semi-synthetic source as the active agent, either alone or in combination with other active agent(s) and optionally one or more excipient(s).

35

7615

Preferably the hair loss preventing and/or hair growth promoting agent is derived from a natural source. In an embodiment, the composition of the present invention is useful as a pharmaceutical or a cosmetic or ayurvedic product. In an embodiment of the present invention, the novel compositions for hair loss prevention and/or hair growth promotion comprises an extract obtained from the plant *Vernonia sp.* as the active agent, either alone or in combination with other active agent(s) and optionally one or more excipient(s). In a preferred embodiment of the present invention, the novel compositions for hair loss prevention and/or hair growth promotion comprises an extract obtained from the plant *Vernonia anthelmintica* as the active agent, either alone or in combination with other active agent(s) and optionally one or more excipient(s). In another embodiment, the plant part used for preparing the extract may be either any part or mixture of parts or whole plant. The parts used are preferably selected from aerial parts such as leaves, flowering tops, flowers, seeds, fruits and stems, or combination of such parts.

In another embodiment of the present invention is provided a process for preparation or extraction of the hair loss preventing and/or hair growth promoting agent from a natural source or synthetic source or semi-synthetic source, or a combination of such sources.

In an embodiment of the present invention, the process of extraction of the hair loss preventing and/or hair growth promoting agent comprises the following steps:

- i) Extraction of dried and powdered plant or part(s) of plant with a non-polar solvent or mixtures thereof,
- ii) Distillation of the extract to remove the solvent,
- 25 iii) Optionally, further extraction of the residue with a polar solvent or mixtures thereof,
- iv) Optionally, distillation of the extract to remove the solvent to obtain the desired extract preferably as a powder.

In another embodiment, the process for extraction of the hair loss preventing and/or hair growth promoting agents from *Vernonia* species comprises the following steps:

- i) Extraction of dried and powdered plant or part(s) of plant with a polar solvent or mixture thereof,
- ii) Optionally, distillation/concentration of the extract to remove/reduce the

17/16

solvent,

- iii) Optionally drying the extract to remove the solvent to obtain the desired extract preferably as a powder.

5 In another embodiment, the process for extraction of the hair loss preventing and/or hair growth promoting agent(s) from *Vernonia* species comprises the following steps:

- i) Expression of the juice of the fresh plant or part(s) of plant optionally with addition of a polar solvent or mixture thereof,
- ii) Filtration of the juice,
- 10 iii) Optionally, distillation/concentration of the extract to remove/reduce the solvent,
- iv) Optionally drying the extract to remove the solvent to obtain the desired extract preferably as a powder.

15 The polar solvent useful in the present invention is selected from but not limited to acetone, methanol, ethanol, isopropyl alcohol such as isopropanol, butanol, water, and the like used either alone or in combination thereof. The non-polar solvent useful in the present invention is selected from but not limited to pentane, hexane, heptane, diethyl ether, petroleum ether, chloroform, dichloromethane, dichloroethane, or mixtures
20 thereof. The mode of drying employed in the invention is selected from a method known to art including but not limited to tray drying, vacuum tray drying, agitated vacuum tray drying, spray drying, freeze drying, lyophilization and the like used either alone or in combination thereof.

25 In a further embodiment of the present invention is provided a process for the preparation of novel composition comprising the hair loss preventing and/or hair growth promoting agent, which comprises the following steps:

- i) mixing the hair loss preventing and/or hair growth promoting active agent(s) with one or more excipient(s), and
- 30 ii) formulating the mixture into a suitable dosage form.

In an embodiment, the hair loss preventing and/or hair growth promoting agent comprises one or more phytosterol(s). The phytosterol(s) are either extracted from the natural source such as those obtained from *Vernonia* sp. or synthesized by using a

A17

- combination of the synthetic techniques known to the art. The phytosterol(s) may alternatively be obtained semi-synthetically. In an embodiment, the extract for hair loss prevention and/or hair growth promotion also comprises one or more components such as fatty acids or fatty acid esters, carotenoids, and the like or mixtures thereof. In an
- 5 embodiment, the *Vernonia* extract may be subjected to column chromatography for isolation of the phytochemical constituent(s). *Vernonia anthelmintica* extract may be column chromatographed using alumina neutral as stationary phase and 15% chloroform in hexane as mobile phase. Fractions obtained may be pooled and dried. Pooled fraction may again be column chromatographed using silica gel (100-200) as
- 10 stationary phase and hexane as mobile phase. Polarity of mobile phase may be increased to 7% chloroform in hexane. The fractions obtained in this mobile phase may be pooled and dried under vacuum; and the pooled fraction may be crystallized using a suitable solvent to obtain a pure compound.
- 15 In an embodiment, the extract for hair loss prevention and/or hair growth promotion comprises one or more extract(s) obtained from several species of the plant *Vernonia* such as but not limited to *Vernonia noveboracense*, *Vernonia praealta*, *Vernonia tomentosa*, *Vernonia anthelmintica*, *Vernonia amygdalina*, *Vernonia cinerea*, and the like.
- 20 In an embodiment, the novel extract of the present invention obtained from the plant *Vernonia sp.* is combined with at least one other extract obtained from a natural source including but not limited to a group comprising Aloe (*Aloe barbadensis*), Burdock (*Arctium minus*), Capsicum (*Capsicum annum L*), Ginger (*Zingiber officinale*), Ginkgo (*Ginkgo biloba*), Green Tea (*Camellia sinensis*), Hip (*Rosa canina*), Lavender
- 25 (*Lavendula officinale*), Milfoil (*Achillea millefolium*), Nettles (*Urtica dioica*), Onion (*Allium cepa*), Pygeum (*Pygeum africanum*), Rattanjot (*Arnebia sp.*), Red Pepper (*Capiscum annum*), Rosemary (*Rosamarinus officinalis*), Safflower Oil (*Carthamus tinctorious*), Saw Palmetto (*Serenoa repens*), and Tea Tree Oil (*Melaleuca alternifolia*).
- 30 In a further embodiment of the present invention is provided a method of using the novel hair loss preventing and/or hair growth promoting agent or pharmaceutical compositions comprising such agent which comprises administering to a subject in need thereof an effective amount of such agent or composition thereof. The

1918

compositions of the present invention are useful in the management of hair disease(s)/disorder(s) including prophylaxis, amelioration or treatment of such hair disease(s)/disorder(s).

- 5 In a further embodiment, the hair loss preventing and/or hair growth promoting agent or compositions thereof is useful in one or more of several hair disorders including but not limited to a group comprising alopecia areata, androgenetic alopecia, anagen effluvium (cancer treatment hair loss), self induced hair loss, telogen effluvium, scarring alopecia, syphilitic alopecia, scleroderma and tinea capitis. In an embodiment, the hair loss
- 10 preventing and/or hair growth promoting active agent preferably acts by blocking or inhibiting the Testosterone 5 α -reductase responsible for converting testosterone to 5 α -DHT. The 5 α -DHT causes the hair shafts to narrow producing progressively finer hairs with each new growth cycle until eventually the hairs become transparent and stop emerging. Thus this male hormone, 5 α -DHT contributes to androgenetic alopecia
- 15 primarily in those who are genetically predisposed.

- In a further embodiment, the hair loss preventing and/or hair growth promoting active agent of the present invention is additionally combined with one or more allopathic drugs that are available to treat alopecia, occurring due to different pathological conditions, such
- 20 as 5 α -DHT inhibitors (Anti-androgens), SOD (Super oxide dismutases) mimetics, Vasodilators, Activation of PGHS-1 (Prostaglandin-H synthase-1) and Potassium channel openers (PCOs). Preferably such combination leads to an additive, potentiating or a synergistic effect and might lead to a reduction in the dose of the allopathic drug used, thus minimizing the dose dependent adverse effects associated with such drug. In a further
- 25 embodiment, the hair loss preventing and/or hair growth promoting active agent of the present invention is additionally combined with one or more allopathic drugs selected from but not limited to a group comprising corticosteroids, dithranol, retin A (tretinoin), minoxidil, zinc, irritants, finasteride, skinoren/azelaic acid, cyproterone acetate with ethinyloestradiol, cimetidine, cyproterone acetate, spironolactone, ketoconazole,
- 30 antidepressant, triamcinolone acetonide, antimalarial drugs such as hydroxychloroquine, penicillin, and the like, or mixtures thereof. Any other suitable drug known to the art that is useful for treatment of hair disorders or other associated disorders such as depression or anxiety due to hair loss, etc. can be combined with the hair loss preventing and/or hair growth promoting active agent of the present invention.

2019

In a yet another embodiment, the novel compositions of the present invention can be formulated as a cosmetic, herbal, ayurvedic or pharmaceutical dosage form known to the art, preferably in the form of an oral preparation such as tablets or capsules or a topical preparation such as liquid, cream, gel, lotion or spray that are useful for hair loss prevention and/or hair growth promotion preferably for the treatment of testosterone induced androgenic alopecia. The compositions may also be in the form of a shampoo or conditioner or hair oil that could be applied topically at the desired site. In another embodiment, the preferred dose of the hair loss preventing and/or hair growth promoting active agent of the present invention is approximately about 0.01% to about 15.0% w/w, preferably about 0.1% to about 5.0% w/w of the composition.

Pharmacological Studies

The efficacy of an extract of *Vernonia anthelmintica* (prepared according to Example-1 as stated hereinafter) against testosterone-induced alopecia in hamsters was studied. Male hamsters (n=6/group) weighing 90-120 g were procured from central animal house of Panacea Biotec Ltd. for study. Drugs used to induce alopecia was Testosterone i.m. depot injection (Testoviron); B.No. K1007, German Remedies Limited; each ml of which contains Testosterone Enanthate USP.... 250 mg and Arachis oil IP...qs. The route of administration of the cream compositions was topical and the duration of study was 22 days. Hamsters were divided into two different groups; one *Vernonia anthelmintica* extract treated groups and another testosterone control group. On day 0 of study, the fur over and around the flank organs would be shaved with electric clippers. The different treatments are summarized in Table-1.

Table-1: Summary of treatment schedule

Group No.	Treatment
I	Testosterone (25mg in divided volume of 33.3µl on day 0,7 and 14) + 95%v/v alcohol (100µl/site)
II	<i>Vernonia anthelmintica</i> extract (100µl/site)

Testosterone was administered intramuscularly in divided doses, whereas *Vernonia anthelmintica* extract was applied topically twice daily for 21 days. On day 7, the fur around the flank organs was re-clipped. The amount of hair growth on the area surrounding the flank

24²⁰

organs was visually graded on day 22 on a 0-3 scale (0=bald skin, 1=slight hair growth, 2 = moderate hair growth and 3= full hair growth). Photographs of flank organ were taken on day 0 and 22. On day 22, testosterone-treated hamsters showed a significant hair loss as compared to normal group (Hair growth score; testosterone-treated = 0.58 ± 0.15 as compared to control = 2.0). Treatment with *Vernonia anthelmintica* extract (topical, 100 µl/site) significantly reversed testosterone induced-hair loss in hamsters (Figure-1). The representative photographs from different treatment groups are shown in Figure-2. The 'Control' group showed normal hair growth on day 22, which was prevented by testosterone treatment. Further, treatment with extract of *Vernonia anthelmintica* for 22 days reversed testosterone-induced hair loss.

Another study was conducted in hamsters to demonstrate the comparative efficacy of an extract of *Vernonia anthelmintica* (prepared according to Example-2 as stated hereinafter) against finasteride in androgen induced alopecia. Hamsters were divided into five different groups; one normal control group, three drug treated groups and one testosterone control group. On day 0 of the study, the fur over and around the flank organs was shaved with electric clippers. 95% alcohol (100 µl/site) was applied topically, twice daily to Testosterone Control and Normal control groups for 21 days. Saw Palmetto cream was applied topically (100 mg/site) twice daily for 21 days. 100 µl/site of 2% solution of *Vernonia anthelmintica* extract was applied topically, twice daily for 21 days. Finasteride (0.6mg/kg) was administered orally twice daily for 21 days. Different groups except normal control group was administered testosterone (25 mg, i.m. in divided doses of 33.3µl on day 0, 7, and 14) 1-hour post drug administration. At day 7, the fur around the flank organs was re-clipped. The amount of hair growth on the area surrounding the flank organs was visually graded at weekly intervals on a 0-3 scale (0=bald skin, 1=slight hair growth, 2=moderate hair growth and 3=full hair growth). The result is presented in table-2 and shown graphically in figure-3. Representative photographs of hair growth in hamsters for different treatments are shown in figure-4. The control group showed normal hair growth which was prevented by testosterone treatment. Further, finasteride or *Vernonia anthelmintica* extract composition but not Saw palmetto significantly reversed testosterone induced-hair loss as compared to control group on day 22. The study indicated that the extract of *Vernonia anthelmintica* is significantly more effective than finasteride in the treatment

21

of testosterone induced androgenic alopecia.

Table-2: Comparative hair growth profile of an extract of *Vernonia anthelmintica* against finasteride

5	S. No. Treatment	Mean* ± SEM
	1. Control	2.75 ± 0.171
	2. Testosterone (33.3. µl)	1.33 ± 0.211
	3. Saw Palmetto (100 mg)	1.58 ± 0.201
	4. <i>Vernonia anthelmintica</i> extract 2% w/v (100 µl)	2.83 ± 0.167
10	5. Finasteride (0.6 mg/kg)	2.20 ± 0.339

* Hair growth on a 0-3 scale (0=bald skin, 1=slight hair growth, 2=moderate hair growth and 3=full hair growth).

A further study was conducted in order to determine the strength of topical composition comprising *Vernonia anthelmintica* extract particularly in the form of Vernonia creams which exhibit hair growth promoting effect in testosterone-induced alopecia in hamsters. Male hamsters (n=6/group) weighing 80-90 g procured from Central animal house of Panacea Biotec Ltd. were used. Drugs used to induce alopecia was Testosterone i.m. depot injection (Testoviron); B.No. K1007, German Remedies Limited; each ml of which contains Testosterone Enanthate USP.... 250 mg and Arachis oil IP...qs. Four batches of Vernonia creams of different strengths were used for conducting the study namely B.No. 0629/010A (2% w/w), B.No. 0629/010C (0.2% w/w), B.No. 0629/014A (2% w/w) and B.No. 0629/014C (0.2% w/w) prepared according to Example-3 and Example-4 as stated hereinafter. The route of administration of the cream compositions was topical and the duration of study was 22 days. The fur over and around the flank organs of hamsters was shaved with electric clippers. Hamsters were divided into four different groups and allocated different treatments. The summary of different treatments is represented in Table-3.

Table-3: Summary of treatment schedule

30	Group No. Treatment
	I Control
	II Testosterone (25mg in divided volume of 33.3µl on day 0, 7 and 14)
	III B.No. 0629/010A, 2% w/w; 100 mg, bid

23²²

- IV^a B.No. 0629/010C, 0.2% w/w; 100 mg, bid
V B.No. 0629/014A, 2% w/w; 100 mg, bid
VI B.No. 0629/014C, 0.2% w/w; 100 mg, bid

5 Testosterone was administered intramuscularly in divided doses, whereas Vernonia cream(s) (100 mg) was applied topically twice daily. All the treatments were given for 21 days. On day 7, the fur around the flank organs was re-clipped. The amount of hair growth on the area surrounding the flank organs was visually graded on day 22 on a 0-3 scale (0=bald skin, 1=slight hair growth, 2=moderate hair growth and 3=full hair growth). Photographs of flank organs for each treatment were taken before any treatment and at day 22 to study the hair growth changes, which are shown in Figure-5. The hair growth presented as mean was analyzed by one-way ANOVA followed by Student-Newman-Keuls multiple-range test. $P < 0.05$ was accepted as the level of significant difference. On day 22, testosterone-treated hamsters showed a significant hair loss as compared to normal group (Figure-5(a) and 5(b)) (Hair growth score; testosterone-treated 0.13 vs. normal control = 3). The topical application of Vernonia cream 2% w/w (B.No. 0629/010A) for 21 days significantly prevented testosterone induced-hair loss in hamsters (hair growth score 2.08) when compared to testosterone group (hair growth score 0.13) (Figure-5(c) and 5(b), respectively). Comparatively lesser hair growth was observed in hamsters treated with other Vernonia creams (B.No. 0629/010C, B.No. 0629/014A and B.No. 0629/014C). Hair growth score for B.No. 0629/010C was 0.67, B.No. 0629/014A was 0.33, and B.No. 0629/014C was 0.17 as compared to 0.13 for testosterone group (Figure-5(d), 5(e), 5(f) and 5(b) respectively). The hamsters treated with B.No. 0629/014A and B.No. 0629/014C and their respective placebo developed scales over the area of application (Figure-5(e), 5(f) and 5(g) respectively). No scale formation over the area of application was observed in hamsters treated with Vernonia creams B.No. 0629/010A and B.No. 0629/010C or their placebo (Figure-5(c), 5(d) and 5(h)). Control group showed normal hair growth which was prevented by testosterone treatment. Further, Vernonia cream (2% w/w, B.No.0629/10A) significantly prevented testosterone induced-hair loss as compared to testosterone group. However, other cream formulations of Vernonia cream prevented the testosterone-induced hair loss to a lesser extent. The results of the present study suggested that the Vernonia cream of B.No. 0629/010A i.e. 2% strength composition

24²³

was comparatively more effective in promoting hair growth in testosterone-challenged hamsters as compared to the other compositions studied.

A further study was performed to study the dose-response of Vernonia extract gel and to compare its hair growth promoting effect against Vernonia freeze dried juice gel. The Vernonia extract gel was prepared by making an organic solvent extract of Vernonia and formulating it into a gel composition. The Vernonia freeze dried juice gel was prepared by expressing the juice from fresh leaves and flowering tops of Vernonia followed by freeze drying and formulating it into a gel composition. Male hamsters (n=6-8/group) weighing 80-90 g procured from the Central animal house of Panacea Biotec Ltd. were used. Drugs used to induce alopecia was Testosterone i.m. depot injection (Testoviron); B.No. K1007, German Remedies Limited; each ml of which contains Testosterone Enanthate USP.... 250 mg and Arachis oil IP...qs. The following were used for conducting the study namely Vernonia extract gels B.No. 0629/030A (0.5% w/w), B.No. 0629/030B (1% w/w) and B.No. 0629/030C (2% w/w); and Vernonia freeze dried juice gels B.No. 0629/026A (1.25% w/w) and B.No. 0629/026B (2.5% w/w) (prepared according to Example-5 and Example-6 as stated hereinafter). The route of administration of the compositions was topical and the duration of study was 22 days. The fur over and around the flank organs of hamsters was shaved with electric clippers. Hamsters were divided into four different groups and allocated different treatments. The summary of different treatments is represented in Table-4.

Table-4: Summary of treatment schedule

Group No.	Treatment
I	Control
II	Testosterone (25mg in divided volume of 33.3µl on day 0, 7 and 14)
III	B.No. 0629/030A, 0.5% w/w; 100 mg, bid
IV	B.No. 0629/030B, 1% w/w; 100 mg, bid
V	B.No. 0629/030C, 2% w/w; 100 mg, bid
VI	B.No. 0629/026A 1.25% w/w; 100 mg, bid
VII	B.No. 0629/026B 2.5% w/w; 100 mg, bid

Testosterone was administered intramuscularly in divided doses, whereas Vernonia cream (s) (100 mg) was applied topically twice daily. All the treatments were given for

24
25

21 days. On day 7, the fur around the flank organs was re-clipped. The amount of hair growth on the area surrounding the flank organs was visually graded on day 22 on a 0-3 scale (0=bald skin, 1=slight hair growth, 2=moderate hair growth and 3=full hair growth). Photographs of flank organs were taken for each treatment before any treatment and at day 22 to study the hair growth changes. The hair growth presented as mean was analyzed by one-way ANOVA followed by Student-Newman-Keuls multiple-range test. $P < 0.05$ was accepted as the level of significant difference. The scores and representative photographs of hair growth in hamsters are represented in Figure-6 and Figure-7 respectively. On day 22, testosterone-treated hamsters showed complete hair loss as compared to normal group (Hair growth score; testosterone-treated 0 vs. normal control = 1.31 ± 0.18) (Figure-7(b) and (d)). Animals in the control group showed normal hair growth (Figure-6(b)). The topical application (100mg, bid) of Vernonia extract gels (0.5, 1, and 2% w/w) for 21 days significantly prevented testosterone induced-hair loss in hamsters when compared to testosterone group (Figure-6, Figure-7(e), (f) and (g)). The effect was found to be dose-dependent. Further, Vernonia extract gels (1 and 2% w/w)-induced hair growth (hair growth score) was found to be more intense than the normal hair growth in control group. (Figure-6). Similarly, the Vernonia freeze dried juice gels (1.25 and 2.5% w/w) also significantly promoted hair growth in testosterone-challenged hamsters (Figure-6, Figure-7(h) and (i)). The hair growth was found to be dose-dependent, yet significantly lower than that of all the extract gels and normal control as well (Figure-6). The results of the study demonstrated a dose-dependent hair growth promoting effect in hamsters treated with Vernonia extract gel (0.5 – 2% w/w), which at dose level 1% and 2% w/w was more intense than normal hair growth. Likewise, the Vernonia freeze dried juice extracts (1.25% and 2.5% w/w) also demonstrated a dose dependent effect on hair growth in hamsters but less than that of extract gels or normal hair growth.

Brief Description of Figures:

Figure-1: Effect of *Vernonia anthelmintica* extract (topical, 100 μ l/site) on testosterone-induced hair loss in hamsters. Data is represented as mean $\pm$ S.E.M. * $P < 0.05$ as compared to testosterone treated group.

25

Figure-2: Representative photographs of hair growth in hamsters: (a) control group (day 0), (b) control group day 22, (c) testosterone-treated (day 22) and (d) *Vernonia anthelmintica* extract-treated.

5 Figure-3: Comparative hair growth profile of extract of *Vernonia anthelmintica* against finasteride.

Figure-4: Representative photographs of hair growth in hamsters: (a) control group day 0, (b) control group day 22, (c) testosterone-treated day 22, (d) Saw palmetto day 22, (e) *Arnebia euchroma* day 22, (f) *Vernonia anthelmintica* day 22 and (g) finasteride
10 day 22.

Figure-5: Representative photographs of hair growth on day 22 in hamsters: (a) control group, (b) testosterone-treated, (c) treated with Vernonia cream 2% w/w, B.No. 0629/10A, (d) treated with Vernonia cream 0.2% w/w, B.No. 0629/10C, (e) treated
15 with Vernonia cream 0.2% w/w, B.No. 0629/14A and (f) treated with Vernonia cream 0.2% w/w, B.No. 0629/14C.

Figure-6: Relative profile of hair growth score in hamster treated with Vernonia extract gel (0.5-2% w/w) or Vernonia freeze dried juice gel (1.25 and 2.5% w/w) (n=6-8).

20 Figure-7: Representative photographs of hair growth pattern in hamsters: (a) control group (day 0), (b) control group (day 22), (c) testosterone-treated (day 0), (d) testosterone-treated (day 22), (e) 2% w/w, B.No. 0629/30C, (f) 1% w/w, B.No. 0629/30B, (g) 0.5% w/w, B.No. 0629/30A, (h) 2.5% w/w, B.No. 0629/26B and (i)
25 1.25% w/w, B.No. 0629/26A.

In an embodiment, the carrier useful in the present invention is selected from but not limited to a group comprising monosaccharides, disaccharides, polysaccharides, sugar alcohols, polylactic acid, cyclodextrin, lactose, glucose, raffinose, melezitose, xylitol,
30 arabinose, dextran, lactitol, maltitol, trehalose, sucrose, mannitol and starch, and the like or mixtures thereof.

In a further embodiment, the pharmaceutical composition of the present invention further comprises one or more pharmaceutically acceptable excipient(s) selected from
35 but limited to the group comprising diluents, disintegrants, binders, anti-adherants,

26
27

glidants, anti-oxidants, buffering agents, colorants, flavoring agents, coating agents, solvents, viscosifying agents, waxes, wetting agents, emulsifying agents, solubilizers, stabilizers, buffering agents, vehicles, preservatives, surfactants, deodorants, colorants, and the like.

- 5 The pharmaceutical compositions of the present invention can be prepared by dissolving or dispersing the extract of *Vernonia* sp. in appropriate base(s)/carrier(s) known to the art. The pharmaceutical composition into different dosage forms can be formulated using conventional excipients and techniques known to art. Pharmaceutical
- 10 dosage forms of the present invention can be creams, ointment, gels, foams, solutions, suspensions, medicated pad, powder, aerosols, sprays, film, and flakes. The compositions can be formulated as immediate release dosage forms or modified release dosage forms (sustained release, extended release, delayed release, prolonged release, timed release, pulsatile release and the like) or combination of such forms. The
- 15 pharmaceutical compositions of the present invention comprise the extract of the plant *Vernonia* sp. from about 0.01% to about 99% by weight alongwith one or more carrier(s) from about 1% to about 99.99% by weight of the composition optionally alongwith one or more excipient(s).
- 20 The cream composition comprising the extract of the plant *Vernonia* sp. is prepared by emulsifying the aqueous phase, comprising about 0.1 - 10% w/w preferably about 0.2 - 5% w/w of the extract, along with a suitable oleaginous phase. Other alternatives can be prepared by formulating the extract in about 0.1 - 10% w/w as Hydrophilic ointment USP with absorption bases; or water soluble bases such as Polyethylene glycol
- 25 ointment USNF; or as water absorbing bases such as Hydrophilic petrolatum USP, Lanolin USP; or in hydrocarbon bases such as White petrolatum USP. Other hydrophobic or hydrophilic base that are useful includes cocoa butter, glycerinated gelatin, hydrogenated vegetable oils, mixtures of polyethylene glycols of various molecular weights, polyoxyethylene sorbitan fatty acid esters and polyethylene
- 30 stearates, polyvinyl alcohol, polyvinyl pyrrolidone, polyacrylamide, chemically modified starch or a combination of these materials. In another embodiment, the hydrocarbon base comprises paraffins, waxes, petroleum jelly, lanolin, and the like or mixtures thereof. The foam and/or spray base comprises one or more of aqueous and nonaqueous solvents, propellants, surfactants, suspending agents and stabilizing agents.

28
27

The medicated pads comprise one or more of the following: Water, glycerin, propylene glycol, alcohol and Hamamelis water and the like.

In another embodiment, the compositions of the present invention additionally comprises

5 hygroscopic moisturizers (humectants) such as polyhydric alcohols, sodium 2-pyrrolidone-5-carboxylate (NaPCA), amino acids and derivatives, guanidine; glycolic acid and glycolate salts (e.g. ammonium and quaternary alkyl ammonium); lactic acid and lactate salts (e.g. ammonium and quaternary alkyl ammonium); other alpha hydroxy acids such as malic acid, aloe vera in any of its variety of forms (e.g. aloe vera gel); hyaluronic acid,

10 precursors and derivatives thereof (e.g. glucosamine and salt derivatives such as sodium hyaluronate); lactamide monoethanolamine; acetamide monoethanolamine; urea; and mixtures thereof. Preferred occlusive moisturizers for use herein are petrolatum, isohexadecane, isononyl isononanoate, methyl isostearate, isopropyl isostearate, and mixtures thereof. According to an embodiment, the gelling agents or gel-forming agents

15 useful in the present invention, which possess adequate mechanical, physiological and release properties, are preferably polysaccharides, like alginates, pectins, carrageenans or xanthan, starch and starch derivatives, gums like tragacanth or xanthan gum, collagen, gelatin, galactomannan and galactomannan derivatives, chitosan and chitosan derivatives, glycoproteins, proteoglycans, glucosaminoglycans, polyvinyl alcohol,

20 polyvinylpyrrolidone, vinylpyrrolidone/vinyl acetate copolymers, high molecular weight polyethylene glycols and/or high molecular weight polypropylene glycols, polyoxyethylene/polyoxypropylene copolymers, polyvinyl alcohol, polyacrylates and/or polymethacrylates, polylactides, polyglycolides and polyamino acids, and cellulose derivatives. Especially preferred gel-forming agents are selected from cellulose derivatives,

25 especially cellulose ether compounds, like methylcellulose, hydroxypropyl cellulose, hydroxyethyl cellulose, hydroxypropyl methylcellulose, sodium carboxymethylcellulose, ethyl cellulose, cellulose acetate phthalate, hydroxypropyl methylcellulose phthalate, cellulose acetate succinate and ethyl cellulose succinate. The carrier may contain one or more additional excipient(s) like sugars, sugar alcohols, surfactants, amino acids,

30 antioxidants, polyethylene glycols, and the like.

In an embodiment, the carrier may be a vegetable or a mineral oil or a combination of both. In an embodiment, the vegetable oil useful in the present invention is selected from but not limited to a group comprising sunflower oil, soyabean oil, linseed oil,

2028

cottonseed oil, olive oil, palm oil, coconut oil, sesame oil, safflower oil, and the like or mixtures thereof. Additional substances such as yohimbine (selective competitive alpha2-adrenergic receptor antagonist for local vasodilation), clove oil (mild stimulant and local anesthetic), arginine (capillary blood circulation enhancer), and the like or mixtures thereof can be added to the preparation.

Other acceptable carriers useful in formulating the compositions of the present invention are preferably lubricants such as carboxymethyl cellulose, sodium alginate, EDTA, natural vegetable oils, propylene glycol, glycerin, low melting temperature triglyceride, mineral oil, aqueous solutions of high molecular weight polyethylene oxides, and the like or mixtures thereof. Polymers such as water soluble cellulose derivative (e.g. methyl cellulose, hydroxyethyl cellulose, hydroxypropyl cellulose, sodium carboxymethyl cellulose) or other water soluble polymers such as sodium alginate, polyvinyl pyrrolidone, polyvinyl alcohol or polymer of ethylene oxide, and the like can be used in the present invention. Other optional substances that can be used in the present invention include anti-infectives such as parabens, chlorhexidine, benzyl alcohol, and the like.

Further, the acceptable conventional excipients useful in the composition of the present invention are selected from but not limited to a group of excipients generally known to persons skilled in the art such as fillers, binders, lubricants, colorants; stabilizers; preservatives; chelating agents; vehicles; bulking agents; hydrophilic polymers; solubility enhancing agents such as glycerine, various grades of polyethylene oxides, transcitol and glycofurol; tonicity adjusting agents; local anesthetics; pH adjusting agents; antioxidants; osmotic agents; chelating agents; viscosifying agents; wetting agents; emulsifying agents; acids; sugar alcohol; reducing sugars; non-reducing sugars and the like used either alone or in combination thereof e.g. diluents such as lactose, mannitol, sorbitol, starch, microcrystalline cellulose, xylitol, fructose, sucrose, dextrose, dicalcium phosphate, calcium sulphate; bulking agent and organic acid(s). The lubricants used in the present invention include but not limited to talc, magnesium stearate, calcium stearate, stearic acid, hydrogenated vegetable oil and the like used either alone or in combination thereof. The vehicles suitable for use in the present invention can be selected from but not limited to a group comprising dimethylacetamide, dimethylformamide and dimethylsulphoxide of N-methyl pyrrolidone, benzyl benzoate, benzyl alcohol, ethyl oleate, polyoxyethylene glycolated

3029

castor oils (Cremophor® EL), polyethylene glycol MW 200 to 6000, propylene glycol, hexylene glycols, butylene glycols and glycol derivatives such as polyethylene glycol 660 hydroxy stearate (commercially available as Solutrol® HS15). In another embodiment of the present invention, the compositions may additionally comprise an antimicrobial preservative such as Benzyl alcohol preferably at a concentration of about 2.0% v/v of the composition. In an embodiment of the present invention, the composition may additionally comprise a conventionally known antioxidant such as ascorbyl palmitate, butyl hydroxy anisole, butyl hydroxy toluene, propyl gallate and α -tocopherol. In another embodiment, additionally surfactants including ionic and non-ionic surfactants, sorbitan esters such as sorbitan trioleate, sorbitan monooleate, sorbitan monolaurate, Polyoxyethylene sorbitan esters such as polyoxyethylene sorbitan monolaurate, polyoxyethylene sorbitan monooleate, poloxamer, fluorinated and non-fluorinated surfactants, carboxylic acids, polyethoxylates, natural lecithin, oleyl polyoxyethylene ether, stearyl polyoxyethylene ether, lauryl polyoxyethylene ether, block copolymers of oxyethylene and oxypropylene, synthetic lecithin, diethylene glycol dioleate, tetrahydrofurfuryl oleate, ethyl oleate, glyceryl monooleate, polyethylene glycol 400 and glyceryl monolaurate and the like or mixtures thereof are used in the composition. The topical compositions of the present invention may comprise a wide variety of further optional components; provided that such optional components are physically and chemically compatible with the essential components described herein, and do not unduly impair stability, efficacy or other use benefits associated with the compositions of the present invention.

The compositions of the present invention and method for treating hair disorders or other associated disorders using an extract of *Vernonia sp.* provides long-term effectiveness, high rate of hair regeneration and/or low rates of hair loss. The treatment includes administration of an effective amount of composition comprising of an extract of *Vernonia sp.* and a carrier(s), preferably as a local application at the desired site of action.

In an embodiment of the present invention, aerosol for topical spray is prepared comprising the *Vernonia* extract as active agent(s) preferably in the micronized form alongwith a suitable vehicle or a propellant system preferably dispensed into aluminium containers sealed with metering valves by means of the pressure-filling technique. Nebulizable dispersions or solutions for atomization are prepared by

3130

dispersing the active agent(s) homogeneously in a hydro-alcoholic solvent system such as ethanol-purified water mixture. Suspensions for local application are prepared by wetting the active agent(s) with a wetting agent such as surfactant followed by addition of optionally other excipient(s), filling the bulk into sterile containers, for example unit
5 dose containers such as containers which are suitably molded from thermoplastics.

The examples given below serve to illustrate embodiments of the present invention. However they do not intend to limit the scope of present invention.

10 EXAMPLES

Example-1:

The preparation of extract for hair loss prevention and/or hair growth promotion from the plant *Vernonia sp.* comprises of the following steps:

1. 2 kg of dried and powdered plant is added to 5 L of Chloroform in a flask.
- 15 2. The mixture is boiled under a reflux condenser for 1 hour.
3. The mixture is cooled and filtered. The filtrate is set aside.
4. Steps 1 to 3 are repeated with the residue three times more.
5. The pooled filtrates are distilled to remove hexane.

20 Example-2:

The preparation of extract for hair loss prevention and/or hair growth promotion from the plant *Vernonia sp.* comprises of the following steps:

1. 1 kg of dried and powdered leaves is added to 6 L of Hexane in a flask.
2. The mixture is boiled under a reflux condenser for 1 hour.
- 25 3. The mixture is cooled and filtered. The filtrate is set aside.
4. Steps 1 to 3 are repeated with the residue three times more.
5. The pooled filtrates are distilled to remove hexane.
6. The hexane extract is stirred with 500 ml 95% ethanol for 30 minutes.
7. The ethanolic mixture is filtered. The filtrate is set aside.
- 30 8. Steps 6 and 7 are repeated with the residue.
9. The pooled ethanolic extracts are distilled to remove ethanol

Example-3:

The preparation of extract for hair loss prevention and/or hair growth promotion from

73/72

the plant *Vernonia sp.* comprises of the following steps:

1. 2 kg of dried and powdered plant is added to 5 L of water.
2. The mixture is boiled under a reflux condenser for 1 hour.
3. The mixture is cooled and filtered. The filtrate is set aside.
- 5 4. Steps 1 to 3 are repeated with the residue once more.
5. Pooled filtrates are concentrated and spray dried.

Example-4:

The preparation of extract for hair loss prevention and/or hair growth promotion from

10 the plant *Vernonia sp.* comprises of the following steps:

1. 2 kg of dried and powdered plant is added to 10 L of ethanol.
2. The mixture is boiled under a reflux condenser for 1 hour.
3. The mixture is cooled and filtered. The filtrate is set aside.
4. Steps 1 to 3 are repeated with the residue for three times more.
- 15 5. Pooled filtrates are concentrated and dried in an agitated vacuum drier.

Example-5:

The preparation of extract for hair loss prevention and/or hair growth promotion from

the plant *Vernonia sp.* comprises of the following steps:

- 20 1. 5 kg of fresh plant is crushed in a mixer/grinder with addition of 1 L of water.
2. The juice of the mixture is expressed out and filtered.
3. The filtrate is freeze dried.

In the examples stated below describing composition comprising the novel hair loss
25 preventing and/or hair growth promoting extract of the present invention, the quantity
stated may be varied based on the desired preventive or ameliorative or therapeutic
effect and the type of composition.

Example-6: Vernonia cream

30 S. No. Ingredient	% w/w	
	0629/010A	0629/010C
1. <i>Vernonia anthelmentica</i> extract	2.0	0.2
2. Carbomer 940	0.6	0.6

32
77

3.	Purified Water	62.1	63.9
4.	Transcutol® (Diethylene Glycol Monoethyl Ether)	20.00	20.00
5.	Ethanol	10.00	10.00
6.	Menthol	0.30	0.30
5 7.	Propylene Glycol	5.00	5.00
8.	Triethanolamine	q.s.	q.s.

Procedure:

- i) Disperse Carbomer 940 in Purified Water and stir till it dissolves completely.
- ii) Dissolve Menthol in mixture of Ethanol and Transcutol®. Add Propylene Glycol
10 and *Vernonia anthelmentica* extract into it and mix.
- iii) Add bulk of step (ii) into bulk of step (i) and mix.
- iv) Add Triethanolamine drop wise into the bulk of step (iii) until pH is in the range of
5.5 – 7.0 and a semisolid gel is obtained.

15 **Example-7: Vernonia cream**

S. No.	Ingredient	% w/w	
		0629/014A	0629/014C
1.	<i>Vernonia anthelmentica</i> extract	2.00	0.20
2.	Carbomer 940	0.60	0.60
20 3.	Purified Water	56.35	58.15
4.	Transcutol® (Diethylene Glycol Monoethyl Ether)	20.00	20.00
5.	Ethanol	10.00	10.00
6.	Menthol	0.30	0.30
7.	Perfume	q.s.	q.s.
25 8.	Triethanolamine	q.s.	q.s.
9.	Oleic Acid	5.50	5.50
10.	Polyoxyethylene (2) Stearyl Ether (Brij® 72)	1.00	1.00
11.	Cetyl Alcohol	0.75	0.75
12.	Vitamin E Acetate	0.50	0.50
30 13.	Isopropyl Myristate	3.00	3.00

Procedure:

- i) Disperse Carbomer 940 in Purified Water and stir till it dissolves completely.
- ii) Dissolve Menthol in mixture of Ethanol and Transcutol®.

33
34

- iii) Add bulk of step (ii) into bulk of step (i) and mix.
- iv) In separate beaker, add Oleic Acid, Brij® 72, Cetyl Alcohol, Vitamin E Acetate and *Vernonia anthelmentica* extract and mix.
- v) Heat the bulk of step (iii) and (iv) separately at 60-70°C.
- 5 vi) Add oil phase of step (iv) into aqueous phase of step (iii) with constant stirring.
- vii) Add Triethanolamine drop wise into the bulk of step (vi) until pH is in the range of 6.0 – 7.0 and a semisolid cream is obtained.
- viii) Add perfume to the semisolid cream and mix to obtain the desired product.

10 Example-8: *Vernonia* freeze dried juice gel

S. No.	Ingredient	% w/w	
		0629/026A	0629/026B
	1. <i>Vernonia anthelmentica</i> extract freeze dried powder	1.25	2.50
	2. Carbomer 940	1.50	1.50
15	3. Purified Water	61.95	60.70
	4. Transcutol® (Diethylene Glycol Monoethyl Ether)	20.00	20.00
	5. Ethanol	10.00	10.00
	6. Menthol	0.30	0.30
	7. Propylene Glycol	5.00	5.00
20	8. Perfume	q.s.	q.s.
	9. Triethanolamine	q.s.	q.s.

Procedure:

- i) Disperse Carbomer 940 in Purified Water and stir till it dissolve completely.
- ii) Dissolve *Vernonia anthelmentica* extract powder in part of Purified Water and add
25 it to the bulk of step (i).
- iii) Dissolve Menthol in mixture of Ethanol and Transcutol®. Add Propylene Glycol into it and mix.
- iv) Add bulk of step (iii) into bulk of step (ii) and mix.
- v) Add Triethanolamine drop wise into the bulk of step (iv) until pH is in the range of
30 5.5 – 7.0 and a semisolid gel is obtained.
- vi) Add perfume to the semisolid gel and mix.

28 39

Example-9: Vernonia extract gel

S.No.	Ingredient	% w/w		
		0629/030A	0629/030B	0629/030C
	1. <i>Vernonia anthelmantica</i> extract	0.5	1.0	2.0
5	2. Carbomer 940	0.75	0.75	0.75
	3. Purified Water	63.45	62.95	61.95
	4. Transcutol® (Diethylene Glycol Monoethyl Ether)	20.00	20.00	20.00
	5. Ethanol	10.00	10.00	10.00
10	6. Menthol	0.30	0.30	0.30
	7. Propylene Glycol	5.00	5.00	5.00
	8. Perfume	q.s.	q.s.	q.s.
	9. Triethanolamine	q.s.	q.s.	q.s.

Procedure:

- 15 i) Disperse Carbomer 940 in Purified Water and stir till it dissolves completely.
- ii) Dissolve Menthol in mixture of Ethanol and Transcutol®. Add Propylene Glycol and *Vernonia anthelmantica* extract into it and mix.
- iii) Add bulk of step (ii) into bulk of step (i) and mix.
- iv) Add Triethanolamine drop wise into the bulk of step (iii) until pH is in the range of
- 20 5.5 – 7.0 and a semisolid gel is obtained.
- v) Add perfume to the semisolid gel and mix.

Example-10: Vernonia cream

S.No.	Ingredient	% w/w
25	1. <i>Vernonia cinerea</i> extract	1.00
	2. Light liquid paraffin	8.00
	3. White Bees Wax	1.75
	4. White Petroleum Jelly	3.25
	5. Glyceryl Monostearate	3.50
30	6. Stearic Acid	1.00
	7. Tween® 80	1.00
	8. Glycerin	5.00
	9. Propylene Glycol	5.00

35
86

10. Purified Water 71.50
11. Perfume q.s.

Procedure:

- i) Mix *Vernonia cinerea* extract, Liquid Light Paraffin, White Bees Wax, White Petroleum Jelly, Glyceryl Monostearate, Stearic Acid and heat upto 60-70°C.
ii) Mix Tween 80, Glycerin, Propylene Glycol and Purified Water and heat 60-70°C.
iii) Add the bulk of step (i) into bulk of step (ii) with constant stirring and allow to cool.
iv) Add perfume and mix.

10

Example-11: Vernonia cream

S. No.	Ingredient	% w/w
1.	<i>Vernonia tomentosa</i> extract	2.00
2.	Light liquid paraffin	8.00
15 3.	White Bees Wax	1.75
4.	White Petroleum Jelly	3.25
5.	Tween® 80	1.00
6.	Glycerin	5.00
7.	Propylene Glycol	5.00
20 8.	Sodium Carboxymethylcellulose (Sodium CMC (5% solution))	74.00

Procedure:

- i) Mix *Vernonia tomentosa* extract, Liquid Light Paraffin, White Bees Wax, White Petroleum Jelly and heat upto 60-70°C.
ii) Mix Tween® 80, Glycerin, Propylene Glycol and Sodium CMC solution and heat 60-70°C.
iii) Add the bulk of step (i) into bulk of step (ii) with constant stirring and allow to cool to obtain the desired product.

Example-12: Cream

S. No.	Ingredient	mg/gm
9.	<i>Vernonia latifolia</i> extract	1.00
10.	<i>Aloe barbadensis</i> extract	0.50
11.	Propylene glycol	50.00
12.	Titanium dioxide	10.00

36
 21

	13.	Stearic acid	130.00
	14.	Cetyl alcohol	10.00
	15.	Isopropyl myristate	60.00
	16.	Sorbitan stearate	20.00
5	17.	Methyl paraben	1.50
	18.	Propyl paraben	0.30
	19.	Corn oil	50.00
	20.	Glycerin	50.00
	21.	Sorbitol solution	30.00
10	22.	Veegum HV	10.00
	23.	Sodium carboxymethylcellulose (Sodium CMC)	3.00
	24.	Tween® 80	15.00
	25.	Purified water	q.s.

Procedure:

- 15 i) *Vernonia latifolia* extract, *Aloe barbadensis* extract, Methyl paraben and Propyl paraben are dispersed in Propylene glycol; the mixture heated to 55-60°C; Titanium dioxide is added to it and stirred well.
- ii) Stearic acid, Cetyl alcohol, Isopropyl myristate, Sorbitan stearate, and Corn oil are heated to 70°-75°C.
- 20 iii) In another vessel, Sorbitol solution and Tween® 80 are taken.
- iv) Veegum HV is separately hydrated in the Purified water.
- v) Sodium carboxymethylcellulose (sodium CMC) is separately hydrated in Glycerin.
- vi) The material of step (iv) and step (v) are added to the material of step (iii) and heated to 70°-75°C.
- 25 vii) The material of step (ii) and step (vi) are mixed and cooled.
- viii) When the material of step (vii) attains a temperature of 50°-55°C, the material of step (i) is added to it.
- ix) The mixture of step (vii) is allowed to cool to room temperature to obtain the cream.

30 Example-13: Cream

S. No.	Ingredient	mg/gm
1.	<i>Vernonia anthelmentica</i> extract	0.50
2.	<i>Serenoa repens</i> extract	0.30

37
2/8

	3.	Propylene glycol	50.00
	4.	Titanium dioxide	10.00
	5.	Glyceryl monostearate	90.00
	6.	Hydrogenated lanolin	30.00
5	7.	Corn oil	40.00
	8.	Simethicone	1.50
	9.	Span® 60	20.00
	10.	Hydroxyethyl cellulose	20.00
	11.	Glycerin	50.00
10	12.	Sorbitol	30.00
	13.	Sodium carboxymethylcellulose (Sodium CMC)	1.50
	14.	Propyl paraben	0.30
	15.	Methyl paraben	1.50
	16.	Tween® 80	15.00
15	17.	Purified water	q.s.

Procedure:

- i) *Vernonia anthelmentica* extract, *Serenoa repens* extract, Methyl paraben and Propyl paraben are dispersed in Propylene glycol; Titanium dioxide is added to it and stirred well.
- 20 ii) Glyceryl monostearate, Hydrogenated lanolin, Corn oil, Simethicone, and Span® 60 are taken.
- iii) In cool Purified water, Hydroxyethyl cellulose is dissolved; Sorbitol and Tween® 80 is added to it and the mixture is heated to 70-75°C.
- iv) Separately Sodium carboxymethylcellulose (sodium CMC) is dispersed in Glycerin
- 25 and added to the material of step (iii).
- v) The material of step (ii) is added to the material of step (iv) and allowed to cool with stirring.
- vi) When a temperature of 50-55°C is attained, the material of step (i) is added, stirred, and allowed to cool to room temperature to obtain the cream.

30

Example-14: Cream

S. No.	Ingredient	Quantity (mg/g)
1.	<i>Vernonia anthelmentica</i> extract	0.01

38
39

2.	Soft paraffin	350.00
3.	Liquid paraffin	80.00
4.	Sorbitan monooleate	50.00
5.	Citric acid	1.00
5 6.	Sodium citrate	2.00
7.	Purified water	q.s. to 1g

Procedure:

- i) Soft paraffin, Liquid paraffin and Sorbitan monooleate are mixed at about 45°C by continuous stirring to obtain a homogeneous dispersion.
- 10 ii) *Vernonia anthelmantica* extract is added to dispersion of step (i) with stirring.
- iii) Citric acid and Sodium citrate are dissolved in a part of Purified water to make a solution.
- iv) The material of step (iii) to step (ii) is added with continuous stirring at about 45°C followed by the addition of the remaining part of Purified water and stirring.
- 15 v) The material of step (iv) is cooled to room temperature to obtain the desired product.

Example-15: Gel

S. No.	Ingredient	Quantity (g/ 100gm)
20 1.	<i>Vernonia sp.</i> extract	0.05
2.	Dimethylacetamide	10.00
3.	Ethyl Alcohol	20.00
4.	Acetone	5.00
5.	Cremophor® RH40	1.00
25 6.	Propylene glycol	20.00
7.	Carbopol 934	1.20
8.	Purified water	20.00
9.	Diethylamine	0.60

Procedure:

- 30 i) Dimethylacetamide was mixed with Ethyl alcohol and Acetone in a container with stirring.
- ii) To the mixture obtained, *Vernonia sp.* extract was added and stirred.
- iii) Propylene glycol and Cremophor® RH40 were dispersed in water, and were

39
40

mixed in homogenizer. To the mixture obtained, Carbopol 934 was added and homogenized.

- iv) The mixture obtained in step (ii) was added to the mixture obtained in step (iii) under stirring.
- 5 v) The mixture obtained was neutralised by slow addition of Diethylamine with slow stirring to produce the gel.

Example-16: Nebulizable dispersion

- Vernonia sp.* extract 0.06 mg, Corticosteroid 0.012 mg and Propylene glycol 5.0 g are dispersed homogeneously in Purified water 10.0 g. The said dispersion is filled into a suitable container for atomization such as a nebulizer.
- 10

Example-17: Solution for Atomization

- Vernonia sp.* extract 0.05 mg and Minoxidil 0.05 mg are dispersed homogeneously in Ethanol-Purified water mixture (2.0 g & 6.0 g respectively); the said dispersion is filled into a suitable container.
- 15

Example-18: Ointment

S. No.	Ingredient	Quantity (mg/g)
20	1. <i>Vernonia anthelmentica</i> extract	0.05
	2. <i>Ginkgo biloba</i> extract	0.05
	3. Lanoline	10.00
	4. Eucalyptus oil	0.40
	5. Peppermint oil	0.10
25	6. Liquid paraffin	q.s. to 1g

Procedure:

- i) Eucalyptus oil and Peppermint oil is added to a part of Liquid paraffin and mixed with stirring.
- ii) The material of step (i) and Lanoline are mixed at about 45°C by continuous stirring to obtain a homogeneous dispersion.
- 30
- iii) *Vernonia anthelmentica* extract and *Ginkgo biloba* extract are added to the dispersion of step (ii) with continuous stirring.
- iv) The material of step (iii) is cooled to room temperature to obtain the desired product.

40
ST**Example-19: Hair oil**

S. No.	Ingredient	Quantity (%w/v)
1.	<i>Vernonia anthelmintica</i> extract	30.00
2.	<i>Aloe barbadensis</i> extract	3.00
5 3.	Vegetable oil base	q.s.

Procedure:

- i) *Vernonia sp.* extract and *Aloe barbadensis* extract are prepared and mixed with the Vegetable oil base.
- ii) The material of step (i) is filled into a suitable container.

10

Example-20: Shampoo

S. No.	Ingredient	Quantity (%w/v)
1.	<i>Vernonia sp.</i> extract	20.00
2.	Ketoconazole	2.00
15 3.	Shampoo Base	q.s.

Procedure:

- i) *Vernonia sp.* extract and ketoconazole are mixed together.
- ii) The material of step (i) is incorporated into a Shampoo base.

20 Example-21: Tablet

S. No.	Ingredient	mg/tablet
1.	<i>Vernonia sp.</i> extract	50.0
2.	Microcrystalline cellulose	100.0
3.	Mannitol	80.0
25 4.	Croscarmellose sodium	10.0
5.	Lactose	60.0
6.	Talc	4.0
7.	Colloidal silicon dioxide	10.0
8.	Croscarmellose sodium	10.0

30 Procedure:

- i) *Vernonia sp.* extract, Microcrystalline cellulose, Mannitol, Croscarmellose sodium and Lactose are sifted and mixed together.
- ii) The material of step (i) is compacted.

41
CZ

- iii) The compacts of step (ii) are passed through sieve and mixed.
- iv) Talc, Colloidal silicon dioxide and Croscarmellose sodium are passed through fine sieve and mixed together.
- v) The material of step (iii) is mixed with material of step (iv).
- 5 vi) The material of step (v) is compressed into tablets at an average weight of $400 \text{ mg} \pm 2\%$.
- vii) The tablets are packed in air-tight packages.

Example-22: Capsule

	S. No.	Ingredient	mg/capsule
10	1.	<i>Vernonia sp.</i> extract	25.0
	2.	Microcrystalline cellulose	150.0
	3.	Mannitol	65.0
	4.	Lactose	50.0
	5.	Talc	3.0
15	6.	Sodium starch glycollate	17.0
	7.	Colloidal silicon dioxide	15.0

Procedure:

- i) *Vernonia sp.* extract, Microcrystalline cellulose, Lactose and Mannitol are sifted and mixed together.
- 20 ii) Talc, Sodium starch glycollate and Colloidal silicon dioxide are passed through fine sieves individually and then mixed together.
- iii) The materials of step (i) and (ii) are mixed.
- iv) The material of step (iii) is filled into empty hard gelatin capsules.

42
463**We Claim:**

1. A novel composition for hair loss prevention and/or hair growth promotion comprising at least one agent(s) derived from a natural source or synthetic source or semi-synthetic source as the active agent, either alone or in
5 combination with other active agent(s) and optionally one or more excipient(s).
2. A composition according to claim 1, comprising an extract obtained from the plant *Vernonia sp.* as active agent either alone or in combination with other active agent(s) and optionally with one or more excipient(s).
3. A composition according to claim 2, wherein the active agent for hair loss
10 prevention and/or hair growth promotion is an extract obtained from the plant *Vernonia noveboracense*, *Vernonia praealta*, *Vernonia tomentosa*, *Vernonia anthelmintica*, *Vernonia amygdalina*, *Vernonia cinerea*, or mixtures thereof.
4. A composition according to claim 2, comprising an extract obtained from the plant *Vernonia anthelmintica*.
- 15 5. A composition according to claim 1, wherein the extract for hair loss prevention and/or hair growth promotion comprises of one or more components selected from a group comprising phytosterols, fatty acids or fatty acid esters, carotenoids, or mixtures thereof.
6. A composition according to claim 2, wherein the active agent comprises an
20 extract obtained from the plant *Vernonia sp.* combined with at least one other extract obtained from a natural source selected from a group comprising Aloe (*Aloe barbadensis*), Burdock (*Arctium minus*), Capsicum (*Capsicum annuum* L), Ginger (*Zingiber officinale*), Ginkgo (*Ginkgo biloba*), Green Tea (*Camellia sinesis*), Hip (*Rosa canina*), Lavender (*Lavendula officinale*), Milfoil (*Achillea millefolium*), Nettles (*Urtica dioica*), Onion (*Allium cepa*), Pygeum (*Pygeum africanum*), Rattanjot (*Arnebia sp.*), Red Pepper (*Capiscum annum*), Rosemary (*Rosamarinus officinalis*), Safflower Oil (*Carthamus tinctorious*), Saw Palmetto (*Serenoa repens*), and Tea Tree Oil (*Melaleuca alternifolia*), or mixtures thereof.
25
7. A composition according to claim 2, wherein the active agent comprises an
30 extract obtained from the plant *Vernonia sp.* combined with at least one other allopathic drug selected from 5 α -DHT inhibitors, Super oxide dismutases mimetics, Vasodilators, Prostaglandin-H synthase-1 activators and Potassium

43
SH

channel openers.

8. A composition according to claim 2, wherein the active agent comprises an extract obtained from the plant *Vernonia sp.* combined with at least one other allopathic drug selected from a group comprising corticosteroids, dithranol, tretinoin, minoxidil, zinc, irritants, finasteride, skinoren/azelaic acid, cyproterone acetate with ethinyloestradiol, cimetidine, cyproterone acetate, spironolactone, ketoconazole, antidepressant, triamcinolone acetonide, hydroxychloroquine, penicillin, or mixtures thereof.
9. A composition according to claim 1, wherein the excipient(s) are selected from a group comprising diluents, disintegrants, binders, anti-adherants, glidants, lubricants, antioxidants, buffering agents, colorants, flavoring agents, coating agents, solvents, osmotic agents, viscosifying agents, waxes, wetting agents, emulsifying agents, solubilizers, stabilizers, buffering agents, chelating agents, vehicles, preservatives, surfactants, deodorants, colorants, bulking agents, hydrophilic polymers, tonicity adjusting agents, local anesthetics, pH adjusting agents, acids, sugar alcohol, reducing sugars and non-reducing sugars, or mixtures thereof.
10. A composition according to claim 1, which is in the form of a topical preparation selected from a group comprising liquid, cream, gel, lotion or spray.
11. A composition according to claims 1 to 10, wherein the said composition is useful as a pharmaceutical or a cosmetic or an ayurvedic product.
12. A composition according to claims 1 to 11, which is useful in the management of testosterone induced androgenic alopecia.
13. A process for preparation or extraction of the hair loss preventing and/or hair growth promoting agent from a natural source for use as an active agent according to claim 1 or 2, wherein said process comprises the following steps:
- extraction of dried and powdered plant or part(s) of plant with a non-polar solvent or mixtures thereof,
 - distillation of the extract to remove the solvent,
 - optionally, further extraction of the residue with a polar solvent or mixtures thereof,
 - optionally, distillation of the extract to remove the solvent to obtain the desired extract preferably as a powder.

44
S/S

14. A process for preparation or extraction of the hair loss preventing and/or hair growth promoting agent from a natural source for use as an active agent according to claim 1 or 2, wherein said process comprises the following steps:
- 5 i) extraction of dried and powdered plant or part(s) of plant with a polar solvent or mixture thereof,
- ii) optionally, distillation/concentration of the extract to remove/reduce the solvent,
- iii) optionally drying the extract to remove the solvent to obtain the desired extract preferably as a powder.
- 10 15. A process for preparation or extraction of the hair loss preventing and/or hair growth promoting agent from a natural source for use as an active agent according to claim 1 or 2, wherein said process comprises the following steps:
- i) expression of the juice of the fresh plant or part(s) of plant optionally with addition of a polar solvent or mixture thereof,
- 15 ii) filtration of the juice,
- iii) optionally, distillation/concentration of the extract to remove/reduce the solvent,
- iv) optionally drying the extract to remove the solvent to obtain the desired extract preferably as a powder.
- 20 16. A process for preparation of a composition according to claim 1 or 2, which comprises the following steps:
- i) mixing the hair loss preventing and/or hair growth promoting agent active agent(s) with one or more excipient(s), and
- ii) formulating the mixture into a suitable dosage form.
- 25 17. A method of using a composition according to claim 1 or 2, which comprises administering to a subject in need thereof an effective amount of the composition.
18. A method according to claim 17, which comprises use of a composition according to claim 1 or 2 in the management of one or more hair disorders
- 30 selected from a group comprising alopecia areata, androgenetic alopecia, anagen effluvium (cancer treatment hair loss), self induced hair loss, telogen effluvium, scarring alopecia, syphilitic alopecia, scleroderma and tinea capitis.
19. Use of a composition according to claim 1 or 2 in the management of one or

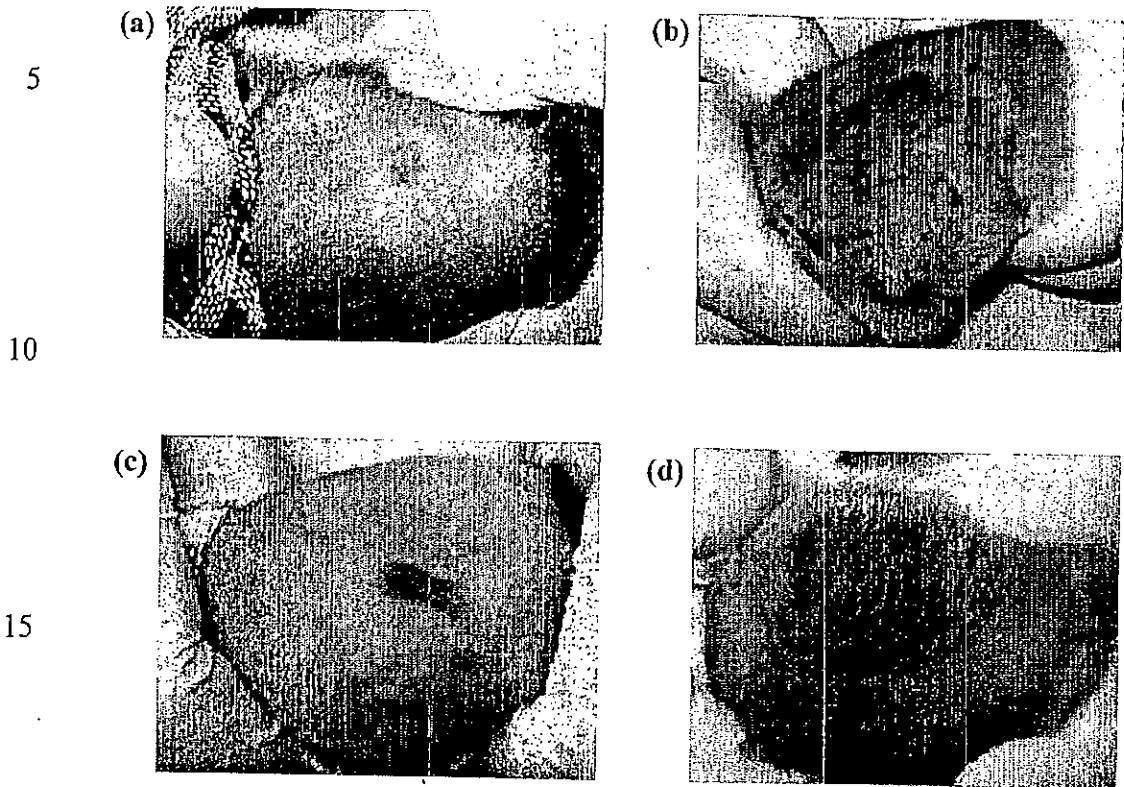
45
46

more hair disorders selected from a group comprising alopecia areata, androgenetic alopecia, anagen effluvium (cancer treatment hair loss), self induced hair loss, telogen effluvium, scarring alopecia, syphilitic alopecia, scleroderma and tinea capitis.

- 5 20. A pharmaceutical composition and the process for preparation of the pharmaceutical composition substantially as herein described and illustrated by the examples.

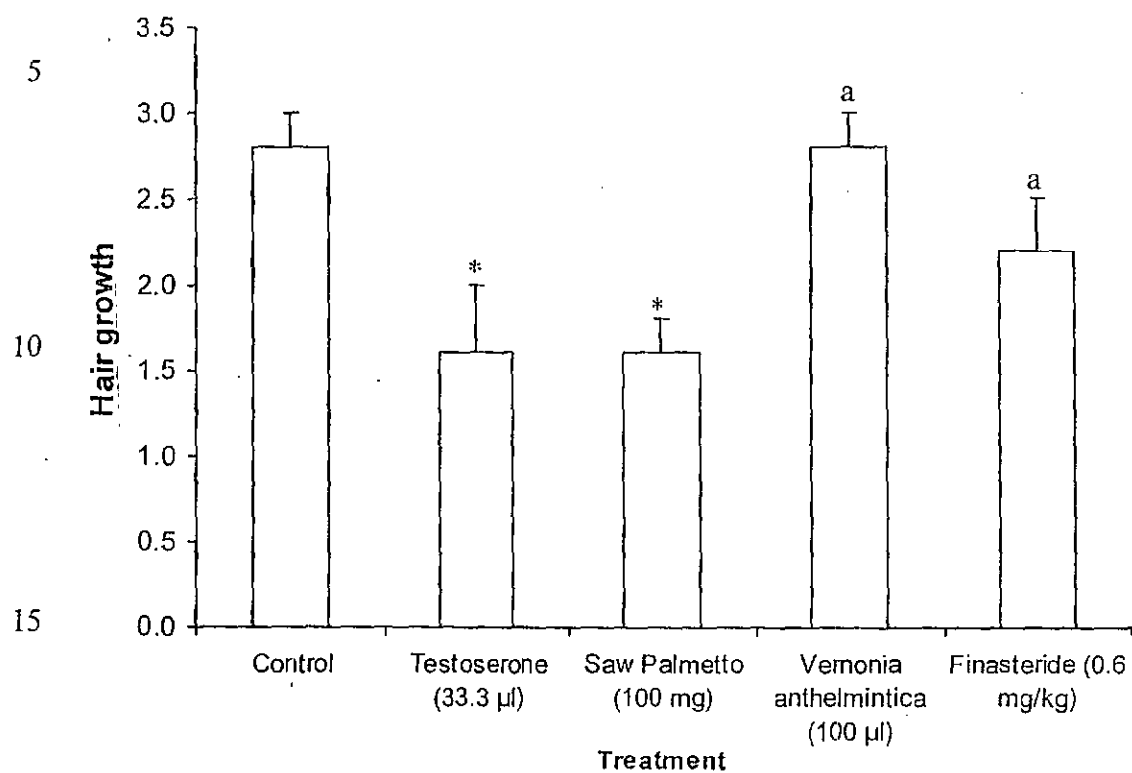
47
SR

Figure-2:



48
49

Figure-3:



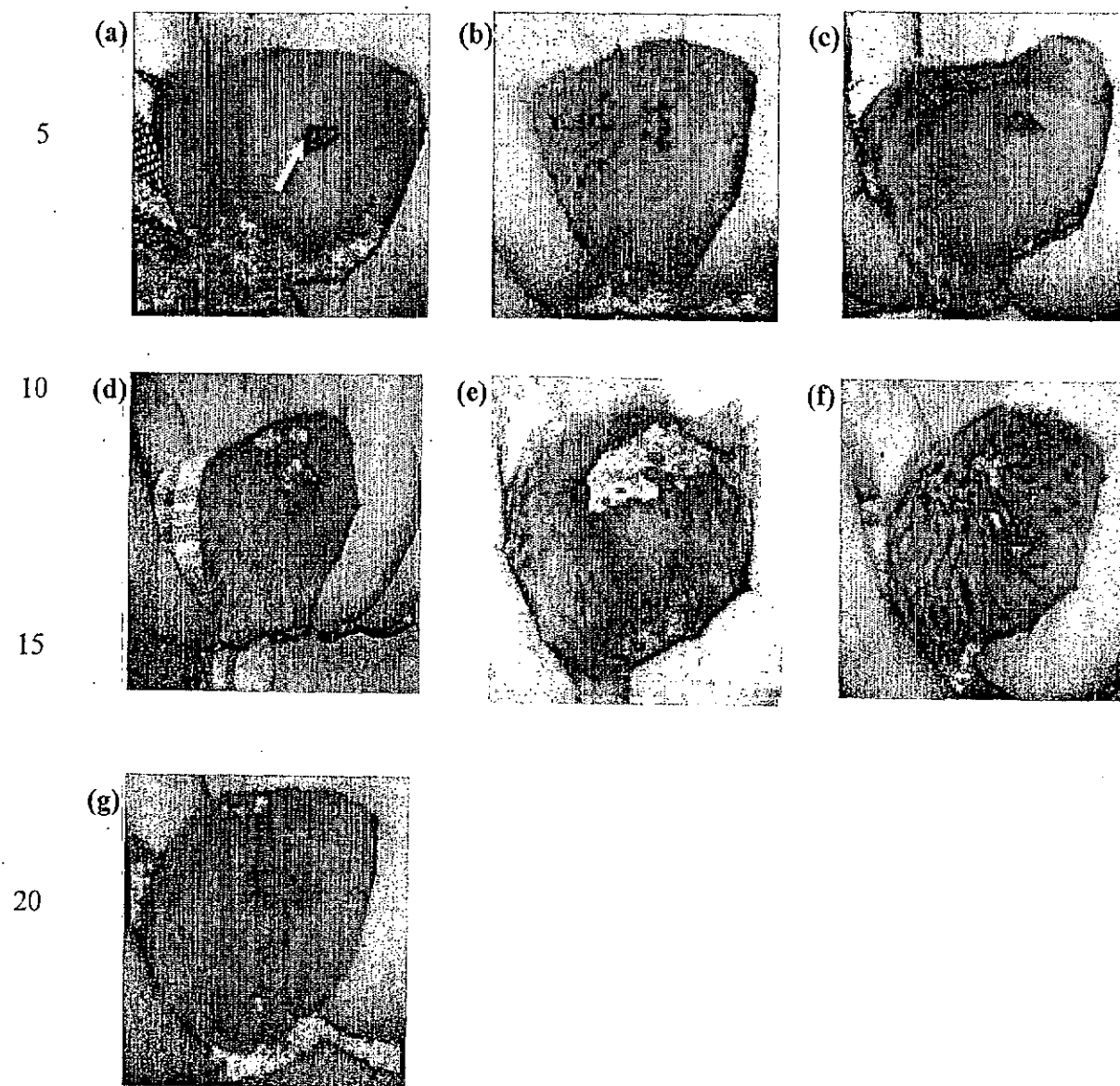
20 Data presented as mean $\pm$ SEM (n=6/group).

*P<0.05 as compared to control group,

^aP<0.05 as compared to testosterone-treated group.

5049

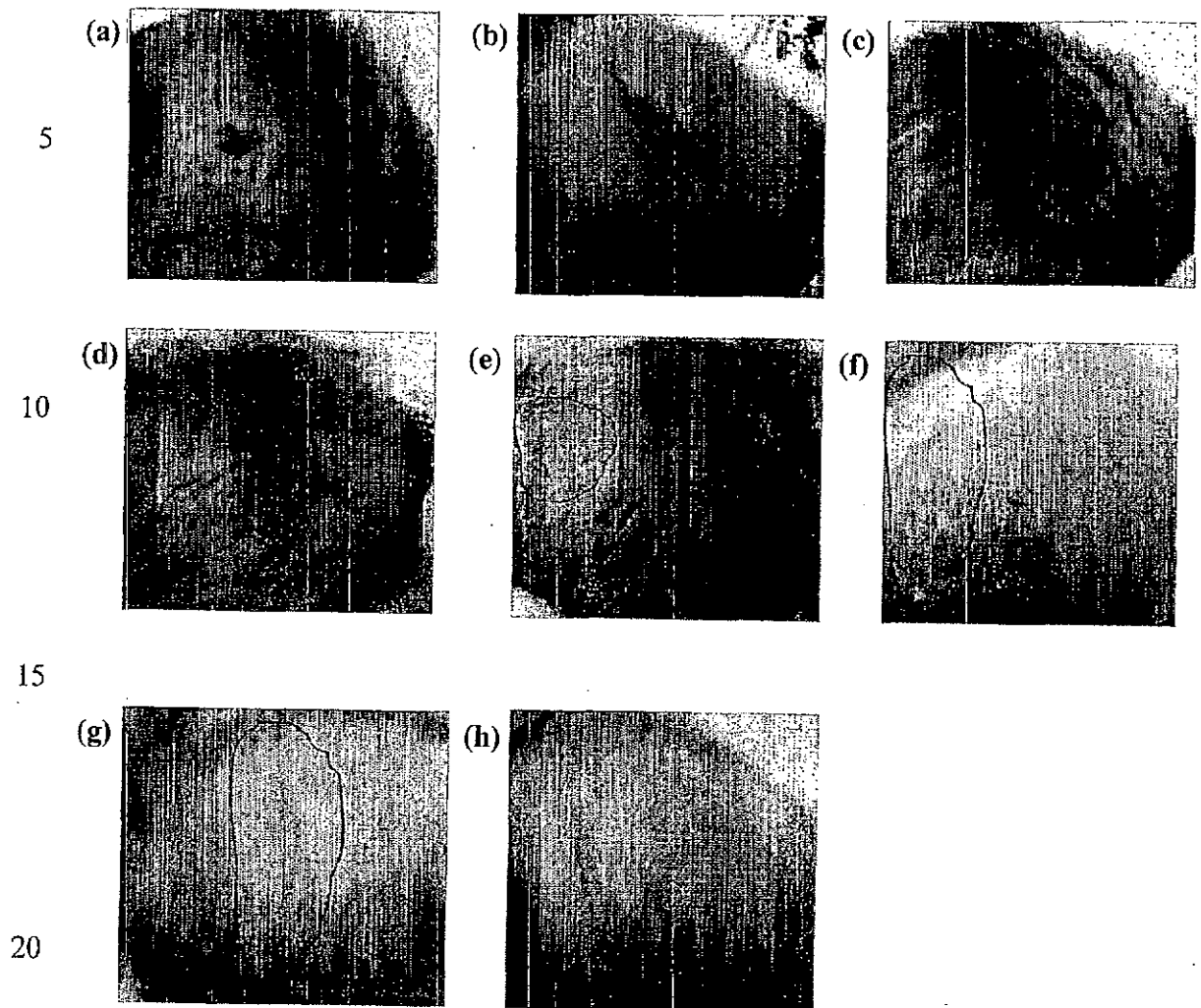
Figure-4:



25 Arrow in the figure-4 (a) shows flank organ.

50
JH

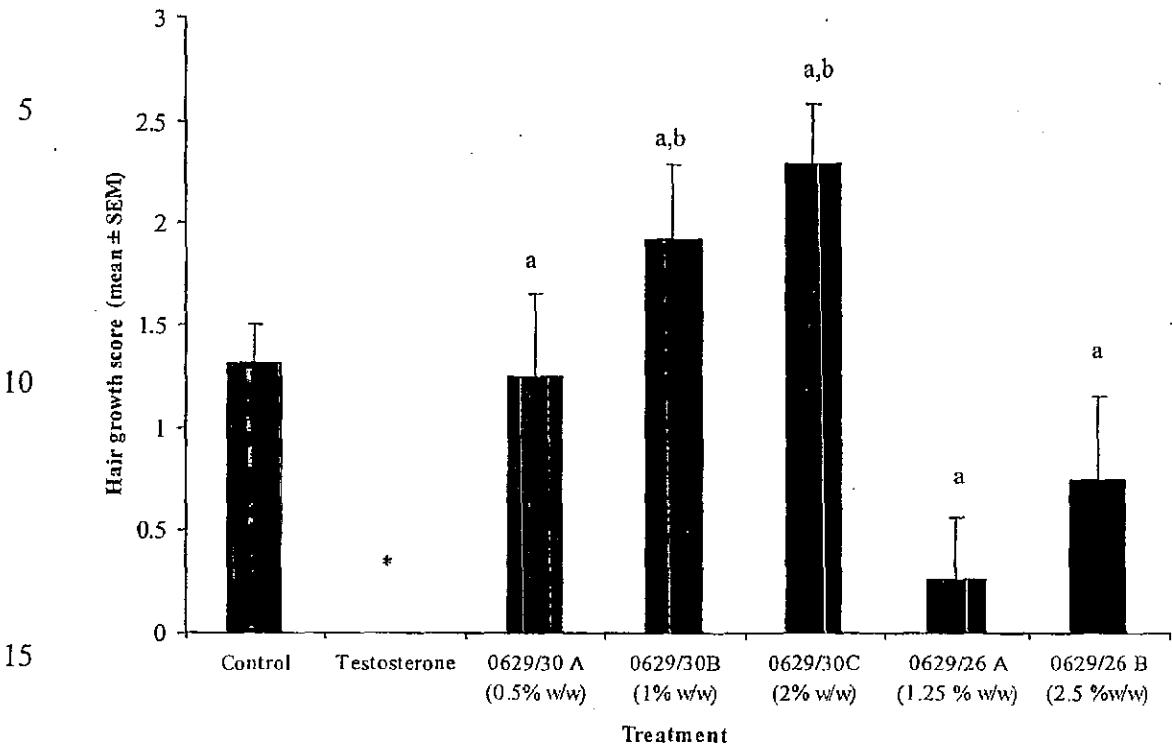
Figure-5:



[0] represents scale formation after topical application of cream or Placebo

JKS1

Figure-6:



* $P < 0.05$ as compared to control,

^a $P < 0.05$ as compared to testosterone group,

20 ^b $P < 0.05$ as compared to control group.

3

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

PATENTE ☒ PCT/IN2007/000111 MODELO DE UTILIDAD ☐ DISEÑO INDUSTRIAL ☐

SOLICITANTE/S. RAZON SOCIAL O APELLIDOS Y NOMBRES PANACEA BIOTEC LTD.

DOMICILIO NEW DELHI, INDIA

APODERADO JUAN PABLO CADENA SARMIENTO

TITULO COMPOSICIONES NOVEDOSAS PARA TRASTORNOS DEL CABELLO, Y PROCEDIMIENTO DE PREPARACION... CLASIFICACION _____

EXPEDIENTE No. _____ FECHA DE SOLICITUD _____ ROLLO MICROFILM _____

CERTIFICADO No. _____ FECHA DE CONCESION _____ VIGENCIA DESDE _____ HASTA _____

PRORROGA _____ CAMBIO DE NOMBRE _____

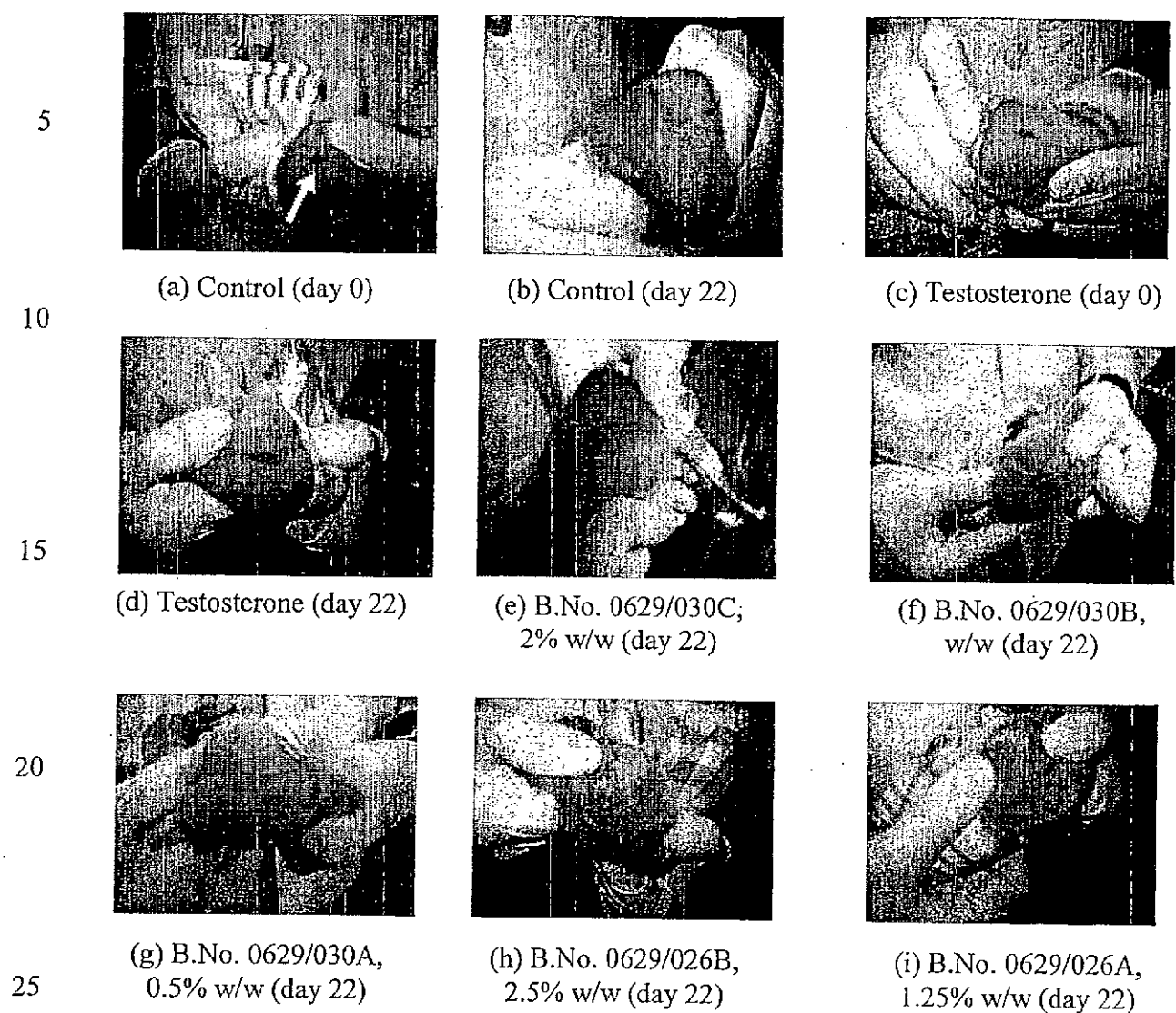
TRASPASO A _____

INVENTOR (ES) RAJESH JAIN, KOUR CHAND JINDAL, ANIRUDDHA DATTA.

OTROS _____

52

Figure-7:



[→] represents flank organ area around which the hair growth was scored.

(19) Organización Mundial de Propiedad

Intelectual

Oficina Internacional



(43) Fecha de Publicación Internacional

11 de Octubre de 2007 (11.10.2007)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional

WO 2007/113851 A2

(51) Clasificación Internacional de Patentes:
A61Q 7/00 (2006.01) A61K 36/28 (2006.01)
A61K 8/97 (2006.01)

(21) Número de Solicitud Internacional:
PCT/IN2007/000111

(22) Fecha de Presentación Internacional:
19 de Marzo de 2007 (19.03.2007)

(25) Lenguaje de entrega: Inglés

(26) Lenguaje de Publicación: Inglés

(30) Datos de la Prioridad:
930/DEL/2006 31 de Marzo de 2006 (31.03.2006) IN

(71) Solicitante (para todos los Estados designados menos los Estados Unidos): PANACEA BIOTEC LTD. [IN/IN]; B-1 Extn./A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi 110 044 (IN).

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes (solo para los EU): JAIN, Rajesh [IN/IN]; Panacea Biotec Ltd, B-1 Extn./A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi - 110 044 (IN). JINDAL, Kour, Chand [IN/IN]; Panacea Biotec Ltd, B-1 Extn., A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi - 110 044 (IN). DATTA, Aniruddha [IN/IN]; Panacea Biotec Ltd, B-1 Extn., A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi 110 044 (IN).

(74) Agente: GUPTA, Bhartee; Panacea Biotec Limited, B-1 Extn./A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi 110 044 (IN).

(81) Estados Designados (a menos que se indique lo contrario, para todo tipo de protección nacional disponible): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados Designados (a menos que se indique lo contrario, para todo tipo de protección regional disponible): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), Europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declaraciones bajo la Regla 4.17:

— según los derechos del solicitante para solicitar y otorgarse una patente (Regla 4.17(ii))

— según los derechos del solicitante para reclamar la prioridad de la solicitud anterior (Regla 4.17(iii))

— del inventor (Regla 4.17(iv))

Publicado:

— sin el Informe de búsqueda internacional y a ser republicado nuevamente en el evento de recibirse reporte.

Para códigos de dos letras y otras abreviaciones, referirse a las "Notas de guía sobre Códigos y Abreviaturas" que aparecen al comienzo de cada edición de la Gaceta del PCT.

(54) Título: COMPOSICIONES NOVEDOSAS PARA TRASTORNOS DEL CABELLO, Y PROCEDIMIENTO DE PREPARACION DE LAS MISMAS

(57) Resumen: Se proveen composiciones novedosas para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello que comprenden por lo menos un agente activo derivado de preferencia de una fuente natural tal como de la planta *Vernonia sp.*, ya sea solo o en combinación con otros agentes activos, y opcionalmente uno o más excipientes; se describe también el procedimiento para la extracción del agente para la promoción del crecimiento del cabello y la preparación de composiciones que comprenden dicho agente activo; la composición novedosa está de preferencia en la forma de una preparación oral o tópica tal como tableta, cápsula, solución o suspensión líquida, crema, gel, loción o rocío, y es útil contra enfermedades/trastornos del cabello y/u otros trastornos asociados particularmente en el manejo de alopecia androgénica inducida por testosterona.

COMPOSICIONES NOVEDOSAS PARA TRASTORNOS DEL CABELLO, Y**PROCEDIMIENTO DE PREPARACION DE LAS MISMAS****CAMPO DE LA INVENCION**

5

La presente invención se refiere a composiciones novedosas para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello, que comprenden por lo menos un agente derivado de preferencia de una fuente natural como agente activo, ya sea solo o en combinación con otros agentes activos, y por lo menos un vehículo, opcionalmente con uno o más de otros excipientes. El agente activo se extrae de preferencia de la planta *Vernonia sp.* La presente invención describe también un procedimiento para la extracción del agente para la promoción del crecimiento del cabello, y también un procedimiento de preparación de composiciones que comprenden dicho agente activo. Asimismo, la presente invención provee métodos de uso de dichas composiciones. La composición novedosa está en la forma de una preparación oral tal como tableta o cápsula, o una preparación tópica tal como solución o suspensión líquida, crema, gel, loción o rocío. Las composiciones son particularmente útiles contra trastornos del cabello y/u otros trastornos asociados particularmente en el manejo de alopecia androgénica inducida por testosterona. Las composiciones de la presente invención son útiles como una formulación farmacéutica o un cosmético o un producto ayurvédico.

10

15

20

55
J6

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El uso de productos herbales para beneficios medicinales ha desempeñado una función importante en casi cualquier cultura en el planeta.

- 5 La medicina herbal fue practicada por las civilizaciones antiguas en Africa, Asia, Europa y las Américas. El incremento reciente en el uso de productos herbales está asociado con la creencia de que las hierbas pueden proveer ciertos beneficios sobre y arriba de la medicina alopática, y les permite a los usuarios sentir que tienen cierto control en sus elecciones de medicaciones.
- 10 En la India, en particular Ayurveda, existe un ejemplo de una tradición de mucho tiempo que ofrece un discernimiento único en procedimientos para la prevención y/o el tratamiento de varias enfermedades humanas. Estos productos herbales son seguros, en comparación con los fármacos alopáticos.

- La planta *Vernonia anthelmintica* es cultivada por los habitantes
- 15 de Sri Lanka, y está en gran reputación como un remedio, el cual es indicado por su nombre. Las semillas amargas, nauseabundas y negras de esta planta, en dosis de 3240 mg a 3888 mg, son valiosas en Sri Lanka como un antihelmíntico, y se usan comúnmente para expulsar el *Ascaris lumbricoides*, y también como un vermífugo. La dosis de la semilla pulverizada para un
- 20 adulto va de 1.775 ml a 3.55 ml. Los médicos nativos la prescriben generalmente como un tónico en la forma de una infusión. El nombre Sri Lankan y el nombre Tamil de *Vernonia anthelmintica* es *sanne nayan* y *kado-seragam*, respectivamente. La planta *Vernonia* es una hierba pequeña

encontrada en toda la India, y su semilla pulverizada se mezcla especialmente con miel para expulsar vermes intestinales, y se usa para la tos e indigestión. Es referida también comúnmente como ambrosía, y es una planta muy común en los estados de Occidente, creciendo en los bosques y praderas, y a lo largo de las corrientes de los ríos, y floreciendo de julio a septiembre. La raíz, que es la parte usada, es amarga, e imparte sus propiedades a agua o alcohol. La ambrosía es un tónico amargo, desobstruyente y alterante. En polvo o decocción, la raíz es benéfica en amenorrea, dismenorrea, leucorrea y menorragia. En fiebres intermitentes, remitentes y biliosas, se ha recomendado la decocción o una tintura saturada. Se dice también que ha sido útil en escrófula, y en algunas enfermedades cutáneas. La dosis de la decocción es usualmente de 28.41 ml a 56.82 ml de fluido; de la tintura, de 3.55 ml a 7.1 ml de fluido. Las hojas o la raíz pulverizada en la forma de cataplasma, hacen una aplicación discusiva excelente para tumores. Varias especies de la planta *Vernonia*, tales como *Vernonia noveboracense*, Willdenow, y su variedad, *V. praealta*, que poseen flores púrpuras, y *V. tomentosa*, con algunas otras especies, poseen propiedades medicinales similares a las de *Vernonia anthelmintica*. La raíz de *V. nigritiana*, Oliver, de África Occidental, se usa en Senegambia, bajo el nombre de *batiatior*, como un febrífugo. Contiene el glucósido, a saber, vernonina (Heckel y Schlagdenhauffen, *Amer. Jour. Pharm.*, 1889, p. 40).

Vernonia pertenece a la familia *Asteraceae*. Sus sesquiterpeno lactonas han demostrado actividad antitumoral, y los químicos (vernoniósidos)

de la médula de *Vernonia* han demostrado ser efectivos contra parásitos maláricos resistentes a fármacos, los cuales son muy comunes dentro de la gama de esta planta. *Vernonia* ha sido parte de los remedios caseros de Tanzania por cientos de años. Los WaTongwe usan tradicionalmente

5 *Vernonia* para dolores de estómago y varias infecciones parasitarias. Se ha reportado que *V. latifolia* detiene la hemorragia induciendo la formación de coágulos. Las hojas son usadas por los nativos locales en sopas y guisados como un tónico que da vigor después de que las sumergen en agua y las cocinan. Usan también ampliamente *Vernonia* para tratar parásitos y otras

10 enfermedades en sí mismos y su ganado, indicando aplicaciones agrícolas potenciales para otros países. Además, está documentado que *Vernonia* se usa localmente como un insecticida.

Se han realizado estudios para evaluar los efectos de un extracto novedoso de hojas solubles en agua de *Vernonia amygdalina* (VA) sobre la

15 síntesis de ADN de células de cáncer de mama humano. La línea de células MCF-7, considerada como un modelo adecuado, se usó en este estudio. El tratamiento de células con concentraciones fisiológicamente relevantes de extracto de VA soluble en agua, inhibió potencialmente la síntesis de ADN en una forma dependiente de la concentración tanto en ausencia como en

20 presencia de suero. Los estudios demuestran actividades contra el cáncer exhibidas por el crudo y las fracciones de un extracto de hojas de VA soluble en agua. Los primeros investigadores han mostrado que fracciones purificadas del extracto de VA usando cloroformo, indujeron efectos contra el

cáncer en carcinoma humano de la nasofaringe. El procedimiento comenzó con la extracción con cloroformo de hojas deshidratadas de VA para generar las fracciones A y B. La purificación de A entre metanol acuoso a 10% y éter de petróleo, dio una fracción D de metanol acuoso. El fraccionamiento de la fracción D con cromatografía de ácido silícico, resultó en dos fracciones citotóxicas denominadas F y H. Otra cromatografía de la fracción H produjo un aceite incoloro denominado vernodalina, mientras que la recromatografía de la fracción citotóxica F dio dos compuestos cristalinos similares, vernolida y vernomigdina. Estas tres fracciones puras indujeron efectos citotóxicos en células de carcinoma de nasofaringe humano con valores de IC_{50} de 1.8, 2.0 y 1.5 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente. Los investigadores concluyeron que las actividades de estos tres compuestos dependieron de sus posiciones del grupo α -metil- γ -lactona como parte de sus estructuras. Jisaka y colaboradores mostraron también que vernodalina y vernolida indujeron efectos antitumorales en células de leucemia P-388 y L-1210, con valores de IC_{50} de 0.11; y 0.17 $\mu\text{g/ml}$ para vernodalina, y de 0.13 y 0.11 $\mu\text{g/ml}$ para vernolida, respectivamente.

El análisis fitoquímico de muestras de *V. amygdalina* colectadas en Mahale de plantas individuales conocidas por ser usadas por chimpancés, reveló la presencia de dos clases principales de compuestos bioactivos. Se han aislado muchas sesquiterpeno lactonas conocidas, y 13 nuevos glucósidos esteroides de tipo estigmastano y sus agliconas de ocurrencia libre (Ohigashi *et al.*, 1991, Jisaka *et al.*, 1992a, 1992b, 1993a, 1993b). Las

sesquiterpeno lactonas presentes en *V. amygdalina* se encuentran también en *V. colorata* y en muchas otras especies de *Vernonia*. Son bien conocidas por sus propiedades antihelmínticas, antiamebianas, antitumorales y antibióticas (Toubiana y Gaudemer 1967, Kupchan *et al.*, 1969, Asaka *et al.*, 1977, 5 Gasquet *et al.*, 1985, Jisaka *et al.*, 1992a, 1993b). Extractos de metanol crudos de las hojas exhibieron actividad inmunosupresora e inhibición del proceso que inicia la primera etapa de crecimiento de células tumorales (Koshimizu *et al.*, 1993). Se encontró que las sesquiterpeno lactonas citotóxicas son más abundantes en las hojas y la corteza. Las hojas de 10 *Vernonia* se usan de esta manera para tratar dolores de estómago e infecciones parasitarias, y la planta se usa también como un insecticida, dador de vigor y un coagulante sanguíneo (McGraw Hill, 2000). Además, un reporte tradicional de la medicina tradicional de la India ha encontrado que las semillas de la planta tropical *Vernonia anthelmintica* son antiinflamatorias y 15 citotóxicas.

La alopecia es la ausencia o el retardo del crecimiento del cabello en un área del cuerpo en donde antes creció cabello. Puede ser causada por daño físico al cabello mismo, o a los folículos del cabello, pero es con más frecuencia el resultado de cambios en el ciclo de crecimiento natural 20 del cabello. En algunos tipos de alopecia, el ciclo de crecimiento es interrumpido por alguna situación temporal tal como un desequilibrio químico o estrés. Sin embargo, la vasta mayoría (95%) de los casos de pérdida del cabello en hombres (calvicie de distribución masculina) y mujeres (calvicie

difusa femenina), son de origen genético. Bajo la superficie de la piel está la raíz del cabello, la cual está encerrada dentro de un folículo del cabello. En la base del folículo del cabello está la papila dérmica (o papila). La papila dérmica es alimentada por la corriente sanguínea que lleva nutrición para producir nuevo cabello. La papila dérmica es una estructura muy importante para el crecimiento del cabello, debido a que contiene receptores para hormonas masculinas y andrógenos. Los andrógenos regulan el crecimiento del cabello, y en el cuero cabelludo los andrógenos del cabello pueden hacer que el folículo del cabello se haga progresivamente más pequeño y contribuya al desarrollo de alopecia (Hoffmann, 2001).

Las causas de la pérdida del cabello son variadas. Seis tipos principales de pérdida del cabello son, a saber, alopecia areata, alopecia androgénica, efluvio anágeno (pérdida del cabello por tratamiento de cáncer), pérdida del cabello autoinducida, efluvio telógeno y alopecia cicatrizante. Otros tipos de pérdida del cabello incluyen alopecia sifilítica (usualmente una manifestación de sífilis secundaria), esclerodermia (una enfermedad que causa fibrosis, es decir, endurecimiento y estrechamiento de la piel que interfiere con el funcionamiento normal de los folículos del cabello y el crecimiento del cabello), y tiña del cuero cabelludo (que causa pérdida del cabello por digestión de la queratina del cabello). Se piensa que la alopecia areata es una enfermedad autoinmune del cabello, apareciendo inicialmente como un parche desnudo redondeado de aproximadamente 2.54 cm a través del cuero cabelludo. La alopecia areata afecta igualmente a hombres y

mujeres, y es experimentada con frecuencia primero en la niñez. La alopecia androgénica da razón de 95% de toda la pérdida del cabello. Puede afectar a hombres y mujeres, aunque los hombres experimentan un grado mucho mayor de pérdida del cabello. Cuando ocurre alopecia androgénica, los grandes folículos del cabello activos en áreas específicas comienzan a cambiar a folículos menos activos más pequeños que se contraen ligeramente con cada nuevo ciclo de crecimiento. La testosterona 5α -reductasa convierte la testosterona a 5α -DHT. La 5α -DHT hace que el cabello cambie a estrecho, produciendo cabellos progresivamente más finos con cada nuevo ciclo de crecimiento hasta que finalmente el cabello se vuelve transparente y deja de emerger. De esta manera, esta hormona masculina, 5α -DHT, contribuye a la alopecia androgénica en aquellos que están genéticamente predispuestos. Es interesante notar que los individuos con una deficiencia en testosterona 5α -reductasa no desarrollan alopecia androgénica. Esto es porque el cuerpo es incapaz de convertir la testosterona en 5α -DHT (Hoffmann *et al.*, 2000; Hibberts *et al.*, 1998). El efluvio anágeno es la pérdida repentina del cabello que ocurre como resultado de químicos o radiación, tal como la pérdida del cabello que resulta durante ciertos tipos de quimioterapia o radioterapia. La pérdida del cabello es usualmente repentina, ocurriendo 1 a 3 semanas después de que ha ocurrido la exposición a los químicos o la radiación. El daño al cabello en algunos casos es autoinfligido, a veces conscientemente o inconscientemente. Los dos tipos principales de pérdida del cabello autoinducida son tricotilomanía (que resulta de la tracción o depilación

continua del cabello) y alopecia por tracción (causada usualmente por tracción continua y excesiva en el cabello debida a varios tipos de diseño del peinado). El efluvio telógeno ocurre cuando estrés repentino o severo causa un incremento en la muda del cabello (Brajac *et al.*, 2003). La alopecia

5 cicatrizante ocurre cuando existe inflamación en los folículos del cabello debida a infección. Es fácil identificar un caso de alopecia cicatrizante severa, debido a que habrá parches ásperos sobre la superficie del cuero cabelludo, formados de pequeños vasos sanguíneos y tejido conectivo. La alopecia cicatrizante es causada principalmente por lupus eritematoso discoide, liquen

10 plano, alopecia pseudopelada de Brocq, aplasia cutis congénita o atriquia congénita.

Varios fármacos están disponibles para tratar la alopecia, tales como inhibidores de 5 α -DHT (anti-andrógenos), SOD (superóxido dismutasas), miméticos, vasodilatadores, activadores de PGHS-1

15 (prostaglandina-H-sintasa-1) y abridores de los canales de potasio (PCOs).

La causa principal de la pérdida del cabello es la unión de 5 α -DHT a los receptores de andrógeno. El término "inhibidor de 5 α -DHT" se usa para las sustancias que inhiben enzimas responsables de la producción de 5 α -DHT, como es el caso de la testosterona 5 α -reductasa, o que de otra

20 manera bloquean o enmascaran la actividad de 5 α -DHT por unión a 5 α -DHT inactivándola de esta manera, y/o por unión a los receptores de 5 α -DHT. Los inhibidores de 5 α -DHT usados en tratamiento de la alopecia, son extracto de *Serenoa repens*, extracto de la raíz de ortiga, ácido azelaico y *Ginkgo biloba*

63
27

(Hiipakka *et al.*, 2002; Kaufman, 2002). Las superóxido dismutasas son enzimas que destruyen el radical libre superóxido, un mediador biológico importante. En muchos sistemas, el superóxido se opone a la acción de otra sustancia mensajera ubicua, el óxido nítrico. El óxido nítrico es un factor estimulador natural del crecimiento del cabello. Los miméticos de SOD incluyen prazotida de cobre y un péptido de unión a cobre. TEMPOL (4-hidroxi-2,2,6,6-tetrametil piperidinil oxilo o 4-hidroxi TEMPO) es otro mimético de SOD. Los vasodilatadores actúan incrementando la cantidad de sangre hacia el folículo del cabello. El minoxidil tópico fue originalmente un fármaco para hipertensión y debido a que es un vasodilatador, es ahora el tratamiento más ampliamente recomendado para la alopecia androgénica. Estudios recientes han mostrado que el minoxidil tópico no causa un incremento en el flujo sanguíneo de la piel que se pensaba originalmente era el mecanismo por el cual el minoxidil funciona. Estudios llevados a cabo sugieren que el minoxidil funciona activando a PGHS-1, que ayuda en la promoción del crecimiento del cabello (Messenger *et al.*, 2004). La apertura de los canales de potasio intracelulares es un mecanismo de acción común para una serie de fármacos antihipertensivos que incluyen al agente inductor del crecimiento del cabello minoxidil. Trabajos recientes sugieren que los PCOs influyen también sobre el crecimiento del cabello.

El tratamiento de la alopecia areata incluye el uso de corticosteroides (aplicación tópica), diltanol, retin A (tretinoína), minoxidil tópico (vendido como Regaine, Rogaine o Headway) y zinc (Alabdulkareen *et*

al., 1998; Meidan *et al.*, 2001) o la administración de cortisona sistémica, tratamiento con PUVA o el uso de irritantes. Los tratamientos para la alopecia androgénica, en particular para la calvicie de distribución masculina, incluyen minoxidil (más ampliamente usado), propecia (finasterida), retin-A (tretinoína),
5 zinc y skinoren/ácido azelaico (Kaufman *et al.*, 1999), y para la calvicie de distribución femenina incluyen diano 35 (acetato de ciproterona con etinilestradiol), cimetidina, acetato de ciproterona, espironolactona y nizoral/ketoconazol. El tratamiento para la tricotilomanía implica con frecuencia asesoramiento o ayuda psiquiátrica; sin embargo, en algunos
10 casos, puede prescribirse un antidepresivo. En general, un cambio en el diseño del peinado que reduzca la tracción sobre el cabello y el folículo del cabello, es todo lo que se requiere en el tratamiento de la alopecia por tracción. El efluvio telógeno que es la pérdida del cabello causada por el parto, terminación del embarazo, inicio o detención de píldoras para el control de la
15 natalidad, farmacoterapia, estrés emocional severo, etc. es usualmente temporal, y en la mayoría de los casos el cabello volverá a crecer normalmente poco después de que se ha caído. El tratamiento de la alopecia cicatrizante incluye el uso de ungüentos de corticosteroides tópicos tales como acetónido de triamcinolona, fármacos antipalúdicos tales como la
20 hidroxiclороquina, lociones de esteroides, etc. Para la alopecia sifilítica, se usa con frecuencia penicilina para tratar la condición. La tiña del cuero cabelludo, que es la pérdida del cabello causada por infección por tiña, implica el uso del tratamiento usado comúnmente para la tiña, tal como un agente antimicótico,

65

por ejemplo, champú de Nizoral (ketoconazol a 2%).

Productos naturales en el tratamiento de la alopecia incluyen Aloe (*Aloe barbadensis*), bardana (*Arctium minus*), pimienta (*Capsicum annuum* L), jengibre (*Zingiber officinale*), Ginkgo (*Ginkgo biloba*), té verde (5 *Camellia sinensis*), escaramujo (*Rosa canina*), lavanda (*Lavendula officinale*), milenrama (*Achillea millefolium*), cebolla (*Allium cepa*), *Pygeum* (*Pygeum africanum*), *Arnebia* sp., pimienta roja (*Capsicum annuum*), romero (*Rosmarinus officinalis*), aceite de cártamo (*Carthamus tinctorius*), *Serenoa repens*, ortiga (*Urtica dioica*) y aceite del árbol del té (*Melaleuca alternifolia*).

10 *Aloe barbadensis* contiene una enzima denominada superóxido dismutasa, y activa la producción de óxido nítrico que estimula el nuevo crecimiento del cabello en aquellos que sufren de calvicie de distribución masculina. Sus propiedades emolientes protegen también contra el daño al cuero cabelludo y el cabello. El extracto de *Arctium minus* ayuda a invertir 15 condiciones del cuero cabelludo debidas a alopecia, y promueve la recuperación de la irritación del cuero cabelludo. Ayuda también a mejorar el vigor, brillo y cuerpo del cabello, con sus fitosteroles naturales y ácidos grasos esenciales. *Capsicum annuum* L estimula el crecimiento del cabello en 50%, e incrementa el flujo sanguíneo hacia el cuero cabelludo, así como la liberación 20 de histamina que estimula la división celular. Es excelente para acelerar el nuevo crecimiento del cabello. El jengibre tiene agentes circulatorios que estimulan el ciclo de crecimiento del folículo del cabello. Además, el jengibre es rico en ácidos grasos que se recomiendan para la pérdida del cabello y el

adelgazamiento del eje del cabello. Los extractos de *Ginkgo* tienen actividad inhibidora de 5 α -DHT, y por lo tanto poseen actividad estimuladora del crecimiento del cabello. Aumentan también la microcirculación en la raíces, y por ende estimulan el crecimiento del cabello. Se piensa que químicos

5 naturales denominados catequinas encontradas en el té verde, pueden inhibir a la enzima testosterona 5 α -reductasa tipo I que convierte la testosterona en 5 α -DHT. Se cree por lo tanto que el té verde es efectivo en la prevención y el tratamiento de la calvicie de distribución masculina. El extracto de escaramujo es rico en vitaminas C, B1, B2, pirofosfato P, K y E, taninos, pectina y ácidos

10 de frutos. La vitamina B1 actúa en el balance de humedad de la piel, y es esencial para las funciones normales de la piel. La vitamina B2 disminuye las secreciones sebáceas, y previene la pérdida del cabello. Mejora la circulación local, estimulando de esta manera el crecimiento del cabello y nutriendo a la piel. La lavanda tiene propiedades antiinflamatorias muy fuertes que ayudan a

15 combatir la alopecia. Provee brillo, volumen y elevación sin que estropee el color del cabello. El extracto de *Achillea millefolium* contiene aceites esenciales, taninos y ácidos orgánicos. El extracto tiene acción curativa, antiinflamatoria y calmante, y estimula el crecimiento del cabello. Se han usado ortigas para tratar la alopecia debido a su eficacia en el bloqueo de 5 α -

20 DHT. El extracto de *Allium cepa* tiene un alto contenido de azufre que se cree es un mineral que cura el cabello. El extracto de *Pygeum africanum* inhibe la enzima testosterona 5 α -reductasa tipo I. Se usa ampliamente para prevenir la calvicie de distribución masculina. El extracto de la raíz de la planta *Arnebia*

67
68

sp. da una naftoquinona denominada shikonina. La shikonina es un inhibidor de la testosterona 5 α -reductasa, y de esta manera se propone que tiene actividad preventiva de la caída del cabello. El extracto de *Capsicum annuum* actúa como un irritante para la piel que lleva sangre y nutrientes hacia el cuero cabelludo, y favorece también la liberación de histaminas que estimulan la división celular y el nuevo crecimiento del cabello. Se ha mostrado que el romero promueve la circulación incrementada, y ayuda a remover la caspa y las acumulaciones de sebo en el cuero cabelludo. El extracto de *Carthamus tinctorious* actúa como un vasodilatador que dilata los vasos sanguíneos. Esto permite que más sangre suministre nutrientes hacia los folículos del cabello. El extracto de *Serenoa repens* es muy efectivo en el bloqueo de la formación de 5 α -DHT, y parece bloquear a los receptores de andrógeno que se encuentran en los folículos del cabello. Bloquea las formas tipo 1 y tipo 2 de la testosterona 5 α -reductasa. Se piensa que el extracto de *Urtica dioica* bloquea la conversión de testosterona en 5 α -DHT. Se ha mostrado que el extracto de aceite esencial de *Melaleuca alternifolia* destruye a la levadura (*Pityrosporum ovale*) responsable de la caspa. Esta levadura infecta el cuero cabelludo, causando inflamación y comezón que lleva a pérdida del cabello. El aceite de árbol del té se infiltra a través de la piel y destruye a la levadura, de modo que el cabello queda libre de caspa y por ende reduce la pérdida del cabello. Se ha mostrado que constituyentes bioactivos tales como aceites esenciales derivados de acículas de pino y raíces de la bardana; taninos (corteza de roble y sauce); bioflavonoides (corteza de sauce, acículas de pino y hollejos

de arroz) y vitaminas B1, B6 y B7 (hollejos de arroz y acículas de pino), poseen actividad que promueve el crecimiento del cabello.

Es bien sabido en la técnica que ciertas manifestaciones fisiológicas indeseables, tales como acné vulgar, seborrea, hirsutismo
5 femenino, calvicie de distribución masculina e hipertrofia prostática benigna, son el resultado de estimulación hiperandrogénica causada por una acumulación excesiva de testosterona u hormonas androgénicas similares en el sistema metabólico. El crecimiento del cabello depende de una estrecha interacción de diferentes poblaciones de células del folículo del cabello. En
10 ciertas regiones del cuerpo, los andrógenos interfieren con su cooperación altamente regulada en una manera aún poco entendida. La respuesta de los folículos del cabello a los andrógenos puede agruparse como dependiente de andrógenos, por ejemplo, en la barba, sensible a andrógenos, por ejemplo, en el cuero cabelludo frontal de los individuos afectados, o independiente de
15 andrógenos, por ejemplo, en el cuero cabelludo occipital. Al nivel de células objetivo, el balance entre 5-alfa-reductasa, 17-beta-hidroxiesteroide-deshidrogenasa (17-beta-HSD) y 3 alfa-hidroxiesteroide deshidrogenasa (3-alfa-HSD), da metabolitos con diferente potencial androgénico. Los primeros intentos por proveer un agente quimioterapéutico para contrarrestar los
20 resultados indeseables de la hiperandrogenicidad, resultaron en el descubrimiento de varios antiandrógenos esteroidales que tienen actividades hormonales indeseables propias. Los estrógenos, por ejemplo, no sólo contrarrestan el efecto de los andrógenos, sino tienen también un efecto

feminizante. Se han desarrollado también antiandrógenos no esteroideos, por ejemplo, 4'-nitro-3'-trifluorometilisobutiranilida. Sin embargo, estos productos, aunque carentes de efectos hormonales, son periféricamente activos, compitiendo con los andrógenos naturales por los sitios receptores, y por ende

5 tienen una tendencia a feminizar a un hospedero masculino o al feto masculino de un hospedero femenino. Recientemente se ha sabido en la técnica que el mediador principal de la actividad androgénica en algunos órganos objetivo es la 5-alfa-dihidrotestosterona, y que se forma localmente en el órgano objetivo por acción de la testosterona-5-alfa-reductasa. Por lo

10 tanto, se ha postulado y se ha demostrado que los inhibidores de testosterona-5-alfa-reductasa servirán para prevenir o disminuir los síntomas de la estimulación hiperandrogénica.

La finasterida (Propecia®) es un inhibidor específico de la 5-alfa-reductasa tipo II. Es decir, inhibe a la enzima responsable de la regulación de

15 la conversión de testosterona a dihidrotestosterona (DHT). Mediante la reducción de los niveles de DHT en el cuero cabelludo, el fármaco disminuye los efectos de la DHT sobre los folículos del cabello, revertiendo el proceso de pérdida del cabello. La finasterida inhibe la expresión de la enzima 5-alfa-reductasa, que regula la producción de dihidrotestosterona (DHT). Mediante la

20 disminución de los niveles de DHT en el cuero cabelludo, reduce el efecto nocivo de la DHT sobre los folículos del cabello. La finasterida disminuye las concentraciones de DHT en el suero y el cuero cabelludo por hasta 70% y 60%, respectivamente.

70
X

Recientemente, ha habido un interés incrementado en el uso de la terapia natural para el tratamiento de un estado de enfermedad. Se ha demostrado que muchos extractos herbales son útiles en el tratamiento de la hiperplasia prostática benigna. Uno de dichos extractos herbales es el extracto de las bayas de *Serenoa repens*. *Serenoa repens* es una pequeña palma con grandes hojas y grandes bayas de color negro-rojo oscuro. Las bayas de *Serenoa repens* contienen un aceite con una variedad de ácidos grasos y fitosteroles. Se ha mostrado que el extracto soluble en grasas de la bayas de *Serenoa repens* inhibe la conversión de testosterona, que se piensa es responsable del crecimiento de la próstata. Además, el extracto de *Serenoa repens* inhibe la unión de la DHT a los receptores, bloqueando de esta manera la acción de la DHT, y promoviendo la degradación del compuesto potente. Otro extracto herbal usado es el de la planta *Pygeum* africana. *Pygeum* es un gran árbol siempre verde que crece en las mesetas más altas de Sudáfrica. La corteza del árbol es procesada para producir una fracción liposoluble que contiene fitosteroles, triterpenoides pentacíclicos y ésteres ferúlicos de ácidos grasos de cadena larga. Se ha encontrado que los extractos de la planta *Pygeum* africana en pruebas clínicas de doble ciego, son efectivos en el tratamiento de una amplia gama de hiperplasia prostática. El consumo del extracto de *Pygeum* resultó en una mejora significativa de síntomas, reducción en el tamaño de la próstata y depuración de la obstrucción uretral del cuello de la vejiga. Se ha demostrado que el extracto de la ortiga, que es un extracto de una planta perenne que crece en todo el

71
72

mundo, muestra una reducción en el potencial de crecimiento de la próstata en ratones con la administración de una alta dosis del extracto de la raíz de la ortiga. Tradicionalmente, las ortigas han sido conocidas también como un tónico para el cabello y la piel, estimulando el crecimiento del cabello, mejorando la condición del cabello y la piel, y para el tratamiento de la caspa. Existe aún la necesidad de un estimulante natural para el crecimiento del cabello para su uso en el tratamiento de la alopecia androgénica, que tenga efectos secundarios y riesgo de toxicidad reducidos en comparación con los compuestos farmacéuticos sintetizados. La conversión de testosterona (T) a dihidrotestosterona (DHT) por medio de la enzima 5-alfa-reductasa (5AR), contribuye a la pérdida del cabello.

Ninguna literatura se ha encontrado respecto al uso del extracto de *Vernonia sp.* para el tratamiento de la pérdida del cabello. Existe aún la necesidad de una búsqueda continua de productos naturales novedosos que puedan usarse para la prevención de la pérdida del cabello y/o regeneración del cabello carente de cualquier efecto tóxico, y de preferencia que facilite la restauración del cabello. La presente invención no sólo provee una solución novedosa al problema mencionado anteriormente, sino describe también composiciones farmacéuticas que comprenden un extracto de un producto natural altamente efectivo para el tratamiento de dichos trastornos relacionados con el cabello.

BREVE DESCRIPCION DE LA INVENCION

Es un objetivo de la presente invención proveer composiciones novedosas para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello, que comprendan por lo menos uno o varios agentes derivados de una fuente natural o fuente sintética o fuente semisintética como el agente activo, ya sea solo o en combinación con otros agentes activos, y opcionalmente uno o más excipientes.

Es un objetivo de la presente invención proveer composiciones novedosas para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello, que comprendan un extracto obtenido de la planta *Vernonia sp.* como el agente activo, ya sea solo o en combinación con otros agentes activos, y opcionalmente uno o más excipientes.

Es un objetivo de la presente invención proveer composiciones novedosas para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello, que comprendan un extracto obtenido de la planta *Vernonia anthelmintica* como el agente activo, ya sea solo o en combinación con otros agentes activos, y opcionalmente uno o más excipientes.

Es otro objetivo de la presente invención proveer un procedimiento para la preparación o extracción del agente para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello, de una fuente natural o fuente sintética o fuente semisintética.

Es otro objetivo de la presente invención proveer un

73
~~24~~

procedimiento para la preparación de composiciones que comprendan el agente activo para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello.

5 Es otro objetivo de la presente invención proveer un procedimiento para la preparación de dicha composición novedosa, que comprenda los siguientes pasos:

i) mezclar los agentes activos para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello, con uno o más excipientes, y

10 ii) formular la mezcla en una forma de dosificación adecuada.

Es otro objetivo de la presente invención proveer un método de uso de dicho agente novedoso para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello, o composiciones farmacéuticas que comprendan dicho agente, que comprenda administrar a un sujeto que
15 necesita del mismo, una cantidad efectiva de dicho agente o composición del mismo.

Las composiciones novedosas de la presente invención están de preferencia en la forma de preparaciones orales o tópicas, más preferiblemente en la forma de preparaciones tópicas tales como líquido,
20 crema, gel, loción o rocío. Las composiciones son útiles para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello, de preferencia para el tratamiento de alopecia androgénica inducida por testosterona.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención provee composiciones novedosas para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello, 5 que comprenden por lo menos uno o varios agentes derivados de una fuente natural o fuente sintética o fuente semisintética como el agente activo, ya sea solo o en combinación con otros agentes activos, y opcionalmente uno o más excipientes.

De preferencia, el agente para la prevención de la pérdida del 10 cabello y/o promoción del crecimiento del cabello, se deriva de una fuente natural. En una modalidad, la composición de la presente invención es útil como una formulación farmacéutica o un cosmético o producto ayurvédico. En una modalidad de la presente invención, las composiciones novedosas para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello, 15 comprenden un extracto obtenido de la planta *Vernonia sp.* como el agente activo, ya sea solo o en combinación con otros agentes activos, y opcionalmente uno o más excipientes. En una modalidad preferida de la presente invención, las composiciones novedosas para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello, comprenden un 20 extracto obtenido de la planta *Vernonia anthelmintica* como el agente activo, ya sea solo o en combinación con otros agentes activos, y opcionalmente uno o más excipientes. En otra modalidad, la parte de la planta usada para preparar el extracto puede ser cualquier parte o mezcla de partes o planta

75
2/6

entera. Las partes usadas se seleccionan de preferencia de partes aéreas tales como hojas, ápices en floración, flores, semillas, frutos y tallos, o combinación de dichas partes.

5 En otra modalidad de la presente invención, se provee un procedimiento para la preparación o extracción del agente para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello de una fuente natural o fuente sintética o fuente semisintética, o una combinación de dichas fuentes.

10 En una modalidad de la presente invención, el procedimiento de extracción del agente para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello, comprende los siguientes pasos:

- i) extracción de la planta o partes de la planta deshidratadas y pulverizadas con un solvente no polar, o mezclas del mismo,
- ii) destilación del extracto para remover el solvente,
- 15 iii) opcionalmente, otra extracción del residuo con un solvente polar o mezclas del mismo,
- iv) opcionalmente, destilación del extracto para remover el solvente para obtener el extracto deseado, de preferencia como un polvo.

20 En otra modalidad, el procedimiento para la extracción de los agentes para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello de especies de *Vernonia*, comprende los siguientes pasos:

- i) extracción de la planta o partes de la planta deshidratadas y



pulverizadas con un solvente polar, o mezclas del mismo,

ii) opcionalmente, destilación/concentración del extracto para remover/reducir el solvente,

iii) opcionalmente, deshidratación del extracto para remover el solvente para obtener el extracto deseado, de preferencia como un polvo.

En otra modalidad, el procedimiento para la extracción de los agentes para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello de especies de *Vernonia*, comprende los siguientes pasos:

i) expresión del jugo de la planta o partes de la planta frescas opcionalmente con la adición de un solvente polar, o mezcla del mismo,

ii) filtración del jugo,

iii) opcionalmente, destilación/concentración del extracto para remover/reducir el solvente,

iv) opcionalmente, deshidratación del extracto para remover el solvente para obtener el extracto deseado, de preferencia como un polvo.

El solvente polar útil en la presente invención se selecciona de, pero no está limitado a, acetona, metanol, etanol, alcohol isopropílico tal como isopropanol, butanol, agua, y similares, usados ya sea solos o en combinación de los mismos. El solvente no polar útil en la presente invención se selecciona de, pero no está limitado a, pentano, hexano, heptano, éter dietílico, éter de petróleo, cloroformo, diclorometano, dicloroetano, o mezclas de los mismos. El modo de deshidratación usado en la invención se selecciona de un método

77
78

conocido en la técnica que incluye, pero no está limitado a, deshidratación en bandeja, deshidratación en bandeja al vacío, deshidratación en bandeja al vacío agitada, deshidratación por aspersión, deshidratación por congelación, liofilización, y similares, usados ya sea solos o en combinación de los mismos.

5 En otra modalidad de la presente invención, se provee un procedimiento para la preparación de una composición novedosa que comprende el agente para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello, que comprende los siguientes pasos:

i) mezclar los agentes activos para la prevención de la pérdida
10 del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello con uno o más excipientes, y

ii) formular la mezcla en una forma de dosificación adecuada.

En una modalidad, el agente para la prevención de la pérdida del
cabello y/o promoción del crecimiento del cabello, comprende uno o más
15 fitosteroles. Los fitosteroles se extraen de la fuente natural, tales como aquellos obtenidos de *Vernonia sp.*, o se sintetizan usando una combinación de las técnicas de síntesis conocidas en la materia. Los fitosteroles pueden obtenerse en forma alternativa semisintéticamente. En una modalidad, el extracto para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del
20 crecimiento del cabello, comprende también uno o más componentes tales como ácidos grasos o ésteres de ácidos grasos, carotenoides, o similares, o mezclas de los mismos. En una modalidad, el extracto de *Vernonia* puede someterse a cromatografía en columna para el aislamiento de los

78
X

constituyentes fotoquímicos. El extracto de *Vernonia anthelmintica* puede cromatografiarse en columna usando alúmina neutra como fase estacionaria, y cloroformo a 15% en hexano como fase móvil. Las fracciones obtenidas pueden ser agrupadas y deshidratadas. La fracción agrupada puede
5 cromatografiarse de nuevo en columna usando gel de sílice (100-200) como fase estacionaria, y hexano como fase móvil. La polaridad de la fase móvil puede incrementarse hasta cloroformo a 7% en hexano. Las fracciones obtenidas en esta fase móvil pueden ser agrupadas y deshidratadas bajo vacío; y la fracción agrupada puede cristalizarse usando un solvente
10 adecuado para obtener un compuesto puro.

En una modalidad, el extracto para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello, comprende uno o más extractos obtenidos de varias especies de la planta *Vernonia* tales como, pero no limitadas a, *Vernonia noveboracense*, *Vernonia praealta*, *Vernonia*
15 *tomentosa*, *Vernonia anthelmintica*, *Vernonia amygdalina*, *Vernonia cinerea*, y similares.

En una modalidad, el extracto novedoso de la presente invención obtenido de la planta *Vernonia sp.* se combina con por lo menos algún otro extracto obtenido de una fuente natural que incluye, pero no está limitada, un
20 grupo que comprende *Aloe* (*Aloe barbadensis*), bardana (*Arctium minus*), pimienta (*Capsicum annuum* L), jengibre (*Zingiber officinale*), *Ginkgo* (*Ginkgo biloba*), té verde (*Camellia sinensis*), escaramujo (*Rosa canina*), lavanda (*Lavandula officinale*), milenrama (*Achillea millefolium*), ortigas (*Urtica dioica*),

cebolla (*Allium cepa*), *Pygeum* (*Pygeum africanum*), *Arnebia* sp., pimienta roja (*Capsicum annuum*), romero (*Rosmarinus officinalis*), aceite de cártamo (*Carthamus tinctorius*), *Serenoa repens* y aceite del árbol del té (*Melaleuca alternifolia*).

5 En otra modalidad de la presente invención, se provee un método de uso del agente novedoso para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello o composiciones farmacéuticas que comprenden dicho agente, que comprende administrar a un sujeto que necesita del mismo, una cantidad efectiva de dicho agente o
10 composición del mismo. Las composiciones de la presente invención son útiles en el manejo de enfermedades/trastornos del cabello, que incluyen profilaxis, mejora o tratamiento de dichas enfermedades/trastornos del cabello.

 En otra modalidad, el agente para la prevención de la pérdida del
15 cabello y/o promoción del crecimiento del cabello, o composiciones del mismo, es útil en uno o más de varios trastornos del cabello que incluyen, pero no están limitados a, un grupo que comprende alopecia areata, alopecia androgénica, efluvio anágeno (pérdida del cabello por tratamiento de cáncer), pérdida del cabello autoinducida, efluvio telógeno, alopecia cicatrizante,
20 alopecia sifilítica, esclerodermia y tiña del cuero cabelludo. En una modalidad, el agente activo para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello, actúa de preferencia bloqueando o inhibiendo a la testosterona-5 α -reductasa responsable de la conversión de testosterona a 5 α -

80

DHT. La 5 α -DHT hace que el eje del cabello se estreche, produciendo cabellos progresivamente más finos con cada nuevo ciclo de crecimiento, hasta que finalmente los cabellos se vuelven transparentes y dejan de emerger. De esta manera, esta hormona masculina, 5 α -DHT, contribuye a la

5 alopecia androgénica, principalmente en aquellos que están predispuestos genéticamente.

En otra modalidad, el agente activo para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello de la presente invención, se combina además con uno o más fármacos alopáticos que están

10 disponibles para tratar la alopecia, ocurriendo debido a diferentes condiciones patológicas, tales como inhibidores de 5 α -DHT (anti-andrógenos), SOD (superóxido dismutasas), miméticos, vasodilatadores, activadores de PGHS-1 (prostaglandina-H-sintasa-1) y abridores de los canales de potasio (PCOs). De preferencia, dicha combinación lleva a un efecto aditivo, de potenciación o

15 sinérgico, y podría llevar a una reducción en la dosis del fármaco alopático usado, reduciendo al mínimo de esta manera los efectos adversos dependientes de la dosis asociados con dicho fármaco. En otra modalidad, el agente activo para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello de la presente invención, se combina además con uno

20 o más fármacos alopáticos seleccionados de, pero no limitados a, un grupo que comprende corticosteroides, ditranol, retin A (tretinoína), minoxidil, zinc, irritantes, finasterida, skinoren/ácido azelaico, acetato de ciproterona con etinilestradiol, cimetidina, acetato de ciproterona, espironolactona,

ketoconazol, antidepresivo, acetónido de triamcinolona, fármacos antipalúdicos tales como hidroxiclороquina, penicilina, y similares, o mezclas de los mismos. Cualquier otro fármaco adecuado conocido en la técnica que sea útil para el tratamiento de trastornos del cabello u otros trastornos
5 asociados, tales como depresión o ansiedad debidos a la pérdida del cabello, etc., puede combinarse con el agente activo para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello de la presente invención.

En otra modalidad, las composiciones novedosas de la presente invención pueden formularse como una forma de dosificación cosmética, herbal, ayurvédica o farmacéutica conocida en la técnica, de preferencia en la
10 forma de una preparación oral tal como tabletas o cápsulas, o una preparación tópica tal como líquido, crema, gel, loción o rocío, que sean útiles para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello, de preferencia para el tratamiento de alopecia androgénica inducida por
15 testosterona. Las composiciones pueden estar también en la forma de un champú o acondicionador o aceite para el cabello que podría aplicarse tópicamente en el sitio deseado. En otra modalidad, la dosis preferida del agente activo para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello de la presente invención, es de aproximadamente
20 0.01% a aproximadamente 15.0% en p/p, de preferencia de aproximadamente 0.1% a aproximadamente 5.0% en p/p de la composición.

Estudios farmacológicos

Se estudió la eficacia de un extracto de *Vernonia anthelmintica* (preparado de acuerdo con el ejemplo 1 como se indica más adelante) contra la alopecia inducida por testosterona en hámsteres. Se adquirieron hámsteres machos (n = 6/grupo) que pesaban de 90 a 120 g, de Central Animal House de Panacea Biotec Ltd. para estudio. El fármaco usado para inducir la alopecia fue inyección de depósito intramuscular de testosterona (Testoviron); B. No. K1007, German Remedies Limited; cada ml de dicha inyección contenía enantato de testosterona USP.... 250 mg y aceite de *Arachis* (cacañuate) IP...c.s. La vía de administración de las composiciones en crema fue tópica, y la duración de estudio fue de 22 días. Se dividió a los hámsteres en dos grupos diferentes: un grupo tratado con extracto de *Vernonia anthelmintica*, y otro grupo control de testosterona. En el día 0 de estudio, el pelo sobre y alrededor de los órganos de los costados sería afeitado con trasquiladoras eléctricas. Los diferentes tratamientos se resumen en el cuadro 1.

CUADRO 1

Resumen de plan de tratamiento

20	Grupo número	Tratamiento
	I	Testosterona (25 mg en volumen dividido de 33.3 µl en el día 0, 7 y 14) + alcohol a 95% en v/v (100 µl/sitio)
	II	Extracto de <i>Vernonia anthelmintica</i> (100 µl/sitio)

83
H4

Se administró intramuscularmente testosterona en dosis divididas, mientras que se aplicó tópicamente extracto de *Vernonia anthelmintica* dos veces al día por 21 días. En el día 7, el pelo alrededor de los órganos de los costados se volvió a trasquilar. La cantidad de crecimiento del pelo en el área alrededor de los órganos de los costados se clasificó visualmente en el día 22, sobre una escala de 0 a 3 (0 = piel calva, 1 = ligero crecimiento del pelo, 2 = crecimiento moderado del pelo y 3 = crecimiento completo del pelo). Se tomaron fotografías de los órganos de los costados en el día 0 y 22. En el día 22, los hámsteres tratados con testosterona mostraron una pérdida significativa del pelo en comparación con el grupo normal (puntuación para el crecimiento del pelo; tratados con testosterona = 0.58 ± 0.15 en comparación con el control = 2.0). El tratamiento con extracto de *Vernonia anthelmintica* (tópico, 100 μ l/sitio), revertió significativamente la pérdida del pelo inducida por la testosterona en los hámsteres (figura 1). Fotografías representativas de los diferentes grupos de tratamiento se muestran en la figura 2. El grupo "control" mostró crecimiento normal del pelo en el día 22, el cual fue prevenido por el tratamiento con testosterona. Además, el tratamiento con extracto de *Vernonia anthelmintica* por 22 días revertió la pérdida del pelo inducida por la testosterona.

Se llevó a cabo otro estudio en hámsteres para demostrar la eficacia comparativa de un extracto de *Vernonia anthelmintica* (preparado de acuerdo con el ejemplo 2 como se indica más adelante) contra finasterida, en alopecia inducida por andrógenos. Se dividió a los hámsteres en cinco grupos

84
80

diferentes: un grupo control normal, tres grupos tratados con fármaco, y un grupo control de testosterona. En el día 0 del estudio, el pelo sobre y alrededor de los órganos de los costados se afeitó con trasquiladoras eléctricas. Se aplicó tópicamente alcohol a 95% (100 µl/sitio), dos veces al día, a grupos control normal y control de testosterona por 21 días. Se aplicó tópicamente crema de *Serenoa repens* (100 mg/sitio) dos veces al día por 21 días. Se aplicaron tópicamente 100 µl/sitio de solución a 2% de extracto de *Vernonia anthelmintica*, dos veces al día por 21 días. Se administró oralmente finasterida (0.6 mg/kg) dos veces al día por 21 días. A los diferentes grupos salvo el grupo control normal se les administró testosterona (25 mg, i.m. en dosis divididas de 33.3 µl en el día 0, 7 y 14) 1 hora post-administración del fármaco. En el día 7, se volvió a trasquilar el pelo alrededor de los órganos de los costados. La cantidad de crecimiento del pelo en el área alrededor de los órganos de los costados se clasificó visualmente a intervalos semanales sobre una escala de 0 a 3 (0 = piel calva, 1 = ligero crecimiento del pelo, 2 = crecimiento moderado del pelo y 3 = crecimiento completo del pelo). El resultado se muestra en el cuadro 2, y se muestra gráficamente en la figura 3. Fotografías representativas de crecimiento del pelo en hámsteres para diferentes tratamientos, se muestran en la figura 4. El grupo control mostró crecimiento normal del pelo, el cual fue prevenido por el tratamiento con testosterona. Además, finasterida o composición de extracto de *Vernonia anthelmintica*, pero no *Serenoa repens*, revertieron significativamente la pérdida del pelo inducida por la testosterona en comparación con el grupo

control en el día 22. El estudio indicó que el extracto de *Vernonia anthelmintica* es significativamente más efectivo que finasterida en el tratamiento de la alopecia androgénica inducida por testosterona.

5

CUADRO 2

Perfil comparativo de crecimiento del pelo de un extracto de *Vernonia anthelmintica* contra finasterida

Sujeto número	Tratamiento	Media* ± SEM (error estándar de la media)
10	1. Control	2.75 ± 0.171
	2. Testosterona (33.3 µl)	1.33 ± 0.211
	3. <i>Serenoa repens</i> (100 mg)	1.58 ± 0.201
	4. Extracto de <i>Vernonia anthelmintica</i> , 2% en p/v (100 µl)	2.83 ± 0.167
	5. Finasterida (0.6 mg/kg)	2.20 ± 0.339

* Crecimiento del pelo sobre una escala de 0 a 3 (0 = piel calva, 1 = ligero crecimiento del pelo, 2 = crecimiento moderado del pelo y 3 = crecimiento completo del pelo).

15

Se llevó a cabo otro estudio para determinar la concentración de una composición tópica que comprende extracto de *Vernonia anthelmintica*, en particular en la forma de cremas de *Vernonia*, que exhibe un efecto promotor del crecimiento del cabello, en alopecia inducida por testosterona en hámsteres. Se usaron hámsteres machos (n = 6/grupo) que pesaban de 80 a 90 g adquiridos de Central Animal House de Panacea Biotech Ltd. El fármaco usado para inducir la alopecia fue inyección de depósito intramuscular de testosterona (Testoviron); B. No. K1007, German Remedies Limited; cada ml de la inyección contenía enantato de testosterona USP.... 250 mg y aceite de

20

86

Arachis IP...c.s. Se usaron cuatro lotes de cremas de *Vernonia* de diferentes concentraciones para realizar el estudio, a saber, B. No. 0629/010A (2% en p/p), B. No. 0629/010C (0.2% en p/p), B. No. 0629/014A (2% en p/p) y B. No. 0629/014C (0.2% en p/p) preparados de acuerdo con el ejemplo 3 y el ejemplo 4, como se indica más adelante. La vía de administración de las composiciones en crema fue tópica, y la duración de estudio fue de 22 días. El pelo sobre y alrededor de los órganos de los costados de los hámsteres se afeitó con trasquiladoras eléctricas. Se dividió a los hámsteres en cuatro grupos diferentes, y se les asignaron diferentes tratamientos. El resumen de los diferentes tratamientos se muestra en el cuadro 3.

CUADRO 3

Resumen del plan de tratamiento

Grupo número	Tratamiento
I	Control
II	Testosterona (25 mg en volumen dividido de 33.3 µl en el día 0, 7 y 14)
III	B. No. 0629/010A, 2% en p/p; 100 mg, dos veces al día
IV	B. No. 0629/010C, 0.2% en p/p; 100 mg, dos veces al día
V	B. No. 0629/014A, 2% en p/p; 100 mg, dos veces al día
VI	B. No. 0629/014C, 0.2% en p/p; 100 mg, dos veces al día

Se administró intramuscularmente testosterona en dosis divididas, mientras que se aplicaron tópicamente cremas de *Vernonia* (100 mg) dos veces al día. Todos los tratamientos se dieron por 21 días. En el día 7, se volvió a trasquilar el pelo alrededor de los órganos de los costados. La

88 87

cantidad de crecimiento del pelo en el área alrededor de los órganos de los costados se clasificó visualmente en el día 22 sobre una escala de 0 a 3 (0 = piel calva, 1 = ligero crecimiento del pelo, 2 = crecimiento moderado del pelo y 3 = crecimiento completo del pelo). Se tomaron fotografías de los órganos de los costados para cada tratamiento antes de cualquier tratamiento y en el día 22 para estudiar los cambios de crecimiento del pelo, los cuales se muestran en la figura 5. El crecimiento del pelo presentado como media se analizó por ANOVA unidireccional seguida de prueba de rangos múltiples de Student-Newman-Keuls. Se aceptó $P < 0.05$ como el nivel de diferencia significativa. En el día 22, los hámsteres tratados con testosterona mostraron una pérdida significativa del pelo en comparación con el grupo normal (figura 5(a) y 5(b)) (puntuación para el crecimiento del pelo; tratados con testosterona 0.13 contra control normal = 3). La aplicación tópica de crema de *Vernonia* a 2% en p/p (B. No. 0629/010A) por 21 días previno significativamente la pérdida del pelo inducida por testosterona en los hámsteres (puntuación para el crecimiento del pelo 2.08), cuando se comparó con el grupo de testosterona (puntuación para el crecimiento del pelo 0.13) (figura 5(c) y 5(b), respectivamente). Comparativamente, se observó menos crecimiento del pelo en hámsteres tratados con otras cremas de *Vernonia* (B. No. 0629/010C, B. No. 0629/014A y B. No. 0629/014C). La puntuación para el crecimiento del pelo para B. No. 0629/010C fue de 0.67, para B. No. 0629/014A fue de 0.33, y para B. No. 0629/014C fue de 0.17, en comparación con 0.13 para el grupo de testosterona (figura-5(d), 5(e), 5(f) y 5(b), respectivamente). Los hámsteres

tratados con B. No. 0629/014A y B. No. 0629/014C y su placebo respectivo, desarrollaron escamas sobre el área de aplicación (figura 5(e), 5(f) y 5(g), respectivamente). No se observó formación de escamas sobre el área de aplicación en hámsteres tratados con las cremas de *Vernonia* B. No. 5 0629/010A y B. No. 0629/010C o su placebo (figura 5(c), 5(d) y 5(h)). El grupo control mostró crecimiento normal del pelo, el cual fue prevenido por el tratamiento con testosterona. Además, la crema de *Vernonia* (2% en p/p, B. No. 0629/010A) previno significativamente la pérdida del pelo inducida por testosterona en comparación con el grupo de testosterona. Sin embargo, otras 10 formulaciones en crema de crema de *Vernonia* previnieron la pérdida del pelo inducida por testosterona a un menor grado. Los resultados del presente estudio sugirieron que la crema de *Vernonia* de B. No. 0629/010A, es decir, composición de concentración a 2%, fue comparativamente más efectiva para promover el crecimiento del cabello en hámsteres desafiados con 15 testosterona, en comparación con las otras composiciones estudiadas.

Se realizó otro estudio para estudiar la respuesta a la dosis de gel de extracto de *Vernonia*, y para comparar su efecto de promoción del crecimiento del cabello contra gel de jugo deshidratado por congelación de *Vernonia*. El gel de extracto de *Vernonia* se preparó obteniendo un extracto de 20 solvente orgánico de *Vernonia*, y formulándolo en una composición en gel. El gel de jugo deshidratado por congelación de *Vernonia* se preparó expresando el jugo de hojas frescas y ápices en floración de *Vernonia*, seguida de deshidratación por congelación y formulándolo en una composición en gel. Se

89
97

usaron hámsteres machos (n = 6-8/grupo) que pesaban de 80 a 90 g obtenidos de Central Animal House de Panacea Biotec Ltd. El fármaco usado para inducir la alopecia fue inyección de depósito intramuscular de testosterona (Testoviron); B. No. K1007, German Remedies Limited; cada ml de la inyección contenía enantato de testosterona USP.... 250 mg y aceite de *Arachis* IP...c.s. Los siguientes se usaron para realizar el estudio, a saber, los geles de extracto de *Vernonia* B. No. 0629/030A (0.5% en p/p), B. No. 0629/030B (1% en p/p) y B. No. 0629/030C (2% en p/p); y los geles de jugo deshidratado por congelación de *Vernonia* B. No. 0629/026A (1.25% en p/p) y B. No. 0629/026B (2.5% en p/p) (preparados de acuerdo con el ejemplo 5 y el ejemplo 6 como se indica más adelante). La vía de administración de las composiciones fue tópica, y la duración de estudio fue de 22 días. El pelo sobre y alrededor de los órganos de los costados de los hámsteres se afeitó con trasquiladoras eléctricas. Se dividió a los hámsteres en cuatro grupos diferentes, y se les asignaron diferentes tratamientos. El resumen de los diferentes tratamientos se muestra en el cuadro 4.

97

CUADRO 4

Resumen del plan de tratamiento

	Grupo número	Tratamiento
	I	Control
5	II	Testosterona (25 mg en volumen dividido de 33.3 µl en el día 0, 7 y 14)
	III	B. No. 0629/030A, 0.5% en p/p; 100 mg, dos veces al día
	IV	B. No. 0629/030B, 1% en p/p; 100 mg, dos veces al día
	V	B. No. 0629/030C, 2% en p/p; 100 mg, dos veces al día
	VI	B. No. 0629/026A, 1.25% en p/p; 100 mg, dos veces al día
	VII	B. No. 0629/026B, 2.5% en p/p; 100 mg, dos veces al día

10 Se administró intramuscularmente testosterona en dosis
divididas, mientras que se aplicaron tópicamente cremas de *Vernonia* (100
mg) dos veces al día. Todos los tratamientos se dieron por 21 días. En el día
7, se volvió a trasquilar el pelo alrededor de los órganos de los costados. La
cantidad de crecimiento del pelo en el área alrededor de los órganos de los
15 costados se clasificó visualmente en el día 22 sobre una escala de 0 a 3 (0 =
piel calva, 1 = ligero crecimiento del pelo, 2 = crecimiento moderado del pelo y
3 = crecimiento completo del pelo). Se tomaron fotografías de los órganos de
los costados para cada tratamiento antes de cualquier tratamiento y en el día
22, para estudiar los cambios de crecimiento del pelo. El crecimiento del pelo
20 presentado como media se analizó por ANOVA unidireccional seguida de
prueba de rangos múltiples de Student-Newman-Keuls. Se aceptó $P < 0.05$
como el nivel de diferencia significativa. Las puntuaciones y las fotografías
representativas de crecimiento del pelo en los hámsteres se muestran en la

al
9c
7

figura 6 y la figura 7, respectivamente. En el día 22, los hámsteres tratados con testosterona mostraron pérdida completa del pelo en comparación con el grupo normal (puntuación para el crecimiento del pelo; tratados con testosterona 0 contra control normal = 1.31 ± 0.18) (figura 7(b) y (d)). Los

5 animales en el grupo control mostraron crecimiento normal del pelo (figura 6(b)). La aplicación tópica (100 mg, dos veces al día) de geles de extracto de *Vernonia* (0.5, 1 y 2% en p/p) por 21 días, previno significativamente la pérdida del pelo inducida por la testosterona en los hámsteres cuando se comparó con el grupo de testosterona (figura 6, figura 7(e), (f) y (g)). Se

10 encontró que el efecto es dependiente de la dosis. Además, se encontró que el crecimiento del pelo inducido por geles de extracto de *Vernonia* (1 y 2% en p/p) (puntuación para el crecimiento del pelo), es más intenso que el crecimiento normal del pelo en el grupo control (figura 6). Asimismo, los geles de jugo deshidratado por congelación de *Vernonia* (1.25 y 2.5% en p/p),

15 promovieron también significativamente el crecimiento del pelo en los hámsteres desafiados con testosterona (figura 6, figura 7(h) e (i)). Se encontró que el crecimiento del pelo es dependiente de la dosis, y sin embargo significativamente menor también que el de todos los geles del extracto y el control normal (figura 6). Los resultados del estudio demostraron un efecto de

20 promoción del crecimiento del pelo dependiente de la dosis en los hámsteres tratados con gel de extracto de *Vernonia* (0.5 - 2% en p/p), que al nivel de dosis de 1% y 2% en p/p, fue más intenso que el crecimiento normal del pelo. Asimismo, los extractos de jugo deshidratados por congelación de *Vernonia*

92
95

(1.25% y 2.5% en p/p) demostraron también un efecto dependiente de la dosis sobre el crecimiento del pelo en hámsteres, pero menor que el de los geles de extracto sobre el crecimiento normal del pelo.

5

BREVE DESCRIPCION DE LAS FIGURAS

La figura 1 muestra el efecto del extracto de *Vernonia anthelmintica* (tópico, 100 µl/sitio) sobre la pérdida del pelo inducida por testosterona en hámsteres. Los datos se presentan como media $\pm$ SEM.

10 *P<0.05 en comparación con el grupo tratado con testosterona.

La figura 2 muestra fotografías representativas de crecimiento del pelo en hámsteres: (a) grupo control (día 0), (b) grupo control día 22, (c) tratado con testosterona (día 22), y (d) tratado con extracto de *Vernonia anthelmintica*.

15 La figura 3 muestra el perfil comparativo de crecimiento del pelo del extracto de *Vernonia anthelmintica* contra finasterida.

La figura 4 muestra fotografías representativas de crecimiento del pelo en hámsteres: (a) grupo control día 0, (b) grupo control día 22, (c) tratado con testosterona día 22, (d) *Serenoa repens* día 22, (e) *Arnebia euchroma* día 22, (f) *Vernonia anthelmintica* día 22, y (g) finasterida día 22.

20

La figura 5 muestra fotografías representativas de crecimiento del pelo en el día 22 en hámsteres: (a) grupo control, (b) tratado con testosterona, (c) tratado con crema de *Vernonia* 2% en p/p, B. No. 0629/10A,

9/6 93

(d) tratado con crema de *Vernonia* 0.2% en p/p, B. No. 0629/10C, (e) tratado con crema de *Vernonia* 0.2% en p/p, B. No. 0629/14A, y (f) tratado con crema de *Vernonia* 0.2% en p/p, B. No. 0629/14C.

5 La figura 6 muestra el perfil relativo de la puntuación para el crecimiento del pelo en hámsteres tratados con gel de extracto de *Vernonia* (0.5-2% en p/p) o gel de jugo deshidratado por congelación de *Vernonia* (1.25 y 2.5% en p/p) (n = 6-8).

10 La figura 7 muestra fotografías representativas de la distribución de crecimiento del pelo en hámsteres: (a) grupo control (día 0), (b) grupo control (día 22), (c) tratado con testosterona (día 0), (d) tratado con testosterona (día 22), (e) 2% en p/p, B. No. 0629/30C, (f) 1% en p/p, B. No. 0629/30B, (g) 0.5% en p/p, B. No. 0629/30A, (h) 2.5% en p/p, B. No. 0629/26B, y (i) 1.25% en p/p, B. No. 0629/26A.

15 En una modalidad, el vehículo útil en la presente invención se selecciona de, pero no está limitado a, un grupo que comprende monosacáridos, disacáridos, polisacáridos, alcoholes de azúcar, ácido poliláctico, ciclodextrina, lactosa, glucosa, rafinosa, melezitosa, xilitol, arabinosa, dextrán, lactitol, maltitol, trehalosa, sucrosa, manitol y almidón, y similares, o mezclas de los mismos.

20 En otra modalidad, la composición farmacéutica de la presente invención comprende además uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables seleccionados de, pero no limitados a, el grupo que comprende diluyentes, desintegradores, aglutinantes, antiadherentes, agentes de

deslizamiento, antioxidantes, agentes reguladores de pH, colorantes, agentes
saborizantes, agentes de recubrimiento, solventes, agentes viscosificantes,
ceras, agentes mojantes, agentes emulsionantes, solubilizadores,
estabilizadores, vehículos, conservadores, agentes tensoactivos,
5 desodorantes, colorantes, y similares.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención
pueden prepararse disolviendo o dispersando el extracto de *Vernonia sp.* en
bases/vehículos adecuados conocidos en la técnica. La composición
farmacéutica en diferentes formas de dosificación puede formularse usando
10 excipientes convencionales y técnicas conocidas en la materia. Formas de
dosificación farmacéutica de la presente invención pueden ser cremas,
ungüentos, geles, espumas, soluciones, suspensiones, almohadilla medicada,
polvo, aerosoles, rocíos, película y hojuelas. Las composiciones pueden
formularse como formas de dosificación de liberación inmediata o formas de
15 dosificación de liberación modificada (liberación sostenida, liberación
extendida, liberación retardada, liberación prolongada, liberación determinada,
liberación pulsátil, y similares), o combinaciones de dichas formas. Las
composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden el
extracto de la planta *Vernonia sp.* de aproximadamente 0.01% a
20 aproximadamente 99% en peso junto con uno o más vehículos, de
aproximadamente 1% a aproximadamente 99.99% en peso de la composición,
opcionalmente junto con uno o más excipientes.

La composición en crema que comprende el extracto de la planta

9895

Vernonia sp. se prepara emulsionando la fase acuosa, que comprende aproximadamente 0.1-10% en p/p, de preferencia aproximadamente 0.2-5% en p/p del extracto, junto con una fase oleaginosa adecuada. Otras alternativas pueden prepararse formulando el extracto en aproximadamente

5 0.1-10% en p/p como ungüento hidrofílico USP con bases de absorción; o bases solubles en agua tales como ungüento de polietilenglicol USNF; o como bases absorbentes de agua tales como petrolato hidrofílico USP, lanolina USP; o en bases de hidrocarburo tales como petrolato blanco USP. Otras bases hidrofóbicas o hidrofílicas que son útiles incluyen manteca de cacao,

10 gelatina glicerizada, aceites vegetales hidrogenados, mezclas de polietilenglicoles de varios pesos moleculares, ésteres de ácido graso de polioxietileno sorbitán y estearatos de polietileno, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, poliacrilamida, almidón químicamente modificado, o una combinación de estos materiales. En otra modalidad, la base de hidrocarburo

15 comprende parafinas, ceras, jalea de petróleo, lanolina, y similares, o mezclas de los mismos. La base de rocío y/o espuma comprende uno o más solventes acuosos y no acuosos, propelentes, agentes tensoactivos, agentes de suspensión y agentes de estabilización. Las almohadillas medicadas comprenden uno o más de los siguientes: agua, glicerina, propilenglicol,

20 alcohol, hamamelis, y similares.

En otra modalidad, las composiciones de la presente invención comprenden además emulsiones hidratantes higroscópicas (humectantes), tales como alcoholes polihídricos, 2-pirrolidin-5-carboxilato de sodio (NaPCA),

aminoácidos y sus derivados, guanidina; ácido glicólico y sales de glicolato (por ejemplo, amonio y alquilamonio cuaternario); ácido láctico y sales de lactato (por ejemplo, amonio y alquilamonio cuaternario); otros alfa hidroxácidos tales como ácido málico, *Aloe vera* en cualquiera de su variedad

5 de formas (por ejemplo, gel de *Aloe vera*); ácido hialurónico, precursores y derivados del mismo (por ejemplo, glucosamina y derivados de sales tales como hialuronato de sodio); lactamida, monoetanolamina; acetamida monoetanolamina; urea; y mezclas de los mismos. Emulsiones hidratantes oclusivas preferidas para su uso en la presente son petrolato, isohexadecano,

10 isononanoato de isononilo, isoestearato de metilo, isoestearato de isopropilo, y mezclas de los mismos. De conformidad con una modalidad, los agentes gelificantes o agentes que forman geles útiles en la presente invención, que posean propiedades mecánicas, fisiológicas y de liberación adecuadas, son de preferencia polisacáridos, tales como alginatos, pectinas, carrageninas o

15 xantano, almidón y derivados de almidón, gomas tales como tragacanto o goma de xantano, colágena, gelatina, galactomanano y derivados de galactomanano, quitosán y derivados de quitosán, glucoproteínas, proteoglucanos, glucosaminoglucanos, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, copolímeros de vinilpirrolidona/acetato de vinilo, polietilenglicoles de alto peso

20 molecular y/o polipropilenglicoles de alto peso molecular, copolímeros de polioxi-etileno/polioxi-propileno, alcohol polivinílico, poliacrilatos y/o polimetacrilatos, polilactidas, poliglicolidas y poliaminoácidos, y derivados de celulosa. Agentes que forman geles especialmente preferidos, se seleccionan

100
97

de derivados de celulosa, especialmente compuestos de éter de celulosa, tales como metilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, etil celulosa, ftalato-acetato de celulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, succinato-acetato de
5 celulosa y succinato de etil celulosa. El vehículo puede contener uno o más excipientes adicionales, tales como azúcares, alcoholes de azúcar, agentes tensoactivos, aminoácidos, antioxidantes, polietilenglicoles, y similares.

En una modalidad, el vehículo puede ser un aceite vegetal o un aceite mineral, o una combinación de ambos. En una modalidad, el aceite
10 vegetal útil en la presente invención se selecciona de, pero no está limitado a, un grupo que comprende aceite de girasol, aceite de soya, aceite de linaza, aceite de semilla de algodón, aceite de oliva, aceite de palma, aceite de coco, aceite de ajonjolí, aceite de cártamo, y similares, o mezclas de los mismos. Pueden añadirse a la preparación sustancias adicionales tales como
15 yohimbina (antagonista del receptor alfa-2-adrenérgico competitivo selectivo para vasodilatación local), aceite de clavo (estimulante leve y anestésico local), arginina (intensificador de la circulación sanguínea capilar), y similares, o mezclas de los mismos.

Otros vehículos aceptables útiles en la formulación de las
20 composiciones de la presente invención, son de preferencia lubricantes tales como carboximetilcelulosa, alginato de sodio, EDTA, aceites vegetales naturales, propilenglicol, glicerina, triglicérido de baja temperatura de fusión, aceite mineral, soluciones acuosas de óxidos de polietileno de alto peso

molecular, y similares, o mezclas de los mismos. Polímeros tales como derivados de celulosa solubles en agua (por ejemplo, metilcelulosa, hidroxiethylcelulosa, hidroxipropilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio) u otros polímeros solubles en agua tales como alginato de sodio, polivinilpirrolidona, alcohol polivinílico o polímero de óxido de etileno, y similares, pueden usarse en la presente invención. Otras sustancias opcionales que pueden usarse en la presente invención incluyen antiinfecciosos tales como parabenos, clorhexidina, alcohol bencílico, y similares.

Además, los excipientes convencionales adecuados útiles en las composiciones de la presente invención se seleccionan de, pero no están limitados a, un grupo de excipientes conocidos generalmente por los expertos en la técnica, tales como llenadores, aglutinantes, lubricantes, colorantes; estabilizadores; conservadores; agentes quelantes; vehículos; agentes de abultamiento; polímeros hidrofílicos; agentes intensificadores de solubilidad tales como glicerina, varios grados de óxidos de polietileno, transcitol y glucofurool; agentes para el ajuste de tonicidad; anestésicos locales; agentes para el ajuste del pH; antioxidantes; agentes osmóticos; agentes quelantes; agentes viscosificantes; agentes mojantes; agentes emulsionantes; ácidos; alcohol de azúcar; azúcares reductores; azúcares no reductores, y similares, usados ya sea solos o en combinación de los mismos, por ejemplo, diluyentes tales como lactosa, manitol, sorbitol, almidón, celulosa microcristalina, xilitol, fructosa, sacarosa, dextrosa, fosfato dicálcico, sulfato de calcio; agente de abultamiento y ácidos orgánicos. Los lubricantes usados en la presente

99
[Handwritten signature]

invención incluyen, pero no están limitados a, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio, ácido esteárico, aceite vegetal hidrogenado, y similares, usados ya sea solos o en combinación de los mismos. Los vehículos adecuados para su uso en la presente invención pueden seleccionarse de,

5 pero no están limitados a, un grupo que comprende dimetilacetamida, dimetilformamida y sulfóxido de dimetilo de N-metilpirrolidona, benzoato de bencilo, alcohol bencílico, oleato de etilo, aceites de ricino glicolados de polioxietileno (Cremophor® EL), polietilenglicol de peso molecular 200 a 6000, propilenglicol, hexilenglicoles, butilenglicoles y derivados de glicol, tales como

10 hidroxiestearato de polietilenglicol 660 (disponible comercialmente como Solutrol® HS15). En otra modalidad de la presente invención, las composiciones pueden comprender además un conservador antimicrobiano tal como alcohol bencílico, de preferencia a una concentración de aproximadamente 2.0% en v/v de la composición. En una modalidad de la

15 presente invención, la composición puede comprender además un antioxidante convencionalmente conocido tal como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, galato de propilo y α -tocoferol. En otra modalidad, adicionalmente se usan en la composición agentes tensoactivos que incluyen agentes tensoactivos iónicos y no iónicos, ésteres

20 de sorbitán tales como trioleato de sorbitán, monooleato de sorbitán, monolaurato de sorbitán, ésteres de polioxietileno sorbitán tales como monolaurato de polioxietileno sorbitán, monooleato de polioxietileno sorbitán, poloxámero, agentes tensoactivos fluorados y no fluorados, ácidos

100
102

carboxílicos, polietoxilatos, lecitina natural, éter oleílico de polioxietileno, éter estearílico de polioxietileno, éter laurílico de polioxietileno, copolímeros de bloque de oxietileno y oxipropileno, lecitina sintética, dioleato de dietilenglicol, oleato de tetrahidrofurfurilo, oleato de etilo, monooleato de glicerilo, 5 polietilenglicol 400 y monolaurato de glicerilo, y similares, o mezclas de los mismos. Las composiciones tópicas de la presente invención pueden comprender una amplia variedad de otros componentes opcionales, siempre que dichos componentes opcionales sean físicamente y químicamente compatibles con los componentes esenciales descritos en la presente, y no 10 deterioren indebidamente la estabilidad, eficacia u otros beneficios de uso asociados con las composiciones de la presente invención.

Las composiciones de la presente invención y el método para tratar trastornos del cabello u otros trastornos asociados usando un extracto de *Vernonia sp.*, proveen eficacia a largo plazo, alto índice de regeneración 15 del cabello y/o bajos índices de pérdida del cabello. El tratamiento incluye la administración de una cantidad efectiva de composición que comprenda un extracto de *Vernonia sp.* y uno o más vehículos, de preferencia como una aplicación local en el sitio de acción deseado.

En una modalidad de la presente invención, se prepara aerosol 20 para rocío tópico que comprenda el extracto de *Vernonia sp.* como agentes activos, de preferencia en la forma micronizada junto con un vehículo adecuado o un sistema de propelente dispensado de preferencia en contenedores de aluminio sellados con válvulas dosificadoras por medio de la

104

técnica de llenado a presión. Dispersiones nebulizables o soluciones para atomización se preparan dispersando los agentes activos homogéneamente en un sistema de solvente hidroalcohólico tal como una mezcla de etanol-agua purificada. Suspensiones para aplicación local se preparan mojando los
5 agentes activos con un agente mojante tal como agente tensoactivo, seguido de la adición de opcionalmente otros excipientes, vertiendo el volumen en contenedores estériles, por ejemplo, contenedores de dosis unitaria tales como contenedores que sean adecuadamente moldeados a partir de termoplásticos.

10 Los ejemplos dados a continuación, sirven para ilustrar modalidades de la presente invención. Sin embargo, no se pretende que limiten en alcance de la presente invención.

EJEMPLOS

15

EJEMPLO 1

La preparación de un extracto para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello de la planta *Vernonia*
20 *sp.*, comprende los siguientes pasos:

1. 2 kg de planta deshidratada y pulverizada se añaden a 5 L de clorofórmico en un matraz.

2. La mezcla se hierve bajo un condensador de reflujo por 1

hora.

3. La mezcla se enfría y se filtra. El filtrado se deja a un lado.
4. Se repiten los pasos 1 a 3 con el residuo tres veces más.
5. Los filtrados agrupados se destilan para remover hexano.

5

EJEMPLO 2

La preparación de un extracto para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello de la planta *Vernonia* sp., comprende los siguientes pasos:

10

1. 1 kg de hojas deshidratadas y pulverizadas se añaden a 6 L de hexano en un matraz.

2. La mezcla se hierve bajo un condensador de reflujo por 1 hora.

15

3. La mezcla se enfría y se filtra. El filtrado se deja a un lado.

4. Se repiten los pasos 1 a 3 con el residuo tres veces más.

5. Los filtrados agrupados se destilan para remover hexano.

6. El extracto de hexano se agita con 500 ml de etanol a 95% por 30 minutos.

20

7. La mezcla etanólica se filtra. El filtrado se deja a un lado.

8. Se repiten los pasos 6 y 7 con el residuo.

9. Los extractos etanólicos agrupados se destilan para remover etanol.

10/05

EJEMPLO 3

La preparación de un extracto para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello de la planta *Vernonia* sp., comprende los siguientes pasos:

1. 2 kg de planta deshidratada y pulverizada se añaden a 5 L de agua.
2. La mezcla se hierve bajo un condensador de reflujo por 1 hora.
3. La mezcla se enfría y se filtra. El filtrado se deja a un lado.
4. Se repiten los pasos 1 a 3 con el residuo una vez más.
5. Los filtrados agrupados se concentran y se secan por aspersion.

EJEMPLO 4

La preparación de un extracto para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello de la planta *Vernonia* sp., comprende los siguientes pasos:

1. 2 kg de planta deshidratada y pulverizada se añaden a 10 L de etanol.
2. La mezcla se hierve bajo un condensador de reflujo por 1 hora.

10/104

3. La mezcla se enfría y se filtra. El filtrado se deja a un lado.
4. Se repiten los pasos 1 a 3 con el residuo por tres veces más.
5. Los filtrados agrupados se concentran y se secan en una secadora de vacío agitada.

5

EJEMPLO 5

La preparación de un extracto para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello de la planta *Vernonia* sp., comprende los siguientes pasos:

10

1. 5 kg de planta fresca se trituran en un mezclador/molino con la adición de 1 L de agua.

2. El jugo de la mezcla se expresa y se filtra.

3. El filtrado se deshidrata por congelación.

15

En los ejemplos indicados a continuación que describen la composición que comprende el extracto novedoso para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello de la presente invención, la cantidad indicada puede hacerse variar con base en el efecto preventivo o de mejoramiento o terapéutico deseado y el tipo de composición.

20

108 105

EJEMPLO 6

Crema de Vernonia

Sujeto número	Ingrediente	% en p/p	
		0629/010A	0629/010C
5	1. Extracto de <i>Vernonia anthelmintica</i>	2.0	0.2
	2. Carbómero 940	0.6	0.6
	3. Agua purificada	62.1	63.9
	4. Transcutol® (éter monoetilico de dietilenglicol)	20.00	20.00
	5. Etanol	10.00	10.00
	6. Mentol	0.30	0.30
	7. Propilenglicol	5.00	5.00
	8. Trietanolamina	c.s.	c.s.

10

Procedimiento:

i) Dispersar carbómero 940 en agua purificada y agitar hasta que se disuelva por completo.

15 ii) Disolver mentol en mezcla de etanol y Transcutol®. Añadir propilenglicol y extracto de *Vernonia anthelmintica* en la misma, y mezclar.

iii) Añadir el volumen del paso (ii) en el volumen del paso (i), y mezclar.

iv) Añadir gota a gota trietanolamina en el volumen del paso (iii) hasta que el pH esté en la escala de 5.5 a 7.0 y se obtenga un gel semisólido.

20

106
109

EJEMPLO 7

Crema de Vernonia

Sujeto número	Ingrediente	% en p/p	
		0629/014A	0629/014C
5	1. Extracto de <i>Vernonia anthelmintica</i>	2.0	0.20
	2. Carbómero 940	0.60	0.60
	3. Agua purificada	56.35	58.15
	4. Transcutol® (éter monoetílico de dietilenglicol)	20.00	20.00
	5. Etanol	10.00	10.00
	6. Mentol	0.30	0.30
	7. Perfume	c.s.	c.s.
	8. Trietanolamina	c.s.	c.s.
	9. Acido oleico	5.50	5.50
10	10. Eter estearílico de polioxietileno (2) (Brij® 72)	1.00	1.00
	11. Alcohol cetílico	0.75	0.75
	12. Acetato de vitamina E	0.50	0.50
	13. Miristato de isopropilo	3.00	3.00

Procedimiento:

- 15 i) Dispersar carbómero 940 en agua purificada, y agitar hasta que se disuelva por completo.
- ii) Disolver mentol en mezcla de etanol y Transcutol®.
- iii) Añadir el volumen del paso (ii) en el volumen del paso (i), y mezclar.
- 20 iv) En un vaso de precipitado separado, añadir ácido oleico, Brij® 72, alcohol cetílico, acetato de vitamina E y extracto de *Vernonia anthelmintica*, y mezclar.
- v) Calentar el volumen del paso (iii) y (iv) por separado a 60 a

70°C

vi) Añadir la fase oleosa del paso (iv) en la fase acuosa del paso (iii) con agitación constante.

vii) Añadir gota a gota trietanolamina en el volumen del paso (vi) hasta que el pH esté en la escala de 6.0 a 7.0 y se obtenga una crema semisólida.

viii) Añadir perfume a la crema semisólida, y mezclar hasta obtener el producto deseado.

10

EJEMPLO 8

Gel de jugo deshidratado por congelación de Vernonia

15

Sujeto número	Ingrediente	% en p/p	
		0629/026A	0629/026B
1.	Polvo deshidratado por congelación de extracto de Vernonia anthelmintica	1.25	2.50
	2. Carbómero 940	1.50	1.50
	3. Agua purificada	61.95	60.70
	4. Transcutol® (éter monoetilico de dietilenglicol)	20.00	20.00
	5. Etanol	10.00	10.00
	6. Mentol	0.30	0.30
	7. Propilenglicol	5.00	5.00
	8. Perfume	c.s.	c.s.
	9. Trietanolamina	c.s.	c.s.

20

Procedimiento:

i) Dispersar carbómero 940 en agua purificada, y agitar hasta que se disuelva por completo.

ii) Disolver polvo de extracto de *Vernonia anthelmintica* en una parte de agua purificada, y añadirlo al volumen del paso (i).

iii) Disolver mentol en mezcla de etanol y Transcutol®. Añadir propilenglicol en la misma, y mezclar.

5 iv) Añadir el volumen del paso (iii) en el volumen del paso (ii), y mezclar.

v) Añadir gota a gota trietanolamina en el volumen del paso (iv) hasta que el pH esté en la escala de 5.5 a 7.0 y se obtenga un gel semisólido.

vi) Añadir perfume al gel semisólido, y mezclar.

10

EJEMPLO 9

Gel de extracto de *Vernonia*

Sujeto número	Ingrediente	% en p/p		
		0629/030A	0629/030B	0629/030C
15	1. Extracto de <i>Vernonia anthelmintica</i>	0.5	1.0	2.0
	2. Carbómero 940	0.75	0.75	0.75
	3. Agua purificada	63.45	62.95	61.95
	4. Transcutol® (éter monoetílico de dietilenglicol)	20.00	20.00	20.00
	5. Etanol	10.00	10.00	10.00
	6. Mentol	0.30	0.30	0.30
	7. Propilenglicol	5.00	5.00	5.00
	8. Perfume	c.s.	c.s.	c.s.
	9. Trietanolamina	c.s.	c.s.	c.s.
20				

Procedimiento:

i) Dispersar carbómero 940 en agua purificada, y agitar hasta

HA109

que se disuelva por completo.

ii) Disolver mentol en mezcla de etanol y Transcutol®. Añadir propilenglicol y extracto de *Vernonia anthelmintica* en la misma, y mezclar.

5 iii) Añadir el volumen del paso (ii) en el volumen del paso (i), y mezclar.

iv) Añadir gota a gota trietanolamina en el volumen del paso (iii) hasta que el pH esté en la escala de 5.5 a 7.0 y se obtenga un gel semisólido.

v) Añadir perfume al gel semisólido, y mezclar.

10

EJEMPLO 10

Crema de Vernonia

15

Sujeto número	Ingrediente	% en p/p
1.	Extracto de <i>Vernonia cinerea</i>	1.00
2.	Parafina líquida ligera	8.00
3.	Cera de abejas blanca	1.75
4.	Jalea de petróleo blanca	3.25
5.	Monoestearato de glicerilo	3.50
6.	Acido esteárico	1.00
7.	Tween® 80	1.00
8.	Glicerina	5.00
9.	Propilenglicol	5.00
10.	Agua purificada	71.50
11.	Perfume	c.s.

20

Procedimiento:

i) Mezclar extracto de *Vernonia cinerea*, parafina líquida ligera, cera de abejas blanca, jalea de petróleo blanca, monoestearato de glicerilo y

110
H7

ácido esteárico, y calentar hasta 60 a 70°C.

ii) Mezclar Tween 80, glicerina, propilenglicol y agua purificada, y calentar a 60 a 70°C.

5 iii) Añadir el volumen del paso (i) en el volumen del paso (ii) con agitación constante, y dejar que se enfríe.

iv) Añadir perfume y mezclar.

EJEMPLO 11

Crema de Vernonia

10	Sujeto número	Ingrediente	% en p/p
	1.	Extracto de <i>Vernonia tomentosa</i>	2.00
	2.	Parafina líquida ligera	8.00
	3.	Cera de abejas blanca	1.75
	4.	Jalea de petróleo blanca	3.25
	5.	Tween® 80	1.00
	6.	Glicerina	5.00
	7.	Propilenglicol	5.00
15	8.	Carboximetilcelulosa de sodio (CMC de sodio (solución a 5%))	74.00

Procedimiento:

20 i) Mezclar extracto de *Vernonia tomentosa*, parafina líquida ligera, cera de abejas blanca y jalea de petróleo blanca, y calentar hasta 60 a 70°C.

ii) Mezclar Tween® 80, glicerina, propilenglicol y solución de CMC de sodio, y calentar hasta 60 a 70°C.

11/11

iii) Añadir el volumen del paso (i) en el volumen del paso (ii) con agitación constante, y dejar que se enfríe hasta obtener el producto deseado.

EJEMPLO 12

5

Crema

Sujeto número	Ingrediente	mg/gm
10	9. Extracto de <i>Vernonia latifolia</i>	1.00
	10. Extracto de <i>Aloe barbadensis</i>	0.50
	11. Propilenglicol	50.00
	12. Dióxido de titanio	10.00
	13. Acido esteárico	130.00
	14. Alcohol cetílico	10.00
	15. Miristato de isopropilo	60.00
	16. Estearato de sorbitán	20.00
	17. Metilparabeno	1.50
	18. Propilparabeno	0.30
15	19. Aceite de maíz	50.00
	20. Glicerina	50.00
	21. Solución de sorbitol	30.00
	22. Veegum HV	10.00
	23. Carboximetilcelulosa de sodio (CMC de sodio)	3.00
	24. Tween® 80	15.00
	25. Agua purificada	c.s.

Procedimiento:

i) Se dispersan extracto de *Vernonia latifolia*, extracto de *Aloe barbadensis*, metilparabeno y propilparabeno en propilenglicol; la mezcla se calienta a 55 a 60°C; se añade dióxido de titanio a la misma, y se agita bien.

ii) Se calientan ácido esteárico, alcohol cetílico, miristato de isopropilo, estearato de sorbitán y aceite de maíz a 70 a 75°C.

112

80. iii) En otro recipiente, se toman solución de sorbitol y Tween®
- iv) Se hidrata por separado Veegum HV en el agua purificada.
- v) Se hidrata por separado carboximetilcelulosa de sodio (CMC
- 5 de sodio) en glicerina.
- vi) El material del paso (iv) y el paso (v) se añade al material del
- paso (iii), y se calienta a 70 a 75°C.
- vii) El material del paso (ii) y el paso (vi) se mezcla y se enfría.
- viii) Cuando el material del paso (vii) alcanza una temperatura de
- 10 50 a 55°C, el material del paso (i) se añade al mismo.
- ix) Se deja que la mezcla del paso (vii) se enfríe a temperatura
- ambiente hasta obtener la crema.

EJEMPLO 13

Crema

15

20

Sujeto número	Ingrediente	mg/g
1.	Extracto de <i>Vernonia anthelmintica</i>	0.50
2.	Extracto de <i>Serenoa repens</i>	0.30
3.	Propilenglicol	50.00
4.	Dióxido de titanio	10.00
5.	Monoestearato de glicerilo	90.00
6.	Lanolina hidrogenada	30.00
7.	Aceite de maíz	40.00
8.	Simeticona	1.50
9.	Span® 60	20.00
10.	Hidroxietilcelulosa	20.00
11.	Glicerina	50.00

113

EJEMPLO 13 (CONTINUACION)

	Sujeto número	Ingrediente	mg/g
	12.	Sorbitol	30.00
	13.	Carboximetilcelulosa de sodio (CMC de sodio)	1.50
5	14.	Propilparabeno	0.30
	15.	Metilparabeno	1.50
	16.	Tween® 80	15.00
	17.	Agua purificada	c.s.

Procedimiento:

i) Se dispersan extracto de *Vernonia anthelmintica*, extracto de
10 *Serenoa repens*, metilparabeno y propilparabeno en propilenglicol; se añade
dióxido de titanio a los mismos, y se agitan bien.

ii) Se toman monoestearato de glicerilo, lanolina hidrogenada,
aceite de maíz, simeticona y Span® 60.

iii) En agua purificada fría, se disuelve hidroxietilcelulosa; se
15 añade a la misma sorbitol y Tween® 80, y la mezcla se calienta a 70 a 75°C.

iv) Por separado se dispersa carboximetilcelulosa de sodio (CMC
de sodio) en glicerina, y se añade al material del paso (iii).

v) El material del paso (ii) se añade al material del paso (iv), y se
deja que se enfrien con agitación.

20 vi) Cuando se alcanza una temperatura de 50 a 55°C, el material
del paso (i) se añade, se agita y se deja que se enfríe a temperatura ambiente
hasta obtener la crema.

119

EJEMPLO 14

Crema

Sujeto número	Ingrediente	Cantidad (mg/g)
5	1. Extracto de <i>Vernonia anthelmintica</i>	0.01
	2. Parafina blanda	350.00
	3. Parafina líquida	80.00
	4. Monooleato de sorbitán	50.00
	5. Acido cítrico	1.00
	6. Citrato de sodio	2.00
	7. Agua purificada	c.s. a 1 g
10	<u>Procedimiento:</u>	
	i) Se mezclan parafina blanda, parafina líquida y monooleato de sorbitán a aproximadamente 45°C por agitación continua, hasta obtener una dispersión homogénea.	
	ii) Se añade extracto de <i>Vernonia anthelmintica</i> a la dispersión	
15	del paso (i) con agitación.	
	iii) Se disuelven ácido cítrico y citrato de sodio en una parte de agua purificada hasta obtener una solución.	
	iv) Se añade el material del paso (iii) al paso (ii) con agitación continua a aproximadamente 45°C, seguida de la adición de la parte restante	
20	de agua purificada y agitando.	
	v) Se enfria el material del paso (iv) a temperatura ambiente hasta obtener el producto deseado.	

17/15

EJEMPLO 15

Gel

Sujeto número	Ingrediente	Cantidad (g/100 g)
5	1. Extracto de <i>Vernonia sp.</i>	0.05
	2. Dimetilacetamida	10.00
	3. Alcohol etílico	20.00
	4. Acetona	5.00
	5. Cremophor® RH40	1.00
	6. Propilenglicol	20.00
	7. Carbopol 934	1.20
	8. Agua purificada	20.00
	9. Dimetilamina	0.60

10

Procedimiento:

i) Se mezcla dimetilacetamida con alcohol etílico y acetona en un contenedor con agitación.

15 ii) A la mezcla obtenida, se añade extracto de *Vernonia sp.* y se agita.

iii) Se dispersan propilenglicol y Cremophor® RH40 en agua, y se mezclan en un homogenizador. A la mezcla obtenida se añade Carbopol 934 y se homogeniza.

20 iv) La mezcla obtenida en el paso (ii) se añade a la mezcla obtenida en el paso (iii) bajo agitación.

v) La mezcla obtenida se neutraliza por adición lenta de dietilamina con agitación lenta hasta producir el gel.

EJEMPLO 16

Dispersión nebulizable

Se dispersan homogéneamente extracto de *Vernonia sp.* 0.06 mg, corticosteroide 0.012 mg y propilenglicol 5.0 g en agua purificada 10.0 g. Dicha dispersión se vierte en un contenedor adecuado para atomización, tal como un nebulizador.

EJEMPLO 17

Solución para atomización

Se dispersan homogéneamente extracto de *Vernonia sp.* 0.05 mg y iminoxidil 0.05 mg en una mezcla de etanol-agua purificada (2.0 g y 6.0 g, respectivamente); dicha dispersión se vierte en un contenedor adecuado.

EJEMPLO 18

Ungüento

Sujeto número	Ingrediente	Cantidad (mg/g)
20	1. Extracto de <i>Vernonia anthelmintica</i>	0.05
	2. Extracto de <i>Ginkgo biloba</i>	0.05
	3. Lanolina	10.00
	4. Aceite de eucalipto	0.40
	5. Aceite de menta	0.10
	6. Parafina líquida	c.s. a 1 g

Procedimiento:

- i) Se añaden aceite de eucalipto y aceite de menta a una parte de parafina líquida, y se mezclan con agitación.
- ii) El material del paso (i) y lanolina se mezclan a 5 aproximadamente 45°C por agitación continua, hasta obtener una dispersión homogénea.
- iii) Se añaden extracto de *Vernonia anthelmintica* y extracto de *Ginkgo biloba* a la dispersión del paso (ii) con agitación continua.
- iv) El material del paso (iii) se enfría a temperatura ambiente 10 hasta obtener el producto deseado.

EJEMPLO 19

Aceite para el cabello

15	Sujeto número	Ingrediente	Cantidad (% en p/v)
	1.	Extracto de <i>Vernonia anthelmintica</i>	30.00
	2.	Extracto de <i>Aloe barbadensis</i>	3.00
	3.	Base de aceite vegetal	c.s.

Procedimiento:

- 20 i) Se preparan extracto de *Vernonia sp.* y extracto de *Aloe barbadensis*, y se mezclan con la base de aceite vegetal.
- ii) El material del paso (i) se vierte en un contenedor adecuado.

118
f2

65

EJEMPLO 20

Champú

	Sujeto número	Ingrediente	Cantidad (% en p/v)
5	1.	Extracto de <i>Vernonia sp.</i>	20.00
	2.	Ketoconazol	2.00
	3.	Base de champú	c.s.

Procedimiento:

- i) Se mezclan extracto de *Vernonia sp.* y ketoconazol.
- 10 ii) El material del paso (i) se incorpora en una base de champú.

EJEMPLO 21

Tableta

	Sujeto número	Ingrediente	mg/tableta
15	1.	Extracto de <i>Vernonia sp.</i>	50.0
	2.	Celulosa microcristalina	100.0
	3.	Manitol	80.0
	4.	Croscarmelosa de sodio	10.0
	5.	Lactosa	60.0
	6.	Talco	4.0
	7.	Dióxido de silicio coloidal	10.0
	8.	Croscarmelosa de sodio	10.0

20

Procedimiento:

- i) Se tamizan extracto de *Vernonia sp.*, celulosa microcristalina, manitol, croscarmelosa de sodio y lactosa, y se mezclan.

122¹¹⁹

ii) El material del paso (i) se compacta.

iii) Los materiales compactos del paso (ii) se hacen pasar a través del tamiz y se mezclan.

iv) Se hacen pasar talco, dióxido de silicio coloidal y croscarmelosa de sodio a través de un tamiz fino, y se mezclan.

v) El material del paso (iii) se mezcla con el material del paso (iv).

vi) El material del paso (v) se comprime en tabletas a un peso promedio de 400 mg $\pm$ 2%.

vii) Las tabletas se empaquen en empaques herméticos.

EJEMPLO 22

Cápsula

Sujeto número	Ingrediente	mg/cápsula
15	1. Extracto de <i>Vernonia sp.</i>	25.0
	2. Celulosa microcristalina	150.0
	3. Manitol	65.0
	4. Lactosa	50.0
	5. Talco	3.0
	6. Almidón glicolato de sodio	17.0
	7. Dióxido de silicio coloidal	15.0

20

Procedimiento:

i) Se tamizan extracto de *Vernonia sp.*, celulosa microcristalina, lactosa y manitol, y se mezclan.

126121

NOVEDAD DE LA INVENCION

REIVINDICACIONES

- 5 1.- Una composición novedosa para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello, que comprende por lo menos uno o varios agentes derivados de una fuente natural o fuente sintética o fuente semisintética como el agente activo, ya sea solo o en combinación con otros agentes activos, y opcionalmente uno o más excipientes.
- 10 2.- La composición de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada además porque comprende un extracto obtenido de la planta *Vernonia sp.* como agente activo, ya sea solo o en combinación con otros agentes activos, y opcionalmente con uno o más excipientes.
- 3.- La composición de conformidad con la reivindicación 2,
- 15 caracterizada además porque el agente activo para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello es un extracto obtenido de la planta *Vernonia noveboracense*, *Vernonia praealta*, *Vernonia tomentosa*, *Vernonia anthelmintica*, *Vernonia amygdalina*, *Vernonia cinerea*, o mezclas del mismo.
- 20 4.- La composición de conformidad con la reivindicación 2, caracterizada además porque comprende un extracto obtenido de la planta *Vernonia anthelmintica*.
- 5.- La composición de conformidad con la reivindicación 1,

caracterizada además porque el extracto para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello comprende uno o más componentes seleccionados de un grupo que comprende fitosteroles, ácidos grasos o ésteres de ácidos grasos, carotenoides, o mezclas de los mismos.

5 6.- La composición de conformidad con la reivindicación 2, caracterizada además porque el agente activo comprende un extracto obtenido de la planta *Vernonia sp.* combinado con por lo menos algún otro extracto obtenido de una fuente natural seleccionada de un grupo que comprende *Aloe* (*Aloe barbadensis*), bardana (*Arctium minus*), pimienta
10 (*Capsicum annuum L.*), jengibre (*Zingiber officinale*), *Ginkgo* (*Ginkgo biloba*), té verde (*Camellia sinensis*), escaramujo (*Rosa canina*), lavanda (*Lavendula officinale*), milenrama (*Achillea millefolium*), ortigas (*Urtica dioica*), cebolla (*Allium cepa*), *Pygeum* (*Pygeum africanum*), Rattan jot (*Arnebia sp.*), pimienta rojo (*Capsicum annuum*), romero (*Rosmarinus officinalis*), aceite de cártamo
15 (*Carthamus tinctorius*), Saw Palmetto (*Serenoa repens*), y aceite del árbol del té (*Melaleuca alternifolia*), o mezclas de los mismos.

7.- La composición de conformidad con la reivindicación 2, caracterizada además porque el agente activo comprende un extracto obtenido de la planta *Vernonia sp.* combinado con por lo menos algún otro
20 fármaco alopático seleccionado de inhibidores de 5 α -DHT, superóxido dismutasas, miméticos, vasodilatadores, activadores de prostaglandina-H-sintasa-1 y abridores de los canales de potasio.

8.- La composición de conformidad con la reivindicación 2,

123
125

caracterizada además porque el agente activo comprende un extracto obtenido de la planta *Vernonia sp.* combinado con por lo menos algún otro fármaco alopático seleccionado de un grupo que comprende corticosteroides, diltanol, tretinoína, minoxidil, zinc, irritantes, finasterida, skinoren/ácido
5 azelaico, acetato de ciproterona con etinilestradiol, cimetidina, acetato de ciproterona, espironolactona, ketoconazol, antidepresivo, acetónido de triamcinolona, hidroxiclороquina, penicilina, o mezclas de los mismos.

9.- La composición de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada además porque los excipientes se seleccionan de un grupo que
10 comprende diluyentes, desintegradores, aglutinantes, antiadherentes, agentes de deslizamiento, antioxidantes, agentes reguladores de pH, colorantes, agentes saborizantes, agentes de recubrimiento, solventes, agentes osmóticos, agentes viscosificantes, ceras, agentes mojantes, agentes emulsionantes, solubilizadores, estabilizadores, agentes reguladores de pH,
15 agentes quelantes, vehículos, conservadores, agentes tensoactivos, desodorantes, colorantes, agentes de abultamiento, polímeros hidrofílicos, agentes para el ajuste de tonicidad, anestésicos locales, agentes para el ajuste del pH, ácidos, alcohol de azúcar, azúcares reductores y azúcares reductores, o mezclas de los mismos.

20 10.- La composición de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada además porque está en la forma de una preparación tópica seleccionada de un grupo que comprende líquido, crema, gel, loción o rocío.

11.- La composición de conformidad con las reivindicaciones 1 a

129
~~12~~

10, caracterizada además porque dicha composición es útil como una formulación farmacéutica o un cosmético o un producto ayurvédico.

12.- La composición de conformidad con las reivindicaciones 1 a 11, caracterizada además porque es útil en el manejo de alopecia androgénica inducida por testosterona.

13.- Un procedimiento para la preparación o extracción del agente para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello de una fuente natural para su uso como un agente activo de conformidad con la reivindicación 1 ó 2, caracterizado porque dicho procedimiento comprende los siguientes pasos: i) extracción de la planta o partes de la planta deshidratadas y pulverizadas con un solvente no polar, o mezclas del mismo, ii) destilación del extracto para remover el solvente, iii) opcionalmente, otra extracción del residuo con un solvente polar, o mezclas del mismo, iv) opcionalmente, destilación del extracto para remover el solvente para obtener el extracto deseado, de preferencia como un polvo.

14.- Un procedimiento para la preparación o extracción del agente para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello de una fuente natural para su uso como un agente activo de conformidad con la reivindicación 1 ó 2, caracterizado porque dicho procedimiento comprende los siguientes pasos: i) extracción de la planta o partes de la planta deshidratadas y pulverizadas con un solvente polar, o mezclas del mismo, ii) opcionalmente, destilación/concentración del extracto para remover/reducir el solvente, iii) opcionalmente, deshidratación del

125
H28

extracto para remover el solvente para obtener el extracto deseado, de preferencia como un polvo.

15.- Un procedimiento para la preparación o extracción del agente para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello de una fuente natural para su uso como un agente activo de conformidad con la reivindicación 1 ó 2, caracterizado porque dicho procedimiento comprende los siguientes pasos: i) expresión del jugo de la planta o partes de la planta frescas opcionalmente con la adición de un solvente polar, o mezcla del mismo, ii) filtración del jugo, iii) opcionalmente, destilación/concentración del extracto para remover/reducir el solvente, iv) opcionalmente, deshidratación del extracto para remover el solvente para obtener el extracto deseado, de preferencia como un polvo.

16.- Un procedimiento para la preparación de una composición de conformidad con la reivindicación 1 ó 2, caracterizado porque comprende los siguientes pasos: i) mezclar el agente activo para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello con uno o más excipientes, y ii) formular la mezcla en una forma de dosificación adecuada.

17.- Un método de uso de una composición de conformidad con la reivindicación 1 ó 2, que comprende administrar a un sujeto que necesita de la misma, una cantidad efectiva de la composición.

18.- El método de conformidad con la reivindicación 17, caracterizado además porque comprende el uso de una composición de la reivindicación 1 ó 2, en el manejo de uno o más trastornos del cabello

seleccionados de un grupo que comprende alopecia areata, alopecia androgénica, efluvio anágeno (pérdida del cabello por tratamiento de cáncer), pérdida del cabello autoinducida, efluvio telógeno, alopecia cicatrizante, alopecia sifilítica, esclerodermia y tiña del cuero cabelludo.

- 5 19.- El uso de una composición como se reclama en la reivindicación 1 ó 2, en el manejo de uno o más trastornos del cabello seleccionados de un grupo que comprende alopecia areata, alopecia androgénica, efluvio anágeno (pérdida del cabello por tratamiento de cáncer), pérdida del cabello autoinducida, efluvio telógeno, alopecia cicatrizante,
- 10 alopecia sifilítica, esclerodermia y tiña del cuero cabelludo.

20.- Una composición farmacéutica y el procedimiento para la preparación de la composición farmacéutica sustancialmente como se describe en la presente y se ilustra por medio de los ejemplos.

127
B6

RESUMEN DE LA INVENCION

Se proveen composiciones novedosas para la prevención de la pérdida del cabello y/o promoción del crecimiento del cabello que comprenden

5 por lo menos un agente activo derivado de preferencia de una fuente natural tal como de la planta *Vernonia sp.*, ya sea solo o en combinación con otros agentes activos, y opcionalmente uno o más excipientes; se describe también el procedimiento para la extracción del agente para la promoción del crecimiento del cabello y la preparación de composiciones que comprenden

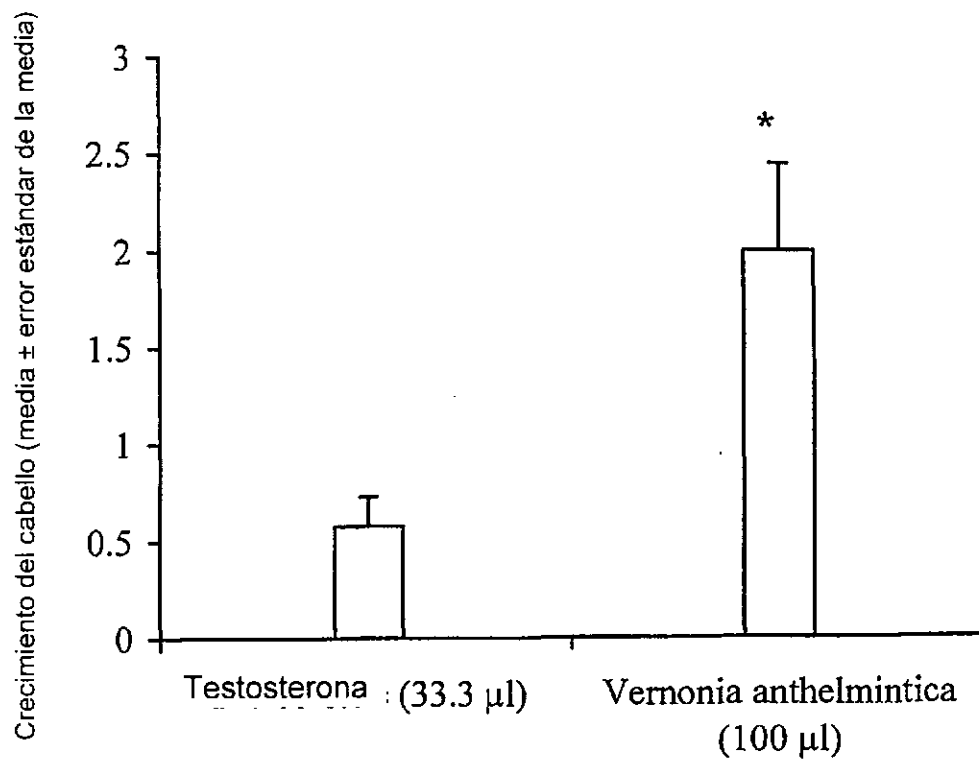
10 dicho agente activo; la composición novedosa está de preferencia en la forma de una preparación oral o tópica tal como tableta, cápsula, solución o suspensión líquida, crema, gel, loción o rocío, y es útil contra enfermedades/trastornos del cabello y/u otros trastornos asociados particularmente en el manejo de alopecia androgénica inducida por

15 testosterona.

20

18B

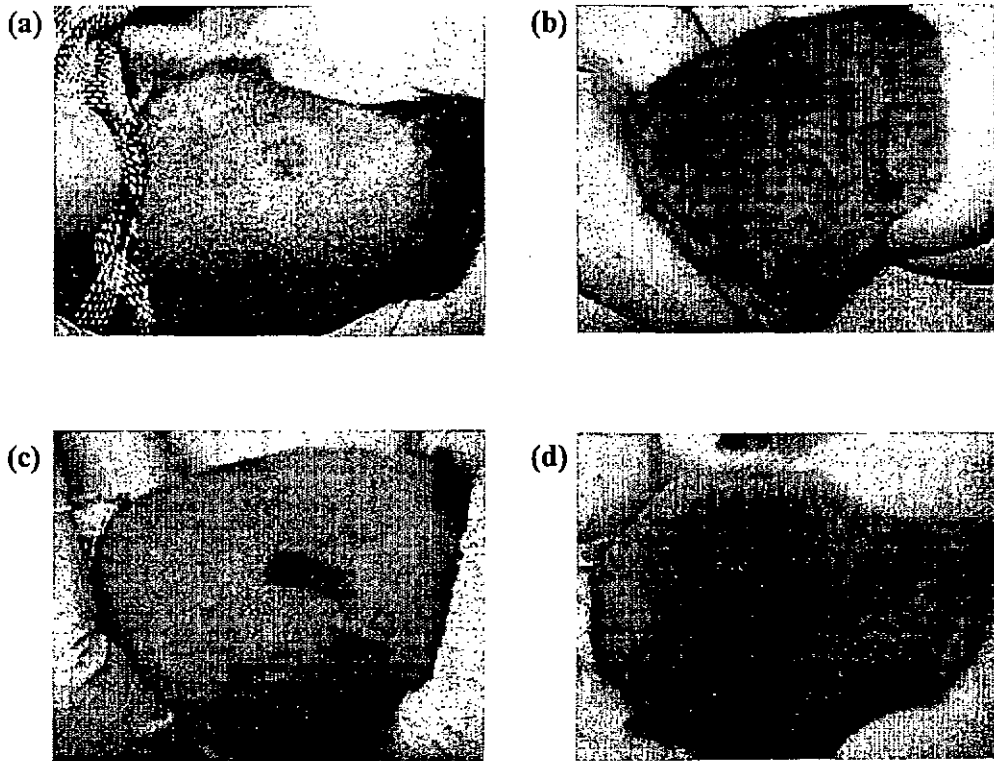
P08/1580F

FIGURASFIGURA 1:

* $P < 0.05$ en comparación con el grupo tratado con testosterona

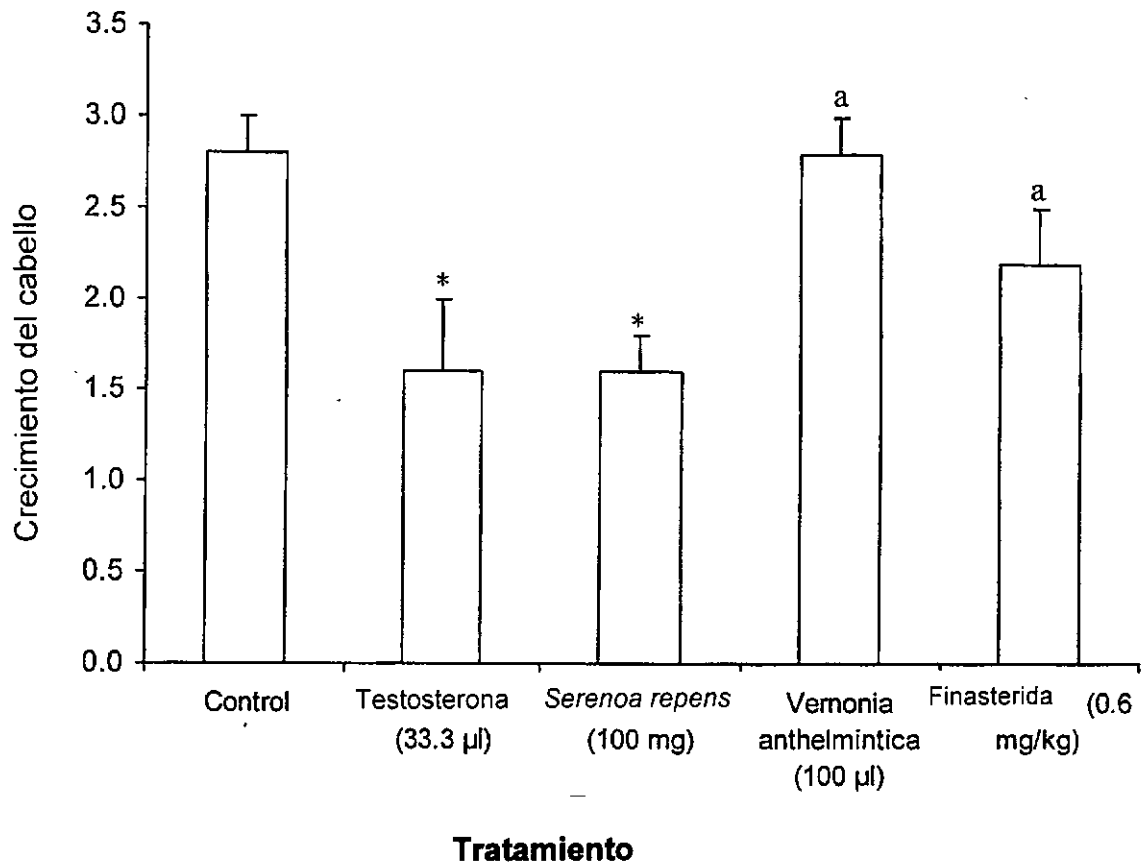
132129

FIGURA 2:



133/30

FIGURA 3:

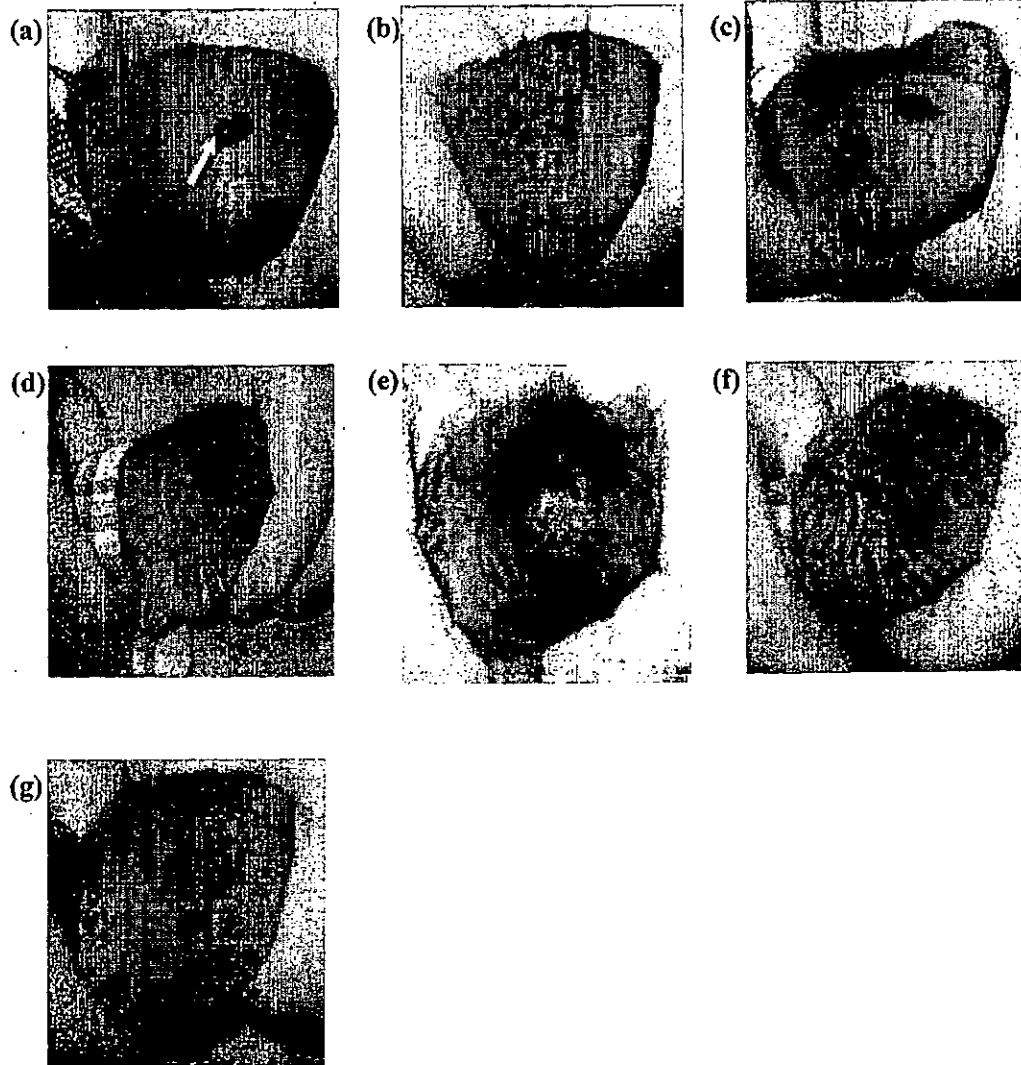


Datos presentados como media $\pm$ error estándar de la media (n=6/grupo)

*P<0.05 en comparación con el grupo control

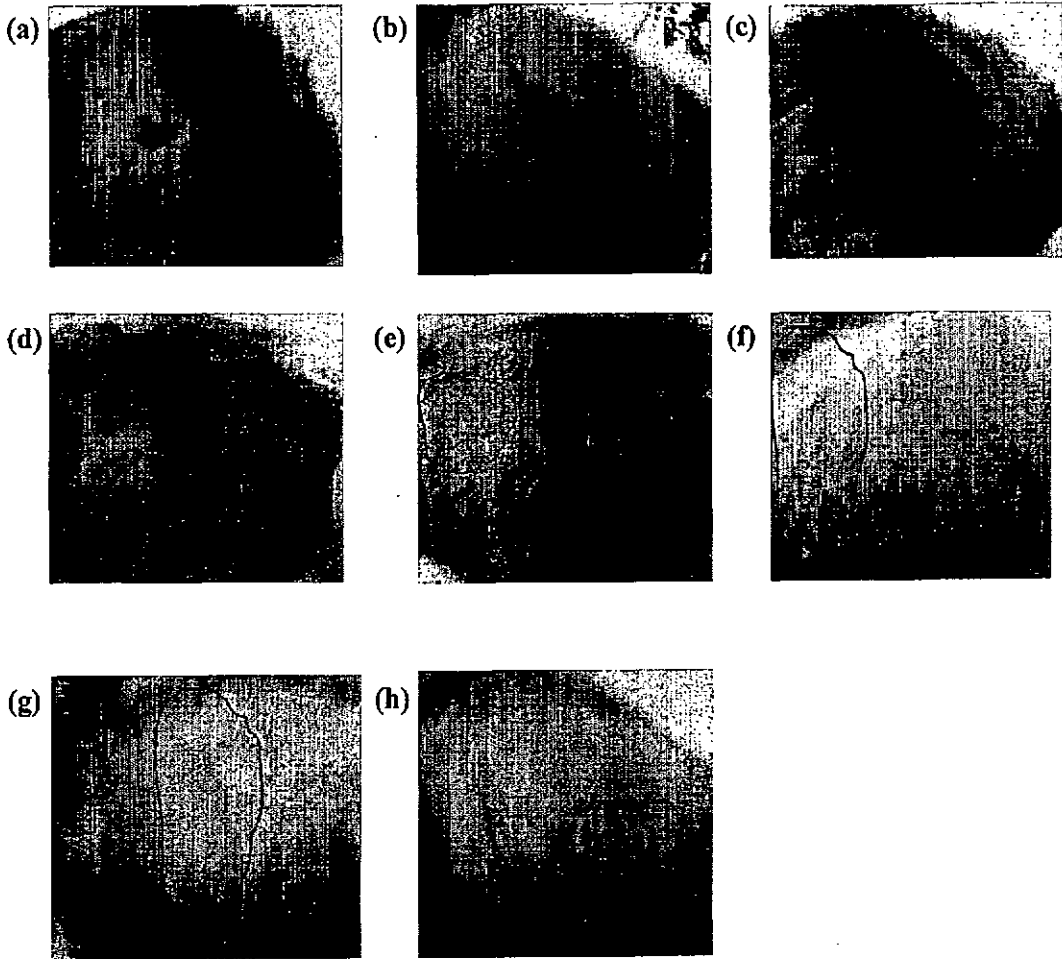
^aP<0.05 en comparación con el grupo tratado con testosterona

FIGURA 4:



La flecha en la figura 4(a) muestra el órgano del costado

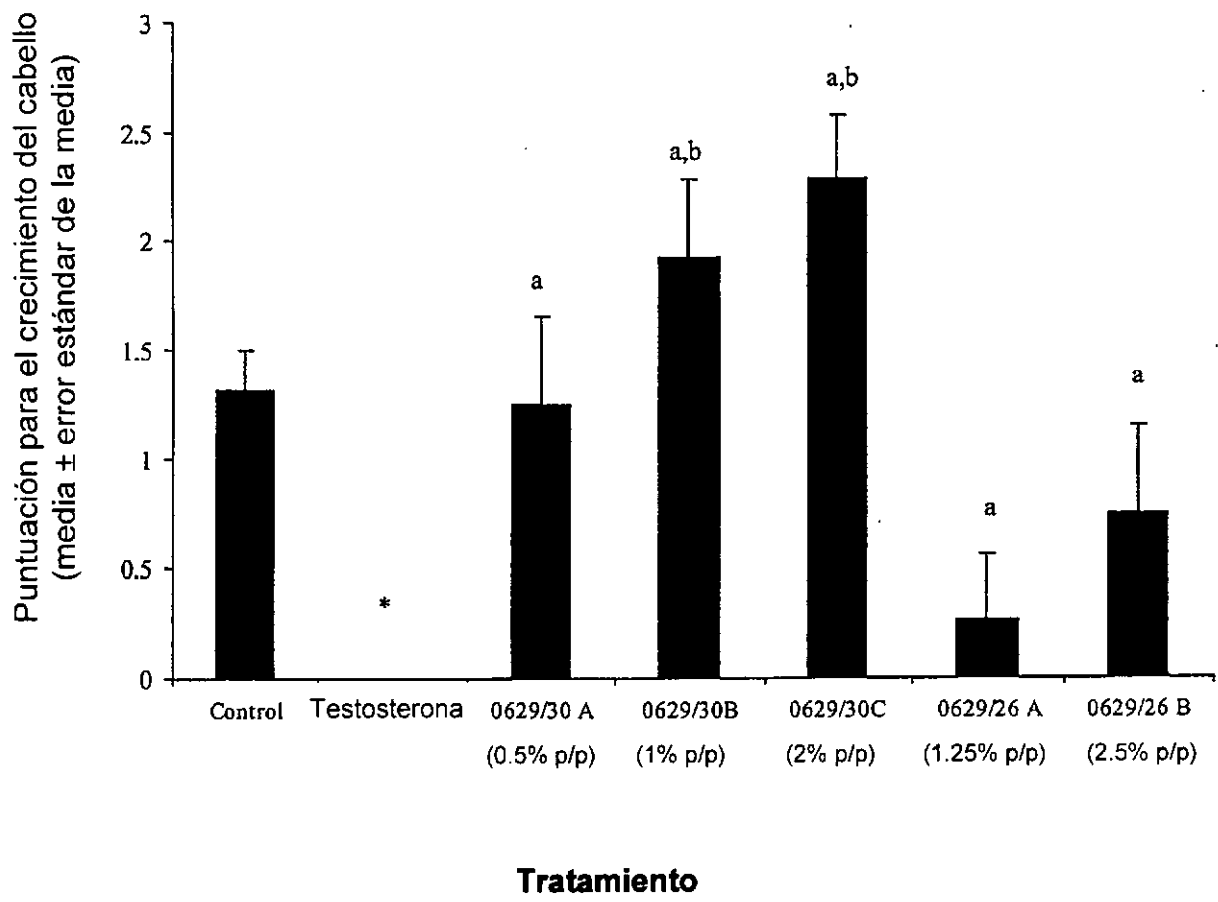
FIGURA 5:



[0] representa la formación de escamas después de la aplicación tópica
de crema o placebo

133
~~176~~

FIGURA 6:



*P<0.05 en comparación con el control

^aP<0.05 en comparación con el grupo de testosterona

^bP<0.05 en comparación con el grupo control

FIGURA 7:

(a) Control (día 0)



(b) Control (día 22)



(c) Testosterona (día 0)



(d) Testosterona (día 22)

(e) B.No. 0629/030C,
2% p/p (día 22)(f) B.No. 0629/030B,
p/p (día 22)(g) B.No. 0629/030A,
0.5% p/p (día 22)(h) B.No. 0629/026B,
2.5% p/p (día 22)(i) B.No. 0629/026A,
1.25% p/p (día 22)

[→] representa el área del órgano del costado alrededor del cual se calificó el crecimiento del cabello

The demand must be filed directly with the competent International Preliminary Examining Authority or, if two or more Authorities are competent, with the one chosen by the applicant. The full name or two-letter code of that Authority may be indicated by the applicant on the line below:

IPEA/ US

PCT

CHAPTER II

DEMAND

under Article 31 of the Patent Cooperation Treaty:

The undersigned requests that the international application specified below be the subject of international preliminary examination according to the Patent Cooperation Treaty.

For International Preliminary Examining Authority use only	
Identification of IPEA	Date of receipt of DEMAND
Box No. I IDENTIFICATION OF THE INTERNATIONAL APPLICATION	
Applicant's or agent's file reference IN/PA-315	
International application No. PCT/IN2007/00111	International filing date (day/month/year) 19 March 2007 (19/03/2007)
(Earliest) Priority date (day/month/year) 31/03/2006	
Title of invention NOVEL COMPOSITIONS FOR HAIR DISORDERS AND PROCESS OF PREPARATION THEREOF	
Box No. II APPLICANT(S)	
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)	
Panacea Biotec Ltd., B-1 Extn./A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi-110 044-INDIA	
Telephone No. +91-11-41679076	
Facsimile No. +91-11-41679068	
Teleprinter No.	
Applicant's registration No. with the Office	
State (that is, country) of nationality: IN	State (that is, country) of residence: IN
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)	
JAIN, Rajesh Panacea Biotec Ltd., B-1 Extn./A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi-110 044-INDIA	
State (that is, country) of nationality: IN	State (that is, country) of residence: IN
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)	
JINDAL, Kour Chand Panacea Biotec Ltd., B-1 Extn./A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi-110 044-INDIA	
State (that is, country) of nationality: IN	State (that is, country) of residence: IN
☐ Further applicants are indicated on a continuation sheet.	

Continuation of Box No. II APPLICANT(S)

If none of the following sub-boxes is used, this sheet should not be included in the demand.

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

DATTA, Aniruddha
Panacea Biotec Ltd.,
B-1 Extn./A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate,
Mathura Road, New Delhi-110 044-INDIA

State (that is, country) of nationality:
IN

State (that is, country) of residence:
IN

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

State (that is, country) of nationality:

State (that is, country) of residence:

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

State (that is, country) of nationality:

State (that is, country) of residence:

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

State (that is, country) of nationality:

State (that is, country) of residence:

☐ Further applicants are indicated on another continuation sheet.

Box No. III AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCEThe following person is ☒ agent ☐ common representativeand ☒ has been appointed earlier and represents the applicant(s) also for international preliminary examination☐ is hereby appointed and any earlier appointment of (an) agent(s)/common representative is hereby revoked☐ is hereby appointed, specifically for the procedure before the International Preliminary Examining Authority, in addition to the agent(s)/common representative appointed earlierName and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation.
The address must include postal code and name of country.)*GUPTA, Bhartee
Panacea Biotech Ltd.,
B-1 Extn./A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate,
Mathura Road, New Delhi-110 044-INDIA

Telephone No.

+91-11-41679076

Facsimile No.

+91-11-41679068

Teleprinter No.

Agent's registration No. with the Office

☐ Address for correspondence: Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.**Box No. IV BASIS FOR INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION****Statement concerning amendments:***

1. The applicant wishes the international preliminary examination to start on the basis of:

☒ the international application as originally filedthe description ☒ as originally filed☐ as amended under Article 34the claims ☒ as originally filed☐ as amended under Article 19 (together with any accompanying statement)☐ as amended under Article 34the drawings ☒ as originally filed☐ as amended under Article 342. ☐ The applicant wishes any amendment to the claims under Article 19 to be considered as reversed.3. ☐ Where the IPEA wishes to start the international preliminary examination at the same time as the international search in accordance with Rule 69.1(b), the applicant requests the IPEA to postpone the start of the international preliminary examination until the expiration of the applicable time limit under Rule 69.1(d).4. ☐ The applicant expressly wishes the international preliminary examination to start earlier than at the expiration of the applicable time limit under Rule 54bis.1(a).

* Where no check-box is marked, international preliminary examination will start on the basis of the international application as originally filed or, where a copy of amendments to the claims under Article 19 and/or amendments of the international application under Article 34 are received by the International Preliminary Examining Authority before it has begun to draw up a written opinion or the international preliminary examination report, as so amended.

Language for the purposes of international preliminary examination: **ENGLISH**☒ which is the language in which the international application was filed☐ which is the language of a translation furnished for the purposes of international search☐ which is the language of publication of the international application☐ which is the language of the translation (to be) furnished for the purposes of international preliminary examination**Box No. V ELECTION OF STATES**

The filing of this demand constitutes the election of all Contracting States which are designated and are bound by Chapter II of the PCT.

Box No. VI CHECK LIST

The demand is accompanied by the following elements, in the language referred to in Box No. IV, for the purposes of international preliminary examination:

- | | | |
|--|---|--------|
| 1. translation of international application | : | sheets |
| 2. amendments under Article 34 | : | sheets |
| 3. copy (or, where required, translation) of amendments under Article 19 | : | sheets |
| 4. copy (or, where required, translation) of statement under Article 19 | : | sheets |
| 5. letter | : | sheets |
| 6. other (specify) | : | sheets |

For International Preliminary Examining Authority use only
received not received

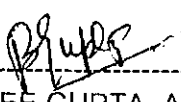
☐	☐
☐	☐
☐	☐
☐	☐
☐	☐
☐	☐

The demand is also accompanied by the item(s) marked below:

- | | |
|--|---|
| 1. ☒ fee calculation sheet | 5. ☐ statement explaining lack of signature |
| 2. ☐ original separate power of attorney | 6. ☐ sequence listing in electronic form |
| 3. ☐ original general power of attorney | 7. ☐ tables in electronic form related to a sequence listing |
| 4. ☐ copy of general power of attorney; reference number, if any: | 8. ☐ other (specify): |

Box No. VII SIGNATURE OF APPLICANT, AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE

Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the demand).


BHARTEE GUPTA, Agent

For International Preliminary Examining Authority use only

1. Date of actual receipt of DEMAND:

2. Adjusted date of receipt of demand due to CORRECTIONS under Rule 60.1(b):

- | | |
|--|--|
| 3. ☐ The date of receipt of the demand is AFTER the expiration of 19 months from the priority date and item 4 or 5, below, does not apply.
☐ The applicant has been informed accordingly. | 6. ☐ The date of receipt of the demand is AFTER the expiration of the time limit under Rule 54bis.1(a) and item 7 or 8, below, does not apply. |
| 4. ☐ The date of receipt of the demand is WITHIN the time limit of 19 months from the priority date as extended by virtue of Rule 80.5. | 7. ☐ The date of receipt of the demand is WITHIN the time limit under Rule 54bis.1(a) as extended by virtue of Rule 80.5. |
| 5. ☐ Although the date of receipt of the demand is after the expiration of 19 months from the priority date, the delay in arrival is EXCUSED pursuant to Rule 82. | 8. ☐ Although the date of receipt of the demand is after the expiration of the time limit under Rule 54bis.1(a), the delay in arrival is EXCUSED pursuant to Rule 82. |

For International Bureau use only

Demand received from IPEA on:

PCT

FEE CALCULATION SHEET

Annex to the Demand

<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"><tr><td style="width: 50%; padding: 5px;">International application No. PCT/IN2007/00111</td><td style="width: 50%; padding: 5px;">For International Preliminary Examining Authority use only</td></tr><tr><td style="width: 50%; padding: 5px;">Applicant's/ or agent's file reference IN/PA-315</td><td style="width: 50%; padding: 5px;">Date stamp of the IPEA</td></tr></table>	International application No. PCT/IN2007/00111	For International Preliminary Examining Authority use only	Applicant's/ or agent's file reference IN/PA-315	Date stamp of the IPEA									
International application No. PCT/IN2007/00111	For International Preliminary Examining Authority use only												
Applicant's/ or agent's file reference IN/PA-315	Date stamp of the IPEA												
Applicant Panacea Biotec Ltd., B-1 Extn. /A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate.													
CALCULATION OF PRESCRIBED FEES <table style="width: 100%;"><tr><td style="width: 60%;">1. Preliminary examination fee</td><td style="width: 40%; text-align: right;">US\$750 P</td></tr><tr><td colspan="2"> </td></tr><tr><td>2. Handling fee (<i>Applicants from certain States are entitled to a reduction of 75% of the handling fee. Where the applicant is (or all applicants are) so entitled, the amount to be entered at H is 25% of the handling fee.</i>)</td><td style="text-align: right;">US\$155 H</td></tr><tr><td colspan="2"> </td></tr><tr><td>3. Total of prescribed fees Add the amounts entered at P and H and enter total in the TOTAL box</td><td style="text-align: right; border: 1px solid black; padding: 5px;">US\$905</td></tr><tr><td colspan="2" style="text-align: right; border: 1px solid black; padding: 5px;">TOTAL</td></tr></table>		1. Preliminary examination fee	US\$750 P			2. Handling fee (<i>Applicants from certain States are entitled to a reduction of 75% of the handling fee. Where the applicant is (or all applicants are) so entitled, the amount to be entered at H is 25% of the handling fee.</i>)	US\$155 H			3. Total of prescribed fees Add the amounts entered at P and H and enter total in the TOTAL box	US\$905	TOTAL	
1. Preliminary examination fee	US\$750 P												
2. Handling fee (<i>Applicants from certain States are entitled to a reduction of 75% of the handling fee. Where the applicant is (or all applicants are) so entitled, the amount to be entered at H is 25% of the handling fee.</i>)	US\$155 H												
3. Total of prescribed fees Add the amounts entered at P and H and enter total in the TOTAL box	US\$905												
TOTAL													
MODE OF PAYMENT <i>(Not all modes of payment may be available at all IPEAs)</i> <table style="width: 100%;"><tr><td>☐ authorization to charge deposit account with the IPEA (see below)</td><td>☐ cash</td></tr><tr><td>☐ cheque</td><td>☐ revenue stamps</td></tr><tr><td>☐ postal money order</td><td>☐ coupons</td></tr><tr><td>☒ bank draft</td><td>☐ other (specify):</td></tr></table>		☐ authorization to charge deposit account with the IPEA (see below)	☐ cash	☐ cheque	☐ revenue stamps	☐ postal money order	☐ coupons	☒ bank draft	☐ other (specify):				
☐ authorization to charge deposit account with the IPEA (see below)	☐ cash												
☐ cheque	☐ revenue stamps												
☐ postal money order	☐ coupons												
☒ bank draft	☐ other (specify):												
AUTHORIZATION TO CHARGE (OR CREDIT) DEPOSIT ACCOUNT <i>(This mode of payment may not be available at all IPEAs)</i> <table style="width: 100%;"><tr><td style="width: 50%; vertical-align: top;">☐ Authorization to charge the total fees indicated above. ☐ <i>(This check-box may be marked only if the conditions for deposit accounts of the IPEA so permit)</i> Authorization to charge any deficiency or credit any overpayment in the total fees indicated above.</td><td style="width: 50%; vertical-align: top;">IPEA/ <u>US</u> Deposit Account No.: _____ Date: _____ Name: _____ Signature: _____</td></tr></table>		☐ Authorization to charge the total fees indicated above. ☐ <i>(This check-box may be marked only if the conditions for deposit accounts of the IPEA so permit)</i> Authorization to charge any deficiency or credit any overpayment in the total fees indicated above.	IPEA/ <u>US</u> Deposit Account No.: _____ Date: _____ Name: _____ Signature: _____										
☐ Authorization to charge the total fees indicated above. ☐ <i>(This check-box may be marked only if the conditions for deposit accounts of the IPEA so permit)</i> Authorization to charge any deficiency or credit any overpayment in the total fees indicated above.	IPEA/ <u>US</u> Deposit Account No.: _____ Date: _____ Name: _____ Signature: _____												

As. 105895
140
143

No.03/2008

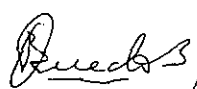
CONSULADO DE COLOMBIA
NUEVA DELHI

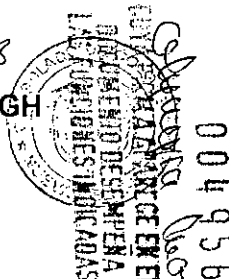
LA SUSCRITA, ENCARGADA DE LAS
FUNCIONES CONSULARES ANTE LA EMBAJADA DE COLOMBIA EN NUEVA
DELHI, INDIA,
VISTOS LOS DOCUMENTOS PRESENTADOS POR LOS INTERESADOS

CERTIFICA:

QUE EL SEÑOR G. HARSHAPPAN, OFICIAL REGIONAL (OI) DEL
MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES DE INDIA, QUIEN AUTENTICO LA
FIRMA DEL SEÑOR P.S. PANWAR DE LA EMPRESA PANACEA BIOTEC,
FIRMANTE DEL PRESENTE DOCUMENTO, EJERCA EN LA FECHA LAS
FUNCIONES INDICADAS Y SU FIRMA CORRESPONDE A LA REGISTRADA EN
ESTE CONSULADO; QUE LA EMPRESA PANACEA BIOTEC, ESTA
CONSTITUIDA DE ACUERDO CON LAS LEYES DE INDIA Y CUMPLE SU
OBJETO CONFORME A LAS MISMAS (SEGÚN DECLARACION NOTARIADA
ADJUNTA AL DOCUMENTO) DOMICILIADA EN NUEVA DELHI, INDIA; QUE
EL SEÑOR P.S. PANWAR DE LA EMPRESA ARRIBA MENCIONADA, ESTA
FACULTADO PARA FIRMAR EL PRESENTE DOCUMENTO.

DADO EN NUEVA DELHI A LOS ONCE DIAS (11) DEL MES DE
ENERO DE DOS MIL OCHO (2008).


OLYMPIA LEON DE SINGH
E.F.C.



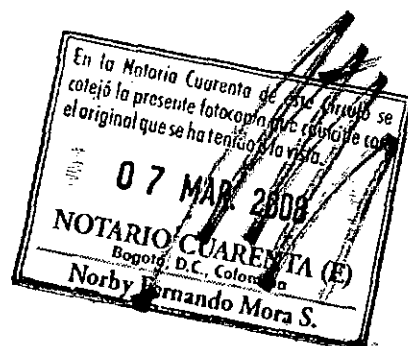
MINISTERIO DE
RELACIONES
EXTERIORES

PAGADO IMPUESTO DE TIMBRE Y
DERECHOS CONSULARES: US \$110.00
(Ciento nueve Dólares Americanos)

2008 JAN 28 P 12:15
JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTÁ D.C.

SO ASUME
RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO

3, Palam Marg, First Floor, Vasant Vihar, New Delhi-110057 INDIA
Tel.: 91-11-51-66-21-03, 51-66-21-05 Fax: 91-11-51-66-21-04, 51-66-21-08
e-mail: emcolin@bol.net.in



140

PODER

POWER OF ATTORNEY

Yo (nosotros), Panacea Biotech Ltd.

I (We), Panacea Biotech Ltd.

domiciliado(s) en, B-1 Extn./A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi - 110 044 - INDIA

domiciled in, B-1 Extn./A-27, Mohan Co-operative Industrial Estate, Mathura Road, New Delhi - 110 044 - INDIA

Nombro(amos) a: JUAN PABLO CADENA SARMIENTO y/o CARLOS H. PALACIO EASTMAN y/o MARTIN E. TORRES CARDOZO, de Bogotá Colombia, apoderados verdaderos y legales con poder especial amplio y suficiente, para recabar de las oficinas y autoridades colombianas administrativas, judiciales y de policía, en cualquier instancia o recurso, la obtención de patentes de invención, registros de marcas, diseños industriales, modelos de utilidad, depósitos de nombres comerciales, marcas comerciales y enseñanzas, registros de derechos de autor y contratos sobre los mismos, obtención de certificados de obtención de variedades vegetales, así como sus prórrogas, renovaciones, anotaciones de traspaso, cambios de nombre, domicilio y/o dirección; elaborar, tramitar y registrar contratos de licencia y licencias de cualesquiera clases; intervenir como demandante o como demandado en cualquier instancia y recurso ante cualquier juez, corporación, funcionario público o autoridad en acciones judiciales, administrativas y de policía tales como: oposiciones al registro de marcas, acciones de caducidad, cancelación y nulidad; acciones reivindicatorias, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias; acciones de competencia desleal; demandas penales; acciones de indemnización de perjuicios, reclamos y observaciones a solicitudes de patentes, diseños industriales, modelos de utilidad, en el ejercicio de medidas cautelares y en otras acciones o medidas similares.

Hereby appoints JUAN PABLO CADENA SARMIENTO and/or CARLOS H. PALACIO EASTMAN and/or MARTIN E. TORRES CARDOZO, of Bogotá, Colombia, my (our) true and lawful attorneys with special, ample and sufficient power to obtain from the Colombian administrative, judicial and police offices and authorities, in any instance, privileges of patents of invention, registration of trademarks, industrial designs and utility models; registration of commercial names, slogans and emblems, registration of copyright and contracts related thereto; certificates of obtainment of vegetables varieties, as well as extensions, renewals and recordal of assignments and changes of name, domicile and/or address related to the above; to prepare, prosecute and register licenses of any kind; to act as plaintiff or defendant in any instance or recourse, and before any judge, corporation, public official or authority in judicial, administrative and police actions, such as: oppositions to the registration of trademarks, caducity, cancellation and nullity actions, claim actions derived from the obtaining or exploitation of licenses, action of unfair competition, criminal proceedings, actions for payment of damages, claims or observations on patent applications, models, industrial designs and utility models; in the exercise of preventive measures and in other actions or similar proceedings.

A este efecto, lo(s) faculto(amos) para elevar solicitudes, formular descripciones, enmiendas, protestas, declaraciones, oposiciones, cancelaciones, nulidades, apelaciones y recursos, pagar impuestos, cuotas y gravámenes prescritos por la ley, renunciar o desistir a derechos concedidos o en curso de concesión; recibir toda clase de documentos y valores, dando el descargo respectivo, y, en general, para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al efecto indicado y tomar todas las medidas que creyeran conducentes al resguardo de mis (nuestros) intereses) con todas las demás facultades legales necesarias.

To that effect they hereby empowered to file applications, formulate descriptions, amendments, protests, declarations, oppositions, cancellations, nullities, appeals and claims; to pay taxes, quotas and assessments prescribed by law, renounce or waive the rights granted or in the process of granting; to receive all kinds of documents and valuables, giving the respective release of receipt, and, in general, to take before said authorities the necessary steps to such effect, and any measures that they may deem pertinent to the safeguard of my (our) interest(s) with all the other necessary legal powers.

Este poder comprende la facultad de ratificar o confirmar en mi (nuestro) nombre lo actuado así como la facultad de desistir, transigir, comprometer, y la de sustituirlo en todo o en parte y revocar sustituciones. Asimismo nombro(amos) a: JUAN PABLO CADENA SARMIENTO y/o CARLOS H. PALACIO EASTMAN y/o MARTIN E. TORRES CARDOZO domiciliado(s) en la Carrera 7 No. 71-21, Torre B, Piso 4 mis (nuestros) intereses) en Bogotá, Colombia, con facultades para recibir y firmar, designar apoderados judiciales o extrajudiciales.

This power includes the faculty to ratify or confirm, desist, settle and compromise on my (our) behalf, and to substitute this power in whole or in part and to revoke substitutions. At the same time I (We) hereby appoint JUAN PABLO CADENA SARMIENTO and/or CARLOS H. PALACIO EASTMAN and/or MARTIN E. TORRES CARDOZO, domiciled in Carrera 7 No. 71-21, Torre B, Piso 4, my (our) attorney(s) in fact, with powers to receive notifications and to designate judicial and extrajudicial attorneys.

Otorgado y firmado en

Granted and signed in

hoy de de

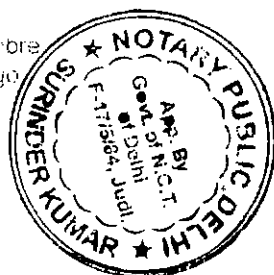
this 22nd day of Dec 2007 for Panacea Biotech Ltd.

Firma

Signature

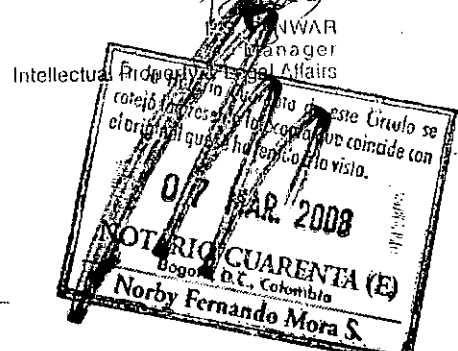
Nombre
Cargo

Name
Title



ATTESTED
NOTARY PUBLIC
DELHI (INDIA)

22 DEC 2007



CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)

148
f46

Hoy de de personalmente compareció ante mí,

On this day of personally appeared before me, P. S. Panwar

a quien conozco, y de quien me consta que firmó el anterior documento, debidamente juramentado declaró y dijo que él (ella) es

to me known, and known to me to be the person who signed the foregoing instrument who being by me duly sworn did depose and say that he (she) is the Manager INTELLECTUAL PROPERTY AND LEGAL AFFAIRS

de, Panacea Biotec Ltd.

of, Panacea Biotec Ltd. B-12th, G-3, M.C.I.E.,
MATHURA ROAD, NEW DELHI-110044, INDIA

Sociedad legalmente constituida para un periodo de duración que aún no ha terminado; que el declarante está autorizado por dicha compañía para conferir este poder, que el sello estampado por él al pie de tal poder, en nombre y representación de la expresada compañía, es el sello oficial de ella; y que el objeto para el cual se confiere este instrumento está comprendido dentro del objeto social de la sociedad.

Which is legally constituted for a term not yet expired, that deponent is authorized by said Company to confer this Power of Attorney: that the seal affixed hereunto by the deponent in the name and on behalf of said Corporation is the corporate seal thereof; and that the purpose for which this instrument is granted is included within the corporate purpose of company.

El suscrito Notario hace constar que tuvo a la vista las pruebas de la existencia de la sociedad.

The undersigned Notary Public attests that he has seen the documents that prove the existence of the company.

Estado de en fecha

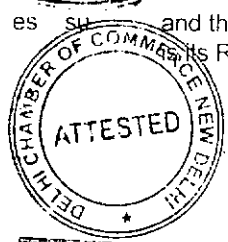


State of DELHI
Under date of 22.12.2007

y que quien confiere el presente poder es su representante.

and that he (she) who grants the present power of attorney is its Representative.

Notario Público (sello)



Public Notary (Seal)

CERTIFICADO NOTARIAL
PERSONA NATURAL

NOTARIAL CERTIFICATE
NATURAL PERSON

Jasprem Singh
(JASPREM SINGH)
Asstt. Secretary
Delhi Chamber of Commerce
New Delhi

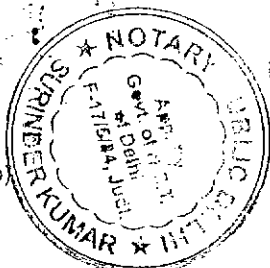
Hoy de de , compareció(eron) ante mí

On this day of personally appeared before me

a quien (es) conozco y me consta que es(son) la(s) persona(s) firmante(s) del documento que precede y quien(es) declara(n) que otorga(n) el mismo para los fines y propósitos que en él se expresan.

who is(are) known to me and who I attest executed the foregoing document and he (they) declared he (they) grant(s) the document for the uses and purposes therein expressed.

Notario Público (sello)



ATTESTED

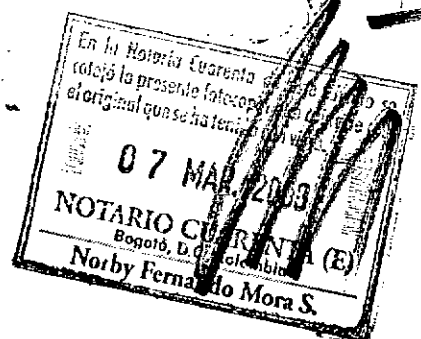
24 DEC 2007

NOTARY PUBLIC
DELHI (INDIA)

Public (Seal)

LEGALIZACIÓN ANTE CONSUL COLOMBIANO ES REQUERIDA.

LEGALIZATION BEFORE THE COLOMBIAN CONSUL IS REQUIRED.



108 616

144

147

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

No. 08 107572-00000-0000

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
CORPORACION NACIONAL DE ASESORIARECIBO OFICIAL DE CAJA : 08 - 66,164
HA : AGOSTO 20 DE 2008

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
BRIGARD & CASTRO LTDA	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	3257295	19/08/2008	61,283,000.00

***** CONCEPTO *****

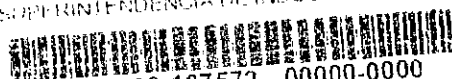
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
		1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	501,000.00
		TOTAL :	\$ 501,000.00

SON: QUINIENTOS UN MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

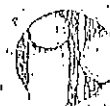
RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-107572-00000-0000

Fecha: 2008-10-08 10:34:35 Dep. 2020 NUCI (RESOLVIM
DE 11 PATENTE DE Inv. 378 FASE NACIONAL
Art 411 PRESENTACION Folios 147



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE PCT

PATENTE DE INVENCION



MODELO DE UTILIDAD



- ♦ Indicación de que se solicita la concesión de una patente: ☒
- ♦ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud: ☒
- ♦ Descripción de la invención: ☒
- ♦ Dibujos de ser estos pertinentes: ☒
- ♦ Comprobante de pago de las tasas establecidas: ☒

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

- ♦ Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial: ☐
- ♦ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud: ☐
- ♦ Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño: ☐
- ♦ Comprobante de pago de las tasas establecidas: ☐

COMPLETA ☐

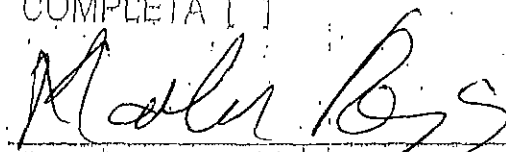
INCOMPLETA ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

- ♦ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado: ☐
- ♦ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud: ☐
- ♦ Representación gráfica del esquema trazado: ☐
- ♦ Comprobante de pago de las tasas establecidas: ☐

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐


Firma Responsable

Fecha

808/08

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
Corredor: 3 82 08 40
Fax: 350 52 20
E-mail: info@slc.gov.co
www.slc.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
CADENA SARMIENTO JUAN PABLO
Apoderado(a) y/o Representante de
PANACEA BIOTEC LIMITED

REFERENCIA	Radicación No.	08 107572
	Solicitud internacional	PCT/IN2007/000111
	Fecha inicio fase nacional	31/10/2008
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	Nº 1 3 7 4 8

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. El solicitante debe aclarar si la solicitud corresponde al capítulo I o II del PCT por que la indicación en el petitorio no corresponde a los documentos del expediente, en caso necesario adjuntar los documentos que corresponden.

2. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

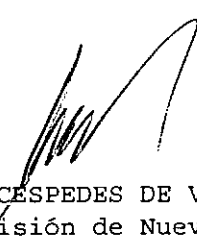
Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No.10 de 2001.

Continúa en la página siguiente...

147

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Radicación No.: 8 107572



ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de
fecha 31 OCT. 2008
adpa11