

COMPOSICIÓN A BASE DEL EXTRACTO DE *ANNONA MURICATA*

Descripción

Sector Tecnológico

La presente invención se relaciona con el sector de la Química Farmacéutica, específicamente con el diseño de composiciones para aplicación en el campo de la medicina y cosmética.

La presente invención corresponde al desarrollo de una nueva formulación natural asociada que actúa como agente anti-cancerígeno.

Estado del Arte Previo

Las alteraciones en la piel humana provocadas por la exposición a la luz solar pueden dar paso a la aparición de cáncer de piel más conocido como carcinoma. Anteriormente, se han comercializado una gran variedad de formulaciones y composiciones para el tratamiento de este tipo de cáncer entre las cuales se tienen principios activos sintéticos comúnmente utilizados para el tratamiento de esta enfermedad, estos en su mayoría tienden a causar lesiones o efectos secundarios. Algunos de los más utilizados se conocen como piridinas, moduladores tópicos y compuestos inhibidores de la ciclo-oxigenasa, entre otros. Por lo anterior, se ha dado paso al desarrollo y uso de medicamentos compuestos por agentes activos naturales, así como en la patente **US7816398** en la cual se proporcionan diferentes composiciones, preparaciones farmacéuticas y métodos de preparación de conjugados de alcoholes grasos y agentes farmacéuticos útiles en el tratamiento de cáncer, virus y trastornos psiquiátricos. Dichas composiciones parten de un ácido graso como agente activo obtenido a partir de las plantas de la familia Annonaceae más conocidas como acetogeninas, junto con una mezcla de surfactantes que actúan como agentes no iónicos y que se clasifican como aquellos ácidos grasos de cadena larga y sus derivados insolubles en agua. Sin embargo, en este caso se hace uso de diferentes sales, soluciones buffer y preservantes como clorobutanol y parabenos en la composición lo que hace que solo una cantidad del total de la formulación sea natural. Otros fármacos utilizados para tratamientos antitumorales como el de la patente **CN102552349** se obtienen a partir de los extractos naturales de la planta Annona, como la annonacina. La formulación en este caso es preparada para ser inyectada o administrada de manera oral, lo que genera que dentro de la composición no se tenga en cuenta la adición de emolientes, surfactantes, vitaminas, ni preservantes, los cuales si se tienen en cuenta junto con los reguladores de pH en aquellas formulas con base a una crema anti-tumoral para uso tópico.

Una de las principales razones para el uso de formulaciones farmacológicas 100% naturales en el tratamiento de enfermedades en la piel humana, es mitigar la aparición de reacciones adversas. En ocasiones, dejar de lado el uso de agentes activos esenciales para obtener una composición en su totalidad natural puede ser un riesgo como lo es en el caso de la patente **US20050079235A1** en donde se establece un método para tratar queratosis actínica mediante la administración de una formulación farmacéutica tópica de un polifenol. La formulación se compone de preservantes como benzoatos, ácido ascórbico, metilparabenos, se añaden reguladores de pH como ácido cítrico, vitamina D y algunos aceites naturales o combinaciones de aceites con agua para formar emulsiones, pero es evidente que no se hace uso de ningún agente activo necesario para que se pueda dar la obtención de una crema natural, como lo son los extractos de guanábana de la presente invención que favorecen la producción natural. En este sentido, la patente **WO03018036** describe el desarrollo de una nueva formulación a base de extractos naturales y químicos para la detección, tratamiento y curación de cáncer de piel benigno y maligno y otras lesiones cutáneas y tumores. Esta formulación se obtiene a partir de la mezcla de varios extractos como Extracto de Sanguinaria Canadensis, Extracto de Larrea Mexicana, Extracto de Annona Muricata (guanábana), Extracto de Tabebuia Avellanedeia, entre otros. De igual manera, la formulación tiene en su composición ácidos para mantener un cierto Ph y emulsionantes como aceite de coco y cera de abeja.

Otros estudios como la patente **KR20100071476** describen una composición para el blanqueamiento de la piel para la industria cosmética en donde el ingrediente activo es la *Annona muricata* o extracto de guanábana, el cual es extraído con agua, alcohol o una mezcla de los mismos más un disolvente. Entre los excipientes se encuentran el agua, ceras, aceites, surfactantes, estabilizantes, preservativos, vitaminas y bajo contenido de alcoholes. A la composición se le agregan aceites vegetales, cera de abejas, alcoholes cetílicos, ácidos grasos como palmitato de isopropilo y surfactantes como glicerina. Sin embargo, los porcentajes en los que son utilizados todos los componentes difieren en su totalidad de la presente invención.

A diferencia de lo reportado en el estado de la técnica, la composición de la presente invención comprende una formulación 100% natural que elimina las células cancerígenas y a la vez reestablece las propiedades de la piel sin quemarla como lo que ocurre con los tratamientos comerciales que se utilizan actualmente.

Por otro lado, la mayoría de las composiciones divulgadas no corresponden con un conjunto farmacéutico como el definido en la composición de la presente invención con un efecto técnico probado.

La presente invención logra una composición estable y neutra que aporta los elementos técnicos específicos que se deben combinar con el extracto de *Annona muricata*, específicamente de sus hojas para lograr un efecto anticancerígeno.

Descripción de la Invención

La presente invención se refiere a una composición a base de compuestos naturales que actúan como agentes anticancerígenos. Principalmente, la composición de la presente invención comprende un compuesto 100% natural que actúa como agente anticancerígeno.

La composición de la presente invención combina un ingrediente activo con una mezcla de excipientes específicamente diseñados para conformar una formulación estable, con un pH neutro y con alta efectividad.

Particularmente, la composición de la presente invención comprende un agente activo natural entre 0,5% y 5%, proveniente del extracto natural de *Annona muricata*, hasta 20% de una mezcla de excipientes y agua.

La presente invención entrega una composición con un diseño específico que logra un efecto probado en el tratamiento de lesiones cancerígenas.

Descripción de las figuras

Figura 1. Resultados de aplicación de la composición de la invención en prueba in vitro en células cancerígenas 1.

Figura 2. Resultados de aplicación de la composición de la invención en prueba in vitro en células cancerígenas 2.

Descripción detallada

La composición a base de compuestos naturales de la presente invención comprende entre 0,5% y 5% de un extracto de *Annona muricata*, hasta 20% de una mezcla de excipientes compuesta de aceites, emolientes, emulsionantes, preservantes y vitaminas y hasta 80% de agua.

Particularmente, la composición de la presente invención comprende un agente activo natural entre 0,5% y 5%, proveniente del extracto natural de *Annona muricata*; preferentemente menos de 1% del extracto natural de *Annona muricata*; más preferentemente entre 0.5 y 0.8% del extracto natural *Annona muricata*.

Para los fines de la composición de la presente invención, el término “extracto” corresponde a un concentrado de componentes vegetales solubles en agua o alcohol o en otro disolvente adecuado, de una o varias porciones de una planta y puede estar en forma líquida o sólida.

Para los mismos fines, el extracto de *Annona muricata* de la presente invención podrá ser extracto orgánico o extracto acuoso.

En este mismo aspecto de la invención, el extracto natural proviene de las hojas de *Annona muricata*. Particularmente, el extracto natural de las hojas de *Annona muricata* comprende acetogeninas, alcaloides, fenoles y otros.

Más particularmente, el extracto de las hojas de *Annona muricata* comprende compuestos seleccionados del grupo de lactonas, annohexocina, annomuricina A, B, C y E, annomutacina, annopentocinas A, B y C, muricoreacina, gigantetronemina, murihexocina A y C, javoricina, isoquinolinas, anonaine, anoniine, atherospermine, atheroreximine, lípidos, ácido gentísico, ácido lignocérico, ácido linoleico, ácido esteárico y/o combinaciones de los mismos y otros.

En este mismo aspecto de la invención, la composición comprende hasta 20% de una mezcla de excipientes compuesta de 0,8-8% de aceites seleccionados del grupo de aceite de argán, aceite de almendras, aceite de oliva, aceite de germen de trigo, aceite de rosa mosqueta, aceite mineral, entre otros y/o combinaciones de los mismos y otros; 8-25% de emolientes seleccionados del grupo de alantoina, palmitato de isopropilo, alcohol cetílico, entre otros, y/o combinaciones de los mismos y otros; 0.2-7% de emulsionantes seleccionados del grupo de monoestearato de glicerol-ácido estable, polisorbato 20, cera de abeja, aloe vera, entre otros, y/o combinaciones de los mismos; 0-5% de preservantes seleccionados del grupo de alcohol cetílico, estearílico etoxilado, lauril glucósido y poligliceril-2 dipolihidroxiestearato y glicerilo, octildodecanol, preparación líquida a base de fenoxietanol, Metilparabeno, butilparabeno, etilparabeno, propilparabeno e isobutilparabeno, Benzoato de sodio, Metilparabeno sodico, Silicato de sodio, Butilparabeno, 1,3 propanediol, Propionato de amonio, entre otros, y combinaciones de los mismos y otros; y 0,5-2% de vitaminas seleccionadas del grupo de vitamina A, C, E, B12, B5, D3 TIPO 100, K1, entre otras y/o combinaciones de los mismos y otros.

En este mismo aspecto, la composición de la presente invención comprende agua hasta en un 80%.

En el mismo aspecto, el pH de la composición de la presente invención se mantiene neutro.

Opcionalmente, la composición de la presente invención comprende un componente natural adicional seleccionado del grupo de extracto de algas, árnica, extracto de caléndula, extracto de castaño de indias, extracto de centella asiática, extracto de cola de caballo, extracto de *Ginkgo biloba*, *Hammamelis* spp, entre otros, y combinaciones de los mismos y otros.

Opcionalmente, la composición de la presente invención comprende 0-2% de regulador de pH seleccionado del grupo de como ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido nítrico o trietanol amina para conservar el pH entre 5-7.

En este aspecto, la composición se formula además como un líquido, una crema tópica, un gel, una loción, emulsión o suspensión en agua.

Modalidades preferidas

En el aspecto preferido de la invención, la composición comprende un agente activo natural entre 0,5% y 1%, proveniente del extracto natural de *Annona muricata*; preferentemente menos de 1% del extracto natural de *Annona muricata*; más preferentemente entre 0.5 y 0.8% del extracto natural *Annona muricata*.

En este mismo aspecto preferido la composición de la invención comprende entre 0.5 y 0.8 de extracto natural de hojas de *Annona muricata*. Aún en este aspecto preferido de la invención, la composición comprende entre 0.5 y 0.8 de una mezcla de compuestos químicos específicos provenientes de las hojas de *Annona muricata*.

En este mismo aspecto de la invención, la composición comprende hasta 20% de una mezcla de excipientes compuesta de 0,8-8% de aceites seleccionados del grupo de aceite de germen de trigo; 8-25% de palmitato de isopropilo; 0.2-7% de emulsionantes seleccionados del grupo de monoestearato de glicerol-ácido estable, polisorbato 20, cera de abeja, aloe vera, entre otros, y/o combinaciones de los mismos; 0-5% de preservantes seleccionados del grupo de alcohol cetílico, estearílico etoxilado, lauril glucósido y poligliceril-2 dipolihidroxiestearato y glicerilo, octildodecanol, preparación líquida a base de fenoxietanol, Metilparabeno, butilparabeno, etilparabeno, propilparabeno e isobutilparabeno, Benzoato de sodio, Metilparabeno sodico, Silicato de sodio, Butilparabeno, 1,3 propanediol, Propionato de amonio, entre otros, y combinaciones de los mismos y otros; y aproximadamente 2% de vitamina E.

En este mismo aspecto, la composición de la presente invención comprende agua hasta en un 80%.

En el mismo aspecto, el pH de la composición de la presente invención se mantiene 5 y 7.

En este aspecto preferido, la composición se formula como crema en la que se prepara una fase aceite agua como base de la composición y como vehículo del componente activo natural.

Ejemplos

Selección del agente activo de la composición de la invención por medio de pruebas in vitro

Se evaluó el impacto *in vitro* de tres compuestos naturales (A, B y C) en el crecimiento/proliferación y apoptosis de células madre aisladas de células de pacientes cancerígenas.

Para empezar, se obtuvieron los extractos de los compuestos naturales A, B, y C por medio de la extracción de arrastre con vapor. El compuesto A es proveniente de una planta europea, el compuesto B es proveniente de otra planta, que corresponde con el agente activo natural de la invención y el compuesto C de una planta de origen distinto. Los extractos a una concentración adecuada de las moléculas de los activos principales contenidas en las plantas, con el fin de que su acción sea más efectiva.

Posteriormente, los extractos se diluyeron en diferentes concentraciones para estudiar el efecto de los 3 compuestos A, B y C con respecto a las propiedades de crecimiento y clono-génicos de células cancerígenas ($n = 6$). Para esto se aplicó un ensayo que consiste en medir la capacidad de las células madre/progenitoras de para crecer, dividirse y dar lugar a colonias cancerígenas en un medio semisólido. La exposición a corto plazo de las células cancerígenas primarias ($n = 6$) en un cultivo líquido durante 48 horas sin o con dosis crecientes de los compuestos A y B abolió completamente el crecimiento de las células madre/progenitoras cancerígenas *in vitro*, incluso a la concentración más baja (Figura 1). Se prosiguió a evaluar el efecto de dosis progresivas de los compuestos A, B y C en la apoptosis de las células cancerígenas ($n = 4$) mediante el seguimiento del porcentaje de células con Anexina V positiva. Se observó que las dosis muy bajas de los compuestos A, B y C son suficientes para inducir significativamente una masiva apoptosis de células madres cancerígenas ($n = 4$). Estos resultados preclínicos en células primarias sugieren fuertemente que los tres compuestos naturales A, B y C muestran una bioactividad muy potente.

A su vez, se observaron resultados similares utilizando varias células cancerígenas en aplicación de la misma prueba para medir la capacidad de las células madre/progenitoras de para crecer, dividirse y dar lugar a colonias cancerígenas.

Con base en todos estos resultados, se seleccionó el compuesto B que de los tres compuestos naturales fue el que presentó el potencial más alto de actividad anticancerígena.

Diseño de la composición de la invención con diferentes concentraciones del agente activo natural

Se prosiguió con la elaboración de una crema base neutra. A esta se le adicionaron diferentes concentraciones del extracto para evaluar su estabilidad y su potencial para disminuir la presencia de queratosis actínica. Se evalúan las muestras con diferentes concentraciones (a las que llamaremos muestras 1, 2, 3, 4, 5 y 6).

Las muestras presentan una coloración beige clara y son estables en prueba centrífuga a 3200 rpm, por 20 minutos. Posteriormente se introducen en un horno a 35°C para ver aceleradamente que tan susceptibles son a degradarse. La muestra 5 presenta un aumento la intensidad de color, mostrando su inestabilidad a largo plazo y una vida útil más corta que las demás muestras. A continuación, se evalúa el pH de las muestras restantes obteniendo un rango entre 5.1 y 6.1.

Se guardan diferentes muestras de cada concentración en distintas condiciones para evaluar su estabilidad frente a diferentes estímulos, las condiciones establecidas con:

- 1) Horno a 35°C,
- 2) En estanterías (lugar fresco y seco) y
- 3) Refrigeración (4°C).

Luego de 3 y 5 meses se evalúan las mismas características: coloración, separación, pH obteniendo los mismos resultados que en el primer análisis.

Estos resultados prevén que la vida útil de las muestras es de por lo menos de 9 meses en anaquel.

Prueba en pacientes con la composición de la presente invención

A continuación, se hace un barrido corto de 6 semanas de las diferentes muestras en varios pacientes (n = 4) con lesiones cutáneas cancerígenas.

La evolución de los pacientes demuestra que las cremas 3 y 4 parecen tener la misma eficacia en el tratamiento por lo que se opta por estudiar a profundidad la crema 3 en un número mayor de pacientes.

Para esta última parte del estudio se seleccionaron 12 pacientes con diagnóstico clínico de lesiones cancerígenas en rostro y cuero cabelludo. Estos pacientes, 10 de sexo masculino y 2 de sexo femenino; cuyas edades fluctuaron entre los 65 y 83 años, sin importar tratamientos anteriores, pero sin manejo dermatológico por 2 meses previos al inicio de la prueba.

A cada paciente se le suministró la crema 3, que corresponde con la composición de la presente invención, a base del compuesto de *Annona muricata*, con una dosificación

standard de aplicación tópica 2 veces en el día (mañana y noche) y una cantidad aproximada de 2 mg por centímetro cuadrado y un protector solar determinado únicamente. Se anotó la condición clínica y se tomaron los respectivos registros fotográficos, a las 2, 4, 8 y 12 semanas. Los resultados de estos 12 pacientes evaluados por el propio paciente y médico dermatólogo en los todos los pacientes han sido excelentes.

La respuesta a la terapia se evalúa como satisfactoria, ya que los pacientes han respondido positivamente al tratamiento. La textura de la piel mejoró, las escamas y la rugosidad de las lesiones disminuyeron considerablemente e incluso muchas desaparecieron a pesar del corto periodo de observación, y en general los pacientes manifestaron sentirse bien con una mejoría de las lesiones tratadas y de la textura en general de su piel. No hubo ningún efecto adverso.

Se concluye que la composición de la invención limita y previene el desarrollo de lesiones cancerígenas, pero aún se deben hacer estudios controlados para corroborar los resultados obtenidos en este estudio preliminar.