

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 372 203**

51 Int. Cl.:
C07D 407/10 (2006.01)
A61K 31/353 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **07020728 .7**
96 Fecha de presentación: **23.10.2007**
97 Número de publicación de la solicitud: **2053050**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **29.04.2009**

54 Título: **DIHIDROCHALCONA SIMILAR A ASPALATINA Y PROCEDIMIENTO DE PREPARACIÓN.**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
17.01.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
17.01.2012

73 Titular/es:
**KNEIPP-WERKE KNEIPP-MITTEL-ZENTRALE
GMBH & CO. KG
STEINBACHTAL 43
97082 WURZBURG, DE**

72 Inventor/es:
**Frank, Bruno. Dr y
Dimpfel, Wilfried. Prof. Dr**

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 372 203 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Dihidrochalcona similar a aspalatina y procedimiento de preparación

La presente invención se refiere a un nuevo compuesto químico de la fórmula I, así como a sus sales y ésteres farmacéuticamente aceptables. Además, la invención se refiere también a un procedimiento para aislar el compuesto según la fórmula I a partir de material bruto de rooibos. La presente invención se refiere también a un extracto de rooibos que presenta un contenido del compuesto según la fórmula I de al menos el 0,4 % en peso. Además, la invención se refiere también al uso del compuesto químico de la fórmula I, así como a sus sales y ésteres farmacéuticamente aceptables, y al extracto de rooibos según la invención como medicamento, en particular para el tratamiento de trastornos neurológicos y psiquiátricos del sistema nervioso central. La expresión farmacéuticamente activo comprende también las actividades que provocan una mejora subjetiva del estado de salud, no debiendo ser indispensable una autorización de las autoridades reguladoras de medicamentos.

El rooibos (inglés: rooibos; latín: *Aspalathus lineares*) crece exclusivamente en Sudáfrica y contiene, siendo actualmente la única planta conocida que la posee, la sustancia con actividad antioxidante particularmente fuerte aspalatina, un flavonoide. Además, el rooibos contiene otros flavonoides tales como C-glucosilflavonas (entre otras orientina, isoorientina), 3-O-glucósidos de flavonol (entre otros quercetina, quercitrina, isoquercitrina, rutina) y C-glucosidos de la dihidrochalcona notofagina y aspalatina.

El rooibos "verde" no fermentado destaca por un contenido elevado en polifenoles, en particular aspalatina, así como por una actividad antioxidante alta en comparación con el producto fermentado. El efecto de la disminución de la actividad antioxidante por medio del proceso de fermentación se observa igualmente en el caso de té negro con respecto al té verde (Bramati y col., J. Agric. Food Chem. 2003, 51: 7472-7474). Investigaciones científicas han demostrado que la actividad antioxidante de la infusión de rooibos proviene principalmente del contenido en aspalatina. En el análisis del proceso de fermentación de rooibos se ha determinado que el contenido de aspalatina y notofagina disminuye durante el proceso de fermentación (Schulz y col., Eur. Food Res. Technol. 2003, 216: 539-543). Así puede aclararse la menor actividad antioxidante del rooibos "rojo" fermentado con relación al rooibos "verde" no fermentado.

Debido al flavonoide saludable mencionado anteriormente, así como a su sabor agradable, la infusión de rooibos está ampliamente difundida. Otros ingredientes de la infusión de rooibos son ácidos fenólicos, aceites etéreos, vitamina C y numerosas sustancias minerales, en particular hierro.

Para lograr una actividad antioxidante lo más elevada posible, es necesario un contenido alto en aspalatina. Con relación a esto, el documento DE 10 2005 004 438 divulga un extracto de rooibos, que presenta, en comparación con el contenido de aspalatina habitual del 1 al 3 % en peso, un contenido aumentado de más del 5 % en peso para un contenido de clorofila similar bajo de menos del 0,4 % en peso. Según el documento DE 10 2005 004 438 el extracto de rooibos se obtiene mediante la extracción de material bruto de rooibos usando una mezcla de etanol y agua. El extracto de rooibos con un contenido elevado de aspalatina puede usarse debido a su actividad antioxidante, antiirritativa y antimicrobiana, en particular, para el uso cosmético, por ejemplo como producto cosmético para cabello, para piel o como producto de higiene bucal.

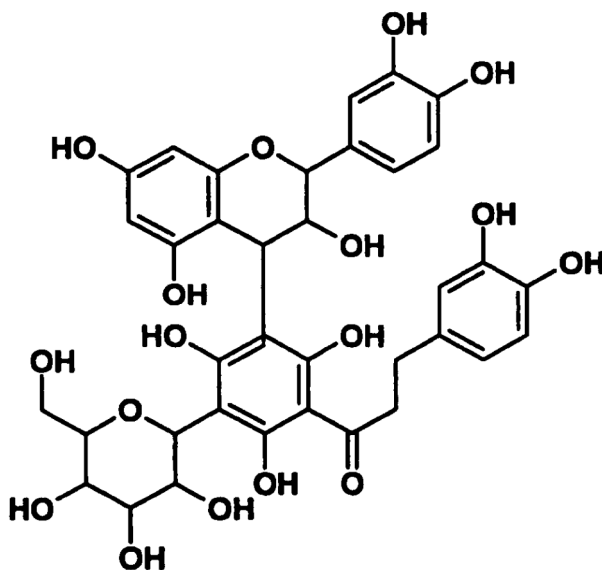
Otro flavonoide incluido en la infusión de rooibos es la quercetina. Ésta está presente en un contenido de aproximadamente 11 mg/100 g de material bruto de rooibos y actúa, por ejemplo, sobre la liberación de histamina en el organismo humano, pudiendo impedir síntomas alérgicos. La quercetina también logra inhibir la producción de monoaminooxidasas, lo que influye favorablemente sobre depresiones y trastornos del sueño leves (Plantextrakt, the nature network, edición 3 del 09-11-2005; Plantextrakt GmbH).

Un punto de partida de la presente invención fue la búsqueda de principios activos para tratar enfermedades del sistema nervioso central, como por ejemplo demencias, enfermedad de Parkinson, depresiones y estados de dolor. La terapia de estas enfermedades es complicada, y los medicamentos que se usan para estos casos, tales como, por ejemplo, tacrina, galantamina o nefopam, presentan un espectro amplio de efectos secundarios.

Un objetivo de la invención es, por lo tanto, proporcionar principios activos y composiciones para el tratamiento terapéutico de estas enfermedades. En particular, estos principios activos o composiciones deben presentar unos efectos secundarios reducidos.

Este objetivo se logra por medio del objeto de las reivindicaciones.

Por lo tanto, la presente invención se refiere a un compuesto de la fórmula I



así como a sus sales y ésteres farmacéuticamente aceptables. A este respecto, son derivados del mismo productos de acoplamiento del compuesto según la fórmula I con ácido ferúlico, ácido quínico, ácido cafeico, ácido glucónico o ácido clorogénico. Se usan preferentemente los compuestos de la fórmula I en su forma natural o como sales, más preferentemente en su forma natural según la fórmula I.

Además, la invención se refiere a un extracto de rooibos, preferentemente a partir de rooibos no fermentado, con un contenido de compuesto según la fórmula I de al menos el 0,4 % en peso, más preferentemente de al menos el 0,8 % en peso, más preferentemente de al menos el 1,5 % en peso, más preferentemente de al menos el 5 % en peso, más preferentemente de al menos el 10 % en peso y del modo más preferente de al menos el 20 % en peso.

Además, la invención se refiere a un procedimiento para preparar el compuesto de fórmula I, caracterizado porque

- se extrae material bruto de rooibos no fermentado, secado y triturado, con un agente de extracción constituido por metanol y/o agua durante un periodo de extracción predeterminado a una temperatura de hasta 60 °C,

- el extracto se filtra y, a continuación, se concentra hasta sequedad a presión reducida y, a continuación,

- se purifica por medio de tres etapas de separación cromatográfica usando dos columnas Sephadex LH20 y, a continuación, una columna lipófila de HPLC c18.

La invención se refiere también al uso de un extracto de rooibos como medicamento o suplemento nutricional. La invención se refiere, además, al uso de compuestos según la fórmula I, así como a sus sales y esteres farmacéuticamente aceptables como medicamento o suplemento nutricional. Preferentemente, el suplemento nutricional o medicamento contiene el extracto de rooibos en una cantidad de al menos 100 mg, más preferentemente de al menos 200 mg, aún más preferentemente de al menos 300 mg por g de suplemento alimentario o por unidad de dosificación del medicamento. En otra forma de realización preferente, el suplemento nutricional o el medicamento contiene al menos 1 mg, más preferentemente al menos 2 mg, aún más preferentemente al menos 3 mg, aún más preferentemente al menos 5 mg y del modo más preferente al menos 10 mg del compuestos de fórmula I por g de suplemento nutricional o por unidad de dosificación de un medicamento.

En una forma de realización preferente de la invención, el extracto de rooibos con la proporción aumentada de compuesto según la fórmula I se usa para el tratamiento de trastornos neurológicos y psiquiátricos del sistema nervioso central, preferentemente para el tratamiento de demencias, enfermedad de Parkinson, depresiones y estados de dolor, más preferentemente de la enfermedad de Alzheimer.

En otra forma de realización preferente de la invención se usan compuestos según la fórmula I, así como sus sales y ésteres farmacéuticamente aceptables, para el tratamiento de trastornos neurológicos y psiquiátricos del sistema nervioso central, preferentemente para el tratamiento de demencias, enfermedad de Parkinson, depresiones y estados de dolor, más preferentemente de la enfermedad de Alzheimer.

En otra forma de realización preferente más, la invención se refiere al uso del compuesto de la fórmula I o sus sales y ésteres farmacéuticamente aceptables para la preparación de un medicamento para el tratamiento de trastornos neurológicos y psiquiátricos del sistema nervioso central, siendo los trastornos neurológicos y psiquiátricos del sistema nervioso central demencias, enfermedad de Parkinson, depresiones y estados de dolor, más preferentemente enfermedad de Alzheimer.

En el ámbito de la presente invención pudo aislarse y, a continuación, caracterizarse una sustancia natural farmacológicamente activa a partir de un extracto de rooibos. Inesperadamente, pudo aislarse el nuevo compuesto químico sólo a partir de extracto de rooibos "verde" no fermentado. Sólo la caracterización total del compuesto posibilitó la determinación de cantidades mínimas también en el extracto de rooibos fermentado.

5 El procedimiento para aislar el nuevo compuesto químico se describe en el ejemplo 1; la fórmula estructural se indica en la fórmula I. El compuesto de la fórmula I presenta tanto similitudes con la estructura de la aspalatina como también con la de la catequina-(4 α ->2)floroglucinol (figura 1). La caracterización exacta, así como la explicación de su estructura, se describe detalladamente en el **ejemplo 2**. En comparación con los flavonoides conocidos hasta la fecha, el nuevo compuesto según la fórmula I presenta un peso molecular alto, de 740,66 g/mol. Las sustancias naturales de alto peso molecular de este tipo no se usan habitualmente para el análisis de principios activos, ya que pueden atravesar con dificultad la barrera hematoencefálica debido a su peso molecular. Por lo tanto, para el sitio de actuación del cerebro o para el tratamiento de enfermedades del sistema nervioso central se contemplan las sustancias de este tipo como inadecuadas.

15 No obstante, inesperadamente, un análisis sin ningún tipo de sesgo usando electroencefalografía (tele-stereo-EEG) de ratas mostró una actividad farmacológica nerviosa central notable del compuesto según la fórmula I. Los análisis farmacológicos mostraron, sorprendentemente, que la actividad en el modelo tele-stereo-EEG en ratas provoca alteraciones dependientes de la dosis de las frecuencias EEG, tal como se conocen tras la administración de medicamentos clásicos para el tratamiento de demencias (por ejemplo galantamina o tacrina), enfermedad de Parkinson (L-DOPA) y estados de dolor (por ejemplo nefopam).

20 La actividad farmacológica del compuesto según la invención según la fórmula I se ha comparado en el marco de la presente invención con los ingredientes conocidos del extracto de rooibos tales como aspalatina, catequina o (-)-epicatequina. Los análisis experimentales se describen detalladamente en el **ejemplo 3** y muestran inesperadamente que la actividad del compuesto según la fórmula I no puede lograrse con cantidades aproximadamente equimolares de aspalatina, catequina o (-)-epicatequina, aun cuando el compuesto según la fórmula I presenta similitud estructural con estas sustancias naturales. El nuevo compuesto según la invención según la fórmula I posee una actividad farmacológica más elevada que estos ingredientes conocidos del extracto de rooibos y es, por lo tanto, particularmente adecuada para su uso como medicamento.

25 El aislamiento de este nuevo compuesto con actividades farmacológicas ventajosas posibilita, en particular, la preparación de un medicamento a base del compuesto según la fórmula I tanto como monopreparado como también en combinación con otros principios activos. Estos otros principios activos pueden actuar en la misma dirección o también pueden tener propiedades totalmente diferentes que influyen adecuadamente sobre el cuadro clínico de otro modo. Para ello es adecuado también la combinación de este compuesto con otros flavonoides e ingredientes contenidos en el rooibos formando una unión completa. En particular, son adecuados para ello los ingredientes que presentan una actividad antioxidante.

30 Un análisis discriminante de los datos *in vivo* del compuesto según la fórmula I mostró, tal como se ha indicado anteriormente, una similitud con los medicamentos para el tratamiento de demencias, enfermedad de Parkinson, depresión y estados de dolor. Debido a que estos medicamentos presentan un espectro de reacciones secundarias amplio, el uso del compuesto según la fórmula I como medicamento es ventajoso, ya que de las sustancias naturales se puede esperar, habitualmente, una cantidad de efectos secundarios más reducida. Inesperadamente, además, la nueva sustancia traspasa de forma clara la barrera hematoencefálica. En general, esto no es habitual en flavonoides.

Además, se proporciona un procedimiento de preparación de extractos de rooibos y del nuevo compuesto farmacológicamente activo identificado. Mediante el procedimiento según la invención es posible proporcionar un extracto vegetal particularmente adecuado para el tratamiento de las enfermedades mencionadas anteriormente.

45 El extracto de rooibos preparado según la invención presenta un contenido de compuesto según la fórmula I de al menos el 1 % en peso, más preferentemente de al menos el 1,5 % en peso, aún más preferentemente de al menos el 2 % en peso, más preferentemente de al menos el 2,5 % en peso, aún más preferentemente de al menos el 3 % en peso y del modo más preferente de al menos el 5 % en peso.

50 Un procedimiento según la invención para preparar el compuesto según la fórmula I presenta las etapas siguientes (véase también el **ejemplo 1**):

- preparar material bruto de rooibos no fermentado, secado y triturado,
- extraer el material bruto preparado con un agente de extracción constituido por una mezcla de un alcohol, preferentemente metanol, y/o agua durante un periodo de extracción predeterminado a una temperatura de hasta 60 °C,
- 55 - filtrar el extracto,
- concentrar el extracto filtrado a presión reducida,

- purificar el extracto en tres etapas:
- purificación gruesa mediante cromatografía en una columna Sephadex LH20
- purificación fina mediante cromatografía en otra columna Sephadex LH20
- separación en una columna lipófila de HPLC c18.

5 Cuando se desean preparados con un contenido elevado de compuestos según la fórmula I, también puede separarse el extracto sólo con una columna cromatográfica. Preferentemente, el contenido de humedad del material bruto de rooibos disponible es del 4 % o inferior, debido a que se evita de este modo una autofermentación del material de partida.

10 Como agente de extracción se usa según una realización preferente del procedimiento según la invención una mezcla de alcohol y agua con una relación de 50:50 a 80:20, dependiendo del alcohol que se use (son adecuados metanol, etanol, propanol, propan-2-ol). Preferentemente se usa una mezcla de metanol/agua de 50:50. En esta forma de realización preferente del procedimiento según la invención la relación entre el material bruto y el agente de extracción es preferentemente de 1:6, y la etapa de extracción se realiza preferentemente a temperatura elevada (más de 40 °C) durante una hora, pero también es posible la realización a temperatura ambiente con una duración de, por ejemplo, 2 a 5 horas.

La concentración del extracto filtrado se realiza preferentemente a una presión inferior a 30 kPa. La temperatura de la etapa de concentración es preferentemente, como máximo, de 40 °C.

20 La preparación del extracto de rooibos según la invención se realiza según el procedimiento descrito anteriormente, obteniéndose el extracto de rooibos después de concentrar hasta sequedad (sin purificación cromatográfica posterior).

El procedimiento de medición para determinar el contenido en el extracto de rooibos del compuesto según la fórmula I se describe detalladamente en el **ejemplo 4**.

25 El compuesto según la fórmula I, sus sales y ésteres farmacéuticamente aceptables, así como el extracto de rooibos según la invención son adecuados, en particular, para el tratamiento de enfermedades del sistema nervioso central, preferentemente demencias, enfermedad de Parkinson, depresiones, estados de dolor y como protector celular antioxidante o "aceptor de radicales". El tratamiento de la enfermedad de Alzheimer es particularmente adecuado.

30 Según la invención, los nuevos compuestos pueden usarse como principios activos individuales o en combinación con otros principios activos en la forma según la fórmula I o como sales o complejos y ésteres farmacéuticamente aceptables. Los derivados de los mismos, las sales, complejos y ésteres, así como su preparación, son conocidos por el experto. La preparación de sales farmacéuticamente aceptables también es conocida por el experto. Como formadores de sales se consideran todos los ácidos o aniones farmacéuticamente aceptables. Además, son posibles acoplamiento a ácidos tales como por ejemplo ácido ferúlico, ácido chínico, ácido cafeico, ácido glucónico, ácido clorogénico y compuestos relacionados. En particular, es preferente un acoplamiento a ácido glucónico. Los productos de acoplamiento del compuesto según la fórmula I con los ácidos mencionados se consideran derivados farmacéuticamente aceptables. Preferentemente, el compuesto se usa, no obstante, como molécula según la fórmula I.

40 El extracto de rooibos según la invención, así como el compuesto según la invención según la fórmula I o sus sales y ésteres, preferentemente el compuesto según la fórmula I de origen natural, pueden procesarse de un modo conocido para obtener medicamentos y/o suplementos nutricionales con propiedades saludables. El extracto de rooibos según la invención, así como el compuesto según la fórmula I según la invención o sus sales y ésteres pueden formularse, por ejemplo, en forma de comprimidos, cápsulas, pastillas, grageas, granulados, polvos, pastillas para disolución oral y formas farmacéuticas líquidas tales como, por ejemplo, bebidas. También es preferente el uso de suplementos nutricionales.

45 Preferentemente, los suplementos nutricionales o medicamentos se administran oralmente, siendo posible también, por ejemplo, la administración tópica, parenteral, intravenosa, intramuscular, subcutánea, nasal, por inhalación, rectal o transdérmica.

50 El extracto de rooibos según la invención y el medicamento o suplemento nutricional según la invención pueden contener adicionalmente preferentemente otros principios activos que potencian el extracto de rooibos o el compuesto según la invención según la fórmula I o sus sales o que influyen positivamente de forma complementaria sobre los síntomas o estados que aparecen en las enfermedades mencionadas (por ejemplo: otros aceptores de radicales, diferentes sustancias inhibitoras de enzimas, vitaminas, lecitina, ácidos grasos omega 3 y sustancias que influyen positivamente sobre las funciones del cerebro).

55 Además, pueden usarse coadyuvantes y vehículos farmacéuticamente aceptables. Los coadyuvantes adecuados son conocidos por el experto y comprenden, por ejemplo, cargas, disgregantes, lubricantes, aglutinantes, humectantes, etc.

Los lubricantes adecuados son, por ejemplo, silicato, talco, ácido esteárico, estearato de magnesio o calcio y/o polietilenglicol.

Como aglutinantes pueden usarse, por ejemplo, almidón, goma arábica, gelatina, metilcelulosa, carboximetilcelulosa o polivinilpirrolidona.

- 5 Son disgregantes, por ejemplo, almidón, ácido algínico, alginato o almidón glucolato de sodio, mezclas espumantes.

Como humectante pueden usarse, por ejemplo, lecitina, polisorbato o laurilsulfato.

Además, en las formulaciones pueden estar presentes colorantes y edulcorantes.

Las preparaciones farmacéuticas pueden prepararse de un modo conocido, por ejemplo, mediante mezclado, granulado, preparación de comprimidos, procedimientos de recubrimiento con azúcar o de recubrimiento retardante.

- 10 Las dispersiones y/o soluciones líquidas para administración oral pueden ser, por ejemplo, bebidas, gotas, jarabes, emulsiones y suspensiones.

El jarabe puede contener como vehículo, por ejemplo, sacarosa o sacarosa con glicerina y/o manitol y/o sorbitol.

Las suspensiones y las emulsiones pueden contener como vehículo, por ejemplo, una resina natural, agar, alginato de sodio, pectina, metilcelulosa, carboximetilcelulosa o polivinilalcohol.

- 15 Las suspensiones o soluciones para inyecciones intramusculares pueden contener además del principio activo un vehículo farmacéuticamente aceptable, por ejemplo agua estéril, aceite de oliva, oleato de etilo, glicoles, por ejemplo propilenglicol y, en caso de que se desee, una cantidad adecuada de clorhidrato de lidocaína.

Las soluciones para inyección o infusión intravenosa pueden contener como vehículo, por ejemplo, agua estéril o pueden estar presentes, preferentemente, en forma de soluciones salinas isotónicas estériles acuosas.

- 20 Los supositorios pueden contener, además del principio activo, un vehículo farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, manteca de cacao, polietilenglicol, un éster de ácido graso de polioxietilensorbitol o lecitina.

Las composiciones para aplicación tópica, por ejemplo cremas, lociones o pastas, pueden prepararse mezclando el principio activo con un vehículo emulsionante o que contiene aceite habitual.

- 25 El extracto de rooibos según la invención y el compuesto según la invención según la fórmula I o sus sales y ésteres pueden usarse en las cantidades habituales en los suplementos nutricionales o medicamentos. En solución, se usan, preferentemente, del 0,001 al 10 % en peso del compuesto según la invención según la fórmula I o sus sales, más preferentemente del 0,1 al 7 % en peso y de modo particularmente preferente del 1 al 5 % en peso.

- 30 El extracto de rooibos según la invención se usa preferentemente en cantidades que corresponden a una cantidad de compuesto según la fórmula I de 1 a 1000 mg, más preferentemente de 10 a 600 mg, aún más preferentemente de 50 a 400 mg y del modo más preferente de 50 a 250 mg.

Los suplementos nutricionales o medicamentos descritos anteriormente pueden prepararse mediante procedimientos habituales y administrarse en una forma farmacéuticamente adecuada.

- 35 Los suplementos nutricionales o medicamentos sólidos preferentes según la invención pueden contener adicionalmente preferentemente del 1 al 50 %, más preferentemente del 1 al 20 %, de modo particularmente preferente del 1 al 10 % de cargas.

- 40 Como cargas pueden usarse uno o varios compuestos que proporcionan una parte del material para alcanzar la masa total del comprimido necesaria y deseada. Se pueden usar, entre otros materiales, celulosa microcristalina con tamaños de partícula diferentes, en particular con un tamaño de partícula promedio en el intervalo de 20 mm a 200 mm, en particular en el intervalo de 50 mm a 150 mm, tal como, por ejemplo, 100 mm, como los productos conocidos de Avicel tales como Avicel PH-101 y PH-102. Otras cargas adecuadas son, por ejemplo, almidón de maíz, almidón de patata, lactosa, celactosa (una mezcla de celulosa y lactosa), fosfato de calcio, dextrosa, manitol, maltodextrina, isomaltitol, dado el caso también sorbitol y sacarosa. En caso de que esté prevista una compresión directa, debe considerarse en la elección de las cargas que se usen cualidades que sean adecuadas para la compresión directa de comprimidos. Esto lo indica en los productos comerciales en cada caso el fabricante o puede determinarse mediante ensayos sencillos. Las cargas más preferentes son celulosa microcristalina (productos comerciales son, por ejemplo, Avicel, Vivapur y Emccel).

- 45 Los disgregantes adecuados se conocen en el estado de la técnica. Los disgregantes se nombran también habitualmente usando el término inglés "disintegrants". Los disgregantes preferentes son, por ejemplo crospovidona (Kollidon CL) y almidón o almidón pretriturado, en particular el producto comercial "Starch 1500". Otros almidones adecuados se obtienen comercialmente con las denominaciones Lycatab PGS, Prejel y Sepistab ST 200. Además, también pueden usarse los denominados "superdisgregantes" conocidos, tales como croscarmelosa de sodio (por

ejemplo Ac-Di-Sol, entre otros) y carboximetilalmidón de sodio (por ejemplo Explotab, Primojel, entre otros). Son preferentes almidones tales como Starch 1500.

5 El contenido en disgregantes es habitualmente del 1 al 25 % en peso, preferentemente del 1 al 20 % en peso, particularmente del 2 al 15 % en peso. Intervalos adecuados para el contenido de disgregante son también, por ejemplo, del 2 al 5 % en peso o del 15 al 20 % en peso, en función de los disgregantes, cargas y el resto de los aditivos que se usen.

10 Según la invención, la composición puede contener como lubricante uno o varios compuestos que favorezcan la preparación y el procesamiento de los comprimidos. Los lubricantes que pueden usarse son, entre otros, ácido esteárico y sus derivados, tales como estearato de calcio y, en particular, estearilfumarato de sodio (que, por ejemplo, puede obtenerse comercialmente con la denominación Pruv) y estearato de magnesio, mono-, di- y, en particular, tri-estearato de glicerol, aceite vegetal hidrogenado (por ejemplo Lubritab, Dynasan, Sterotext) o un polietilenglicol (por ejemplo Lutrol, Carbowax).

El contenido en lubricante es, habitualmente, del 0,1 al 4 % en peso, preferentemente del 0,2 al 4 % en peso.

15 Opcionalmente, la composición farmacéutica según la invención puede comprender uno o varios reguladores de flujo. Reguladores de flujo adecuados son trisilicato de magnesio, talco y, en particular, dióxido de silicio (por ejemplo, Aerosil). En el caso de que la composición comprenda un regulador de flujo, éste está presente, habitualmente, en una cantidad del 0,5 al 5 % en peso, preferentemente del 1 al 4 % en peso, en particular del 2 al 3 % en peso.

20 Las composiciones farmacéuticas según la invención también pueden contener, además, estabilizantes para el principio activo, tales como ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido láctico, etc., preferentemente ácido cítrico. El contenido de estabilizantes (en caso de que estén presentes) está, habitualmente, en el intervalo del 0,5 al 10 % en peso, preferentemente del 1 al 3 % en peso.

25 Las composiciones farmacéuticas según la invención pueden contener otros aditivos y coadyuvantes farmacéuticamente aceptables habituales, no conteniendo, preferentemente, sin embargo, otros aditivos diferentes a los indicados anteriormente (cargas, disgregantes, lubricantes y, dado el caso, reguladores de flujo y estabilizantes).

Algunas cargas tales como celulosa microcristalina también pueden servir como aglutinantes. También las cargas con función de aglutinante se consideran, por lo tanto, en el marco de la presente solicitud como cargas.

30 Si la composición farmacéutica según la invención está presente en forma de comprimidos, puede estar recubierta en forma de películas con uno o varios agentes de recubrimiento. Los agentes de recubrimiento que pueden usarse son hipromelosa (hidroxipropilmetilcelulosa), polivinilalcohol, carboximetilcelulosa de sodio y distintos polímeros de ácido metacrílico (eudragita), siendo preferentes hipromelosa y, en particular, eudragita. El recubrimiento de los comprimidos se realiza del modo habitual. En el recubrimiento pueden estar presentes, además del agente de recubrimiento, otros componentes habituales de recubrimientos de comprimidos tales como plastificantes, pigmentos, formadores de poros o estabilizantes de suspensiones tales como, por ejemplo, polietilenglicol (PEG), talco o dióxido de titanio y, dado el caso, lactosa.

35 El peso de los comprimidos no está particularmente limitado; habitualmente son comprimidos con 100 mg a 500 mg en el uso de principios activos puros y de 500 mg a 1.500 mg en el uso de extractos y polvos vegetales. En cápsulas se usan cantidades de 100 mg a 1.000 mg.

La unidad de dosificación del medicamento o suplemento nutricional puede contener, por ejemplo:

40 en el caso de formas farmacéuticas para administración oral:

preferentemente de 40 a 800 mg, de modo particularmente preferente de 300 a 600 mg, de extracto de rooibos por dosis diaria. En el uso del compuesto según la fórmula I, así como sus sales y ésteres farmacéuticamente aceptables, se usan de 1/100 a 1/20 de las cantidades anteriores. La dosis diaria puede administrarse diariamente, por ejemplo, en de 1 a 3 monodosis, preferentemente en dos monodosis.

45 en el caso de formas farmacéuticas de administración parenteral (por ejemplo intravenosa, subcutánea, intramuscular): preferentemente de 3 a 60 mg, de modo particularmente preferente de 10 a 30 mg, de principio activo por dosis diaria. La dosis diaria puede administrarse diariamente, por ejemplo, en de 1 a 3 monodosis, preferentemente en una monodosis.

en el caso de formas farmacéuticas para administración rectal:

50 preferentemente de 40 a 80 mg, de modo particularmente preferente 60 mg, de principio activo por dosis diaria. La dosis diaria puede administrarse diariamente, por ejemplo, en 1 a 3 monodosis, preferentemente en una monodosis.

en el caso de formas farmacéuticas para administración sobre la piel y mucosas (por ejemplo soluciones, lociones, emulsiones, pomadas, etc.):

preferentemente de 40 a 80 mg de principio activo, de modo particularmente preferente 60 mg de principio activo, por dosis diaria. La dosis diaria puede administrarse diariamente, por ejemplo, en de 1 a 6 monodosis, preferentemente en de 1 a 3 monodosis.

5 En caso de usar una sal farmacéuticamente aceptable debe adaptarse la cantidad usada correspondientemente de modo conocido por el experto.

Descripción de las figuras:

Figura 1: muestra la fórmula estructural de aspalatina (1) y de catequina(4 α ->2)-floroglucinol (2).

Figura 2: muestra la numeración de los átomos en el compuesto según la fórmula I.

10 **Figura 3:** muestra la asignación de las señales de RMN (resonancia magnética nuclear) con los átomos usando los números según la figura 2. Aclaración de las leyendas: *)/(**)/(+)/(++)/(§)/(§§)/(#)/(##) = los valores pueden intercambiarse entre sí, A), B) = la suma de la integral o del desplazamiento químico del grupo se indica sólo una vez.

Figura 4: muestra fragmentos de estructura A-D del compuesto según la fórmula I caracterizados por medio de análisis de RMN.

15 **Figura 5:** muestra la tabla 2 con datos de RMN de ¹³C del compuesto según la fórmula en comparación con aspalatina (1) y catequina(4 α ->2)-floroglucinol. Debido a datos erróneos de RMN de ¹³C de la bibliografía de aspalatina la asignación de las señales de aspalatina aislada por HWI ANALYTIK GMBH se realizó usando datos obtenidos de: Ho y col., Phytochemistry 1980, 19, 476-477. Los datos de catequina(4 α ->2)-floroglucinol se tomaron de Mathewis y col., J. Agric. Food. Chem. 1997, 45, 1195-1201. Aclaración de las leyendas: *)/(**)/(+)/(++)/(§)/(§§)/(#)/(##) = Los valores pueden intercambiarse entre sí.

20 **Figura 6:** muestra la determinación de las condiciones de ensayo en el caso de la administración de solución salina a ratas Fischer-344 tras la administración del compuesto según la fórmula I. En el eje y se muestra el tiempo en horas después de la administración. El eje x proporciona el intervalo de frecuencia según la transformada rápida de Fourier de los datos en: delta, theta, alfa1, alfa2, beta1 y beta2.

25 **Figura 7:** muestra la actividad de 3 mg/kg del compuesto según la fórmula I sobre frecuencias EEG hasta 5 horas después de la administración. Valor promedio de n=6 animales. Los asteriscos señalan la significancia estadística, calculada según Ahrens y Lauter, 1974. *=p<0,01; **=p<0,05; ***=p<0,025.

Figura 8: muestra la actividad de 6 mg/kg del compuesto según la fórmula I sobre frecuencias EEG hasta 5 horas después de la aplicación. Valor promedio de n=6 animales. Los asteriscos señalan la significancia estadística, calculada según Ahrens y Lauter, 1974. *=p<0,01; **=p<0,05; ***=p<0,025.

30 **Figura 9:** Actividad del compuesto de la formula I en comparación con sus componentes moleculares aspalatina, catequina o epicatequina. En el caso de administración aproximadamente equimolar la actividad se logra, no obstante, debido a la estructura única del compuesto según la fórmula I sólo y, sin embargo, no mediante partes de la molécula.

35 **Figura 10:** muestra la actividad de 6 mg/kg del compuesto según la fórmula I sobre frecuencias EEG durante las primeras horas después de la administración. Valor promedio de n=6 animales. Se observa la similitud con medicamentos que se usan para el tratamiento de demencia, enfermedad de Parkinson, depresiones y estados de dolor: L-DOPA (enfermedad de Parkinson); tacrina y galantamina (enfermedad de Alzheimer; nefopam (tratamiento de dolor).

40 **Figura 11:** muestra el resultado de la medición de motilidad que se ha llevado a cabo simultáneamente a la medición de los potenciales de campo. Los datos se dan en % del valor de partida antes de la toma de la sustancia. Solo la (-)epicatequina provoca un aumento claro de la motilidad.

Ejemplo 1 – aislamiento del compuesto según la fórmula I

Para la preparación a partir de la droga se usó rooibos verde no fermentado del fabricante Rooibos Ltd. Clanwilliam Sudáfrica.

45 Como material de partida se usan cuidadosamente hojas y/o puntas de ramas secadas hasta un contenido de humedad inferior al 10 % (mejor inferior al 4 %), no fermentadas y trituradas de *Aspalathus linearis*.

Este material bruto se extrae durante una hora con rotación a 60 °C con una mezcla de metanol y agua con una relación 50:50 (partes en volumen), siendo la relación material bruto:disolvente de 1:7. A continuación, se separa el líquido de las partes vegetales por filtración y las partes vegetales se extraen de nuevo del mismo modo y se filtran.

50 Ambos filtrados se purifican y se liberan del metanol a presión reducida (22 kPa) y 55 °C. La solución acuosa remanente se diluye con agua a 5 veces el peso de la cantidad usada de partes vegetales secas y se somete a una distribución líquido-líquido.

Se extraen con agitación 3 litros de solución acuosa 4 veces con 1,5 litros de n-butanol saturado de agua cada vez y las fases de butanol reunidas se llevan hasta sequedad a presión reducida. El rendimiento fue aproximadamente del 10 % de la cantidad usada de partes vegetales secas.

5 A continuación se lleva a cabo primeramente una separación gruesa y, a continuación, una separación fina del extracto de butanol.

Separación gruesa:

10 Se cromatografía aproximadamente 50 g de extracto de butanol a través de una columna Sephadex LH20 (6 cm de diámetro interno y 80 cm de altura total = Sephadex LH20 de 2.260 ml) con metanol al 50 % en volumen. Para ello se disuelven los 50 g de extracto de butanol en 400 ml de fase móvil y se disponen en la columna de separación. La columna se lava con un caudal de 1,8 ml/min hasta que se han recogido gota a gota 3 l de eluido. El relleno de la columna se recoge después de haber recogido gota a gota la fase móvil restante y se agita (se extrae) en 3 l de metanol al 100 % durante 10 minutos. La fase estacionaria se separa por filtración y el eluido se seca. El residuo proporcionó aproximadamente del 0,5 al 1 % de la cantidad usada de partes vegetales = extracto de metanol.

Primera separación fina:

15 Se cromatografía aproximadamente 4 g de extracto de butanol a través de una columna Sephadex LH20 (3,5 cm de diámetro interno y 50 cm de altura total = Sephadex LH20 de 480 ml) con metanol al 80 % en volumen. Para ello se disuelven los 4 g de extracto de butanol en 40 ml de fase móvil y se disponen sobre la columna de separación. En la columna se opera con un caudal de 2,4 ml/min y se recogen fracciones cada periodo de 10 minutos = 24 ml de eluido. La sustancia buscada se encuentra en las fracciones Nº 48-65. El rendimiento fue para 4 g de extracto de metanol de aproximadamente 0,5 a 1 g.

Segunda separación fina:

Columna de separación: 250 x 30 mm

Fase estacionaria: Reprosil C18 Aqua 10 µm

Fase móvil: metanol al 35 % (V/V) Caudal: 1,5 ml/min.

25 Tamaño de la fracción: 10 min = 15 ml

La sustancia I se encuentra en las fracciones 41 a 52.

Las fracciones reunidas 41 a 52 se liofilizan.

Rendimiento: aproximadamente 125 de sustancia I a partir de 4 g de extracto de metanol.

Pureza cromatográfica: aproximadamente 97 % (HPLC).

30 **Ejemplo 2** – aclaración de la estructura del compuesto según la fórmula I

El compuesto obtenido por medio de la separación mediante cromatografía en columna se caracterizó con los aparatos siguientes y se obtuvieron los valores de medición que se enumeran más adelante.

La figura 2 muestra la numeración de los átomos en el compuesto según la invención según la fórmula I. En la figura 3 se representa la Tabla 1 con la asignación de los datos de RMN.

35 Los datos de RMN se obtuvieron e interpretaron tal como se describe a continuación.

RMN de ^1H (d_6 -DMSO (dimetilsulfóxido))

El RMN de ^1H de la sustancia en DMSO proporcionó un espectro en el que mediante la adición de agua deuterada se pudieron identificar nueve protones fenólicos intercambiables y cinco protones de OH alifáticos mediante disminución de la señal (intercambio H/D).

40 Adicionalmente aparecen ocho protones en el intervalo olefínico de 5,5 a 8,0 ppm y nueve protones en el intercambio de desplazamiento típico para grupos $-\text{CH}_x\text{OH}/-\text{CH}_x\text{OR}$ ($x = 1, 2$). Se pueden identificar dos protones alifáticos en el intervalo alrededor de 2,7 ppm, otras señales alifáticas (3 protones) se superponen con las señales de $-\text{CH}_x\text{OH}/-\text{CH}_x\text{OR}$. Una parte de las señales aparecen duplicadas o ensanchadas. Algunas integrales corresponden, por lo tanto, nominalmente, sólo a un isómero, mientras que otras se integran conjuntamente para ambos isómeros.

RMN de ^{13}C :

El espectro de RMN de ^{13}C de la sustancia muestra para la mayor parte de los átomos de carbono una duplicación de señal. La relación de ambos isómeros varía ligeramente dependiendo del disolvente usado. Aparecen once

señales en el intervalo entre 25 y 90 ppm para átomos de carbono alifáticos y 24 grupos de señales en el intervalo típico para átomos de carbono olefínicos de entre 90 y 165 ppm. Una señal adicional a 205 ppm está solapada por el disolvente, pero de todas las maneras puede identificarse claramente en d_6 -DMSO. Debido a este solapamiento se llevaron a cabo todos los demás experimentos 2D en d_6 -DMSO.

- 5 La medición del espectro DEPT (Distorsionless Enhancement by Polarization Transfer, intensificación sin distorsión por transferencia de polarización) se realizó en d_6 -acetona. El espectro DEPT muestra además de tres grupos metileno un grupo metina alifático y siete señales -CHOH/- CHOR- en el intervalo de 65 a 85 ppm. Ocho señales adicionales entre 95 y 125 ppm están asignadas a grupos CH olefínicos. Por comparación con las señales de RMN de ^{13}C puede deducirse la presencia de 17 átomos de carbono cuaternario.

10 Correlación H/H (COSY(espectroscopía de correlación))

- El espectro de correlación proporciona sólo pocas señales valiosas, debido a que una gran parte de interacciones coinciden con el intervalo fuertemente solapado de 3,1 a 3,5 ppm. El grupo de señal H2" a H4" puede identificarse en el intervalo de 4,0 a 4,4 ppm, como también pueden identificarse claramente la correlación de las cadenas de alquilo H7 (2,7 ppm) a H8 (3,3 ppm). Partiendo de H1' a 4,7 / 4,8 ppm solo puede identificarse una correlación en el intervalo de 3,1 a 3,5.

15 Espectros de correlación C/H (HMQC (correlación heteronuclear múltiple cuántica), HMBC (correlación heteronuclear a múltiples enlaces))

A partir de los espectros de correlación a larga distancia (HMBC) se pueden deducir los protones adyacentes a átomos de carbono cuaternario y también la unión de los elementos estructurales individuales.

- 20 Mediante la asignación de las correlaciones directas también puede probarse si la asignación de la estructura es plausible.

Valoración de los datos obtenidos y comparación con los valores de la bibliografía

- 25 La muestra de acoplamiento de los protones en el intervalo de 6,8 a 6,4 ppm indica claramente dos sistemas aromáticos muy similares con sustituciones 1,3,4. Debido a los acoplamiento de los espectros HMBC y las desviaciones químicas de los átomos de carbono implicados (145 / 143 / 131 / 119 / 116 / 115 ppm) puede deducirse una estructura 3,4-dihidroxibencílica. Como sitios de contacto pueden identificarse a 2,7 ppm (30 ppm) (que corresponde a C7) y un grupo -CHOR a 4,4 ppm (82,5 ppm) (que se asigna a C2"). El fragmento con C7 puede prolongarse claramente a través del segundo grupo metileno (C8: 3,26 / 46,0 ppm) hasta cetona en C9 (205 ppm). No obstante, partiendo de C9 no puede reconocerse ninguna correlación posterior.

- 30 El fragmento que contiene C2" presenta una unión a otro grupo CHOR (4,1ppm/ 71 ppm).

El grupo metino a 4,3 ppm o 37,5 ppm puede asignarse mediante la correlación H/H de la señal de C4". Desde allí se pueden reconocer otros puntos de unión en dos señales en el intervalo de 103 a 105 ppm que pueden asignarse a C14 o C10" y a un grupo CHOR.

- 35 El grupo de señales a 5,7 ppm (2 H, 94 ó 96 ppm) muestra sólo un pequeño acoplamiento meta (<3 Hz) y puede asignarse a un compuesto aromático tetrasustituido en 1,3,5,6 con 3 funciones oxígeno con otras señales a 163 / 161 / 158 y 103 ppm. Debido al diferente desplazamiento puede deducirse una sustitución simétrica.

- 40 Los seis grupos -CH_xOH / -CHOR todavía no asignados pueden asignarse claramente, debido a que todas las señales de protones, varias directas y casi todas de acoplamiento a larga distancia se solapan en el grupo de señales de alrededor de 3,3 ppm. A partir de los desplazamientos químicos de los átomos de carbono puede deducirse, no obstante, con una gran seguridad la presencia de una cadena lateral de carbohidrato.

La conectividad de las seis señales remanentes en el intervalo aromático no puede aclararse de manera inequívoca, debido a que se trata de seis señales cuaternarias. Tampoco puede deducirse a partir de los espectros HMBC.

Con ello se obtiene como resultado los elementos estructurales **A a D** siguientes según la figura 4.

- 45 Mediante una observación más detallada pueden construirse dos sustancias naturales a partir de estos elementos estructurales. Así, se obtiene como resultado la unión de i con iii una catequina/epicatequina sustituida en la posición C4", mientras que mediante la unión de iv con vii y de v con viii se forma un derivado de aspalatina sustituida en la posición C14. Ambas sustancias son conocidas de la infusión de rooibos. Las uniones abiertas remanentes C14 y C4" se habían identificado ya en el transcurso de la asignación de elementos como enlazadas.

- 50 Una comparación de los datos de RMN de ^{13}C de aspalatina y una catequina sustituida en C4" con el compuesto según la fórmula I (figura 5) proporciona una buena coincidencia de los valores correspondientes. La presencia de isómeros conformativos (atropisómeros, isómeros de rotación) pueden aclararse bien por el impedimento de la rotación libre alrededor de la unión C14/C4".

Se ha renunciado a una comparación de los datos de RMN de ^1H , ya que mediante el solapamiento de la señal y la duplicación de la señal, que sucede con la presencia de isómeros de rotación, se obtiene un espectro complejo para el compuesto de la fórmula I.

5 Ya que hasta la fecha la sustancia no esta descrita en la bibliografía, se probó la posibilidad de asignación mediante un programa de simulación (ACD/C+H NMR Predictor V.10.02). La similitud fue muy buena al comparar los datos de RMN de ^{13}C .

La asignación de los tres estereocentros no conocidos del carbohidrato no es posible con claridad, se realiza sobre la base de la analogía estructural y se asigna como configuración catchinoide *all* trans y como configuración β -gluco.

Espectro de masas

10 instrumento: Micromass Quattro micro API (Fa. Waters); CL-EM

Procedimiento: Ionización por electropulverización (ESI) / ionización secundaria EI

Resultados

15 En el espectro ESI aparece un catión radical molecular a m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ y un ión de agrupación a $m/z = 763$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$. Otros fragmentos aparecen a $m/z = 453$ $[\text{M} - \text{catequina}]^+$ y 289 $[\text{M} - \text{catequina} - \text{glucósido}]$. La sustancia tiene asignada una masa de 740.

Espectro UV

El registro del espectro UV de la sustancia se realizó en el marco del análisis de pureza cromatográfica con HPLC y detección de diodos (DAD) (sistema de separación 1).

Resultados

20 El espectro UV muestra un máximo de absorción a 285 nm y una referencia a 228 nm.

Ejemplo 3 – análisis tele-stereo-EEG

La modificación de las frecuencias de EEG (electroencefalografía) se determinó tras la administración de solución salina (control) o del compuesto de fórmula I de forma oral (3 ó 6 mg/kg de peso corporal).

25 Los análisis se realizaron siguiendo de forma análoga al procedimiento descrito por W. Dimpfel (Dimpfel, W., Preclinical data base of pharmaco-specific rat EEG fingerprints (Tele-Stereo-EEG). Eur. J. Med. Res. (2003) 8: 199-207):

30 Se implantó a seis ratas adultas macho Fischer-344 (convertidas a un ciclo de día-noche) de 6 seis meses de edad 4 electrodos concéntricos bipolares junto con una microclavija en una placa base conjunta. La clavija servía para acoger un emisor de 4 canales para la transmisión telemétrica de los potenciales de campo derivados del córtex frontal, el hipocampo, el estriato y la formación reticular. Las señales se sometieron en un sistema informático (programa informático "EEG-Analyse", sistema operativo OS Science, ordenador de laboratorio "LabTeam" de la empresa MediSyst, Linden, Alemania) en tiempo real a una transformación rápida de Fourier y los espectros de densidad de potencia se promediaron en cada caso sobre 60 minutos. La subdivisión de los espectros en 6 intervalos de frecuencia diferentes permitió la obtención de modificaciones específicas de fármaco con relación a los valores previos medidos dentro de estas bandas de frecuencia, en cada caso, antes de la aplicación.

35 Para el protocolo de administración de las sustancias: las sustancias se administraron oralmente 45 minutos después del comienzo de las mediciones (valores previos). Cinco minutos después se iniciaron de nuevo las mediciones, se analizaron continuamente al menos durante los siguientes 5 horas y se reunieron en periodos de 60 minutos. La sustancia de ensayo se administra con una dosificación de 3 y 6 mg/kg (compuesto de la fórmula I). La serie experimental se inició con la toma de solución salina (control) que no provoca ninguna modificación relevante (Fig. 6).

40 La comparación estadística de los ensayos con los resultados que se midieron después de la toma de solución salina se realizó usando un análisis de múltiples variantes según Ahrens y Lauter (véase H. Ahrens, J. Lauter "Mehrdimensionale Varianzanalyse" (1974), Akademie Verlag, Berlín, Alemania) sobre la base de las modificaciones dentro de las bandas de frecuencia individuales en todas las regiones cerebrales como variables.

La administración de solución salina provocó pocas modificaciones de la actividad eléctrica ($\mu\text{V}^2/\Omega$) en comparación con los valores de las fases previas (Fig. 6).

50 La administración del compuesto según la fórmula I condujo a modificaciones estables de la densidad de potencia en todas las regiones cerebrales, sobre todo durante la segunda y la tercera hora después de la administración (véanse las figuras 7 y 8), diferenciándose significativamente las modificaciones de las que se obtuvieron tras la toma de solución salina a pesar del reducido número de animales. En el caso de una administración equimolar de

5 aspalatina, catequina o epicatequina puede lograrse la actividad debido a la estructura individual única solo con el compuesto según la fórmula I y, sin embargo, no mediante parte de la molécula (Fig. 9). Esto puede atribuirse a la estructura de unión particular de la nueva molécula descubierta. De todas las maneras, se observó un aumento de la motilidad en presencia de (-)-epicatequina (Fig. 11) y, sin embargo, no en presencia del compuesto según la fórmula I. Esto acentúa la actividad independiente del compuesto según la fórmula I.

10 La administración oral del compuesto según la fórmula I como monodosis provoca modificaciones de la actividad eléctrica cerebral en los animales de ensayo, que corresponden a las modificaciones obtenidas tras la toma de metanicotina, galantamina, tacrina, L-DOPA o nefopam. Esta muestra se correlaciona de un modo llamativo con las muestras para medicamentos que ya se usan habitualmente para el tratamiento de demencia, enfermedad de Parkinson y estados de dolor (véase la figura 10) y, sin embargo, no con muestras que aparecen en el caso de medicamentos para otras indicaciones (Fig. 11).

15 Los cambios de frecuencia observados se compararon por medio de un análisis discriminante con los resultados de medicamentos para el tratamiento de enfermedades psiquiátricas del cerebro y también con medicamentos para otras indicaciones. Por ejemplo, pueden enumerarse los principios activos: galantamina, nefopam, LSD, metanicotina, cafeína, tacrina, ácido acetilsalicílico, metadona, metamizol, fentanilo, fluvoxamina, clorpromazina, haloperidol, metohexital, meprobamato, midazolam, ácido valproínico y carbamezepina.

Los resultados de un análisis discriminante sobre la base de cuatro regiones cerebrales y 6 bandas de frecuencia (24 variables) mostraron que la actividad del compuesto según la fórmula I se encuentra próxima a la de galantamina, tacrina y nefopam.

20 **Ejemplo 4** – procedimiento de medición para la determinación del contenido de compuesto según la fórmula I

El contenido del compuesto según la fórmula I en rooibos y composiciones obtenidas a partir de rooibos (infusión, extracto, comprimidos) se determina por medio de HPLC/DAD según el procedimiento de los patrones externos. Para determinar el contenido se usa la sustancia del compuesto según la fórmula I como patrón externo. La valoración se realiza a 280 nm de longitud de onda de detección. Para evitar un proceso de oxidación de la solución de análisis, se añade a las muestras ácido ascórbico.

El aparato de HPLC usado preferente es Acquity UPLC/Alliance 2695; Detector: DAD, 200 a 400 nm; columna: Reprosil-Pur ODS-3, 125 x 3 mm, 3 mm, empresa Dr. Maisch; temperatura de columna: 60 °C.

Eluyente: eluyente A: agua/ácido fórmico 100/0,2 (V/V);

eluyente B: acetonitrilo/metanol/agua/ácido fórmico 50/25/25/0,2 (V/V/V/V).

30 Volumen de inyección: 20 µl.

Tiempo de ejecución: 95 min.

Tiempo de retención del compuesto según la fórmula I: 39,5 min.

Tabla 1 (gradiente)

Tiempo (min)	Caudal (ml/min)	Eluyente A %	Eluyente B %	Aumento de gradiente
0	0,3	100	0	
40	0,3	70	30	lineal
60	0,5	20	80	lineal
80	0,5	20	80	lineal
81	0,3	100	0	
95	0,3	100	0	

35 Como solución patrón se usa:

Se disuelven 1 mg del compuesto según la fórmula I, pesado con exactitud, y aproximadamente 20 mg de ácido ascórbico en 2 ml de metanol y se completa con agua hasta 20,00 ml.

Concentración de referencia: 0,05 mg/ml del compuesto según la fórmula I y 1 mg/ml de ácido ascórbico.

Como solución de análisis se usa:

40 Formulación de medicamento:

La muestra que se va a analizar, por ejemplo un comprimido, se pulveriza en un molino y se criba a través de un tamiz con ancho de malla de 250 µm.

5 Se pesan aproximadamente 0,5 g de muestra pulverizada junto con aproximadamente 50 mg de ácido ascórbico con exactitud en un matraz aforado de 50 ml, se añaden 10 ml de metanol a 40 °C y se extrae en un baño de ultrasonidos a 40 °C durante 10 min. A continuación se rellena con agua hasta la marca, se agita vigorosamente y, de nuevo, se extrae en baño de ultrasonidos a 40 °C durante 10 min. Después de enfriar, dado el caso, se rellena con agua hasta la marca y la solución se centrifuga durante 5 min a 9.300 g. El sobrenadante se filtra a través de un filtro de membrana de 0,45 µm directamente a un frasco de vidrio marrón para el muestreador del equipo de HPLC.

Agente de extracción del extracto seco: agua:

10 Se pesan aproximadamente 125 mg de extracto de rooibos junto con aproximadamente 25 mg de ácido ascórbico en un matraz aforado de 25 ml, se añaden aproximadamente 22 ml de agua, se agita vigorosamente, dado el caso se trata en un baño de ultrasonidos y se rellena con agua hasta la marca.

Agente de extracción del extracto seco distinto de agua:

15 Se pesan aproximadamente 125 mg de extracto de rooibos junto con aproximadamente 25 mg de ácido ascórbico en un matraz aforado de 25 ml, se añaden aproximadamente 2,5 ml de metanol y se trata durante 10 min en un baño de ultrasonidos. A continuación se rellena con agua hasta la marca, se agita vigorosamente y, de nuevo, se trata en un baño de ultrasonidos durante 10 min. Valoración:

20 La solución patrón y la solución de análisis se cromatografían directamente una detrás de otra en las mismas condiciones. Los espectros UV de la sustancia de referencia se comparan con la sustancia detectada en el cromatograma de análisis con el mismo tiempo de retención y se calcula como compuesto según la fórmula I por la coincidencia del pico según la fórmula de cálculo siguiente:

Contenido [%] =

superficie de pico de análisis · dilución de la solución de análisis (ml) · peso del patrón (mg) · 100

25 **superficie de pico del patrón · dilución de la solución patrón (ml) · peso del análisis (mg)**

Ejemplo 5A – Formulaciones de monopreparados del compuesto según la fórmula I

30 La expresión "compuesto I" en los **ejemplos** designa todos los compuestos según la fórmula I y sus sales y ésteres farmacéuticamente aceptables.

Comprimidos recubiertos con película:

Compuesto I	50 mg
Ácido ascórbico	60 mg
35 Sorbitol en polvo (Karion Instant)	120 mg
Aerosil (dióxido de silicio muy disperso)	3 mg
Coadyuvante de compresión K	2,8 mg
	235,8 mg

40 Película:

Goma laca	3,5 mg
Etanol (disolvente para la goma laca)	97 % aproximadamente 70 mg

Cápsulas de gelatina dura:

45 Masa de relleno de la cápsula:

Compuesto I	20 mg
-------------	-------

Ácido ascórbico	60 mg
Maltodextrina	120 mg
Aerosil (dióxido de silicio muy disperso)	2 mg
Estearato de magnesio	1,5 mg

5

Ejemplo 5B – Formulaciones de monopreparados con extracto que contiene el compuesto según la fórmula I

Comprimidos recubiertos con película:

	Extracto (con compuesto según la fórmula I) (1 %)	150 mg
10	Ácido ascórbico	60 mg
	Sorbitol en polvo (Karion Instant)	80 mg
	Aerosil (dióxido de silicio muy disperso)	3 mg
	Coadyuvante de compresión K	2,5 mg
		295,5 mg

15

Película:

	Goma laca	4,2 mg
	Etanol (disolvente para la goma laca)	97 % aproximadamente 84 mg

20 Cápsulas de gelatina dura:

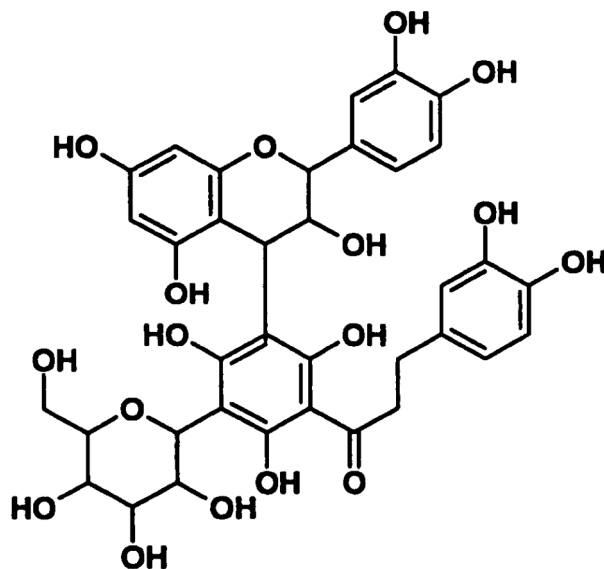
Masa de relleno de la cápsula:

	Extracto (con compuesto según la fórmula I) (1 %)	150 mg
	Ácido ascórbico	40 mg
	Maltodextrina	20 mg
25	Aerosil (dióxido de silicio muy disperso)	1 mg
	Estearato de magnesio	1,5 mg
		212,5 mg

30

REIVINDICACIONES

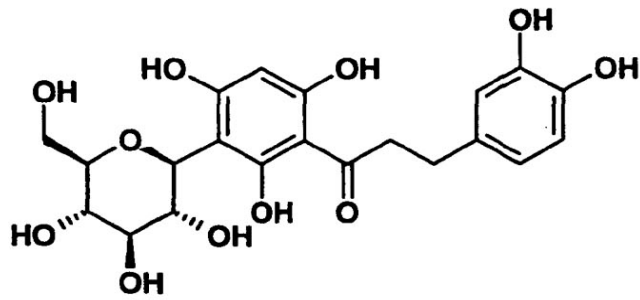
1. Compuesto de la fórmula I



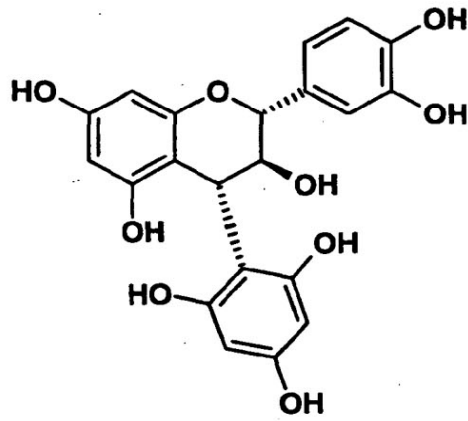
- 5 así como sus sales y ésteres farmacéuticamente aceptables, que puede obtenerse a partir de rooibos no fermentado.
2. Extracto de rooibos, **caracterizado porque** presenta un contenido del compuesto según la fórmula I de al menos el 0,4 % en peso.
3. Extracto de rooibos según la reivindicación 2, **caracterizado porque** el extracto de rooibos se obtiene a partir de rooibos no fermentado.
- 10 4. Procedimiento para preparar el compuesto de la fórmula I, **caracterizado porque**
- se extrae un material bruto de rooibos no fermentado, secado y triturado, con un agente de extracción constituido por metanol y/o agua durante un periodo de extracción predeterminado a una temperatura de hasta 60 °C,
 - el extracto se filtra y, a continuación, se concentra a sequedad a presión reducida y a continuación
 - se purifica por medio de tres etapas de separación cromatográfica usando dos columnas Sephadex LH20 y, a continuación, una columna de HPLC lipófila c18.
- 15 5. Suplemento nutricional, **caracterizado porque** contiene extracto de rooibos según la reivindicación 2 ó 3 en una cantidad de al menos 100 mg/g de suplemento nutricional.
6. Suplemento nutricional según la reivindicación 5, **caracterizado porque** contiene al menos 1 mg del compuesto de fórmula I por g de suplemento nutricional.
- 20 7. Uso de los compuestos según la reivindicación 1 o de un extracto de rooibos según la reivindicación 2 ó 3 para la preparación de un medicamento o un suplemento nutricional.
8. Uso de compuestos según la reivindicación 1 o de un extracto de rooibos según la reivindicación 2 ó 3 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de trastornos neurológicos y psiquiátricos del sistema nervioso central.
- 25 9. Uso según la reivindicación 8, siendo los trastornos neurológicos y psiquiátricos del sistema nervioso central demencias, enfermedad de Parkinson, depresiones y estados de dolor.
10. Uso según la reivindicación 9, siendo el trastorno del sistema nervioso central la enfermedad de Alzheimer.

FIGURAS

Figura 1



(1)



(2)

Figura 3

Tabla 1

	RMN de ^{13}C (δ en ppm)	RMN de ^1H . [δ en ppm, integral, multiplicidad (J en Hz)]
C1	130,7 / 130,6 ⁺	-
C2	115,6 ^{SS)}	6,46 (4 H, m) ^{A)}
C3	143,3 ^{#)}	-
C4	145,0 ^{#)}	-
C5	115,0 ^{SS)}	A)
C6	119,0 ^{S)}	6,46 (1 H, m)
C7	29,8	2,73 (2 H, t, 7,7) / 2,67 (2 H, t, 7,3)
C8	46,1 / 45,9	3,26 (2 H, m)
C9	205,1	-
C10	110,7 / 110,7 ⁺⁺⁾	-
C11	155,9 / 155,8 ^{##)}	-
C12	105,2 / 104,9 ⁺⁺⁾	-
C13	156,2 ^{##)}	-
C14	104,8 / 104,0 ⁺⁺⁾	-
C15	157,2 ^{##)}	-
C1'	76,0 / 75,5	4,83 (d, 9,8) / 4,68 (d, 9,6)
C2'	81,4 / 81,2 ⁾	3,29 (4 H, m) ^{B)}
C3'	77,8 ⁾	B)
C4'	73,7 / 73,2 ⁾	B)
C5'	69,1 / 68,9 ⁾	B)
C6'	60,0 / 59,8	3,61 (2 H, m)
C2''	82,5	4,41 (1 H, d, 8,5) / 4,32 (1 H, d, 8,2)
C3''	71,1 / 70,9	4,10 (1 H, m)
C4''	37,6 / 37,4	4,30 (1 H, d, 9,7) / 4,26 (1 H, d, 9,8)
C5''	158,3 / 157,5 ^{##)}	-
C6''	94,5 / 94,4 ^{")}	5,66 (1 H, "t", 2,5) ^{")}
C7''	161,9 / 160,0 ^{##)}	-
C8''	96,3 / 69,1 ^{")}	5,7 (1 H, "t", 2,6) ^{")}
C9''	163,0 ^{##)}	-
C10''	103,6 / 103,4 ⁺⁺⁾	-
C1'''	132,6 / 132,6 ⁺⁾	-
C2'''	115,9 / 115,8 ^{SS)}	A)
C3'''	144,8 / 144,7 ^{#)}	-
C4'''	145,0 ^{#)}	-
C5'''	115,4 / 115,1 ^{SS)}	6,81 (1 H, d, a) ^{SS)}
C6'''	119,5 / 119,3 ^{S)}	A)

Figura 4

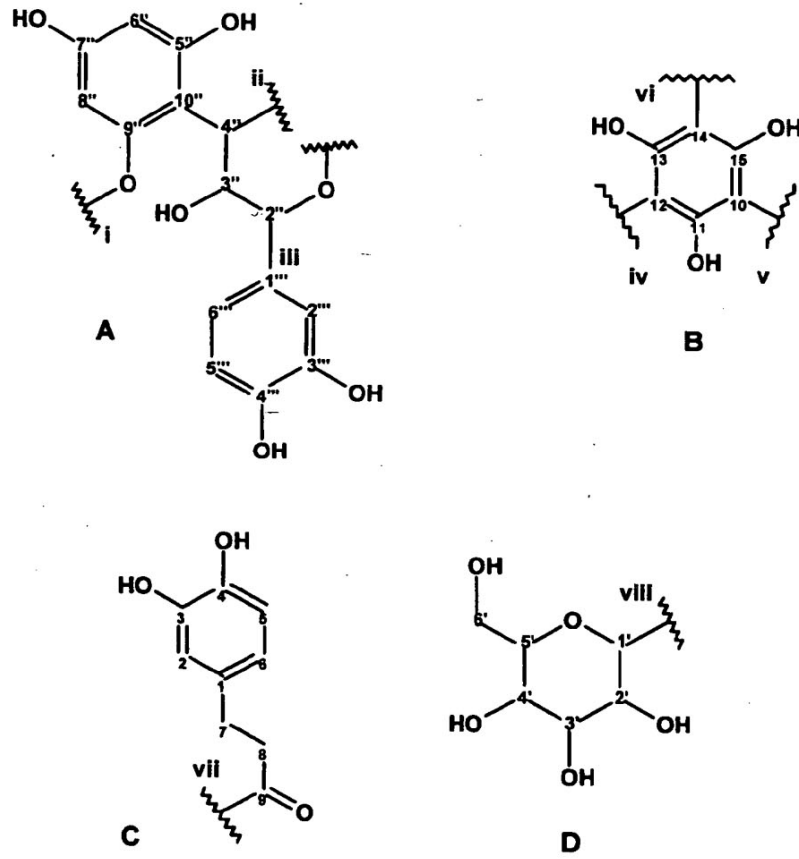


Figura 5

Tabla 2

	Compuesto según la fórmula I (δ en ppm, DMSO)	Aspalatina (δ en ppm, DMSO)	Catequina-(4 α ->2)- floroglucinol (δ en ppm, acetona)
C1	130,7 / 130,6 ^{+))}	132,5	
C2 / C5	115,6 ^{§§)} // 115,0 ^{§§)}	115,8 // 115,6	
C3 / C4	145,0 ^{#)} // 143,3 ^{#)}	145,0 / 143,3	
C6	119,0 ^{§)}	118,9	
C7	29,8	29,8	
C8	46,1 / 45,9	45,5	
C9	205,1	204,5	
C10	110,7 / 110,7 ⁺⁺⁾	104,1	
C11	155,9 / 155,8 ^{##)}	164,7	
C12	105,2 / 104,9 ⁺⁺⁾	103,8	
C13	156,2 ^{##)}	163,6	
C14	104,8 / 104,0 ⁺⁺⁾	94,8	
C15	157,2 ^{##)}	161,7	
C1'	76,0 / 75,5	73,8	
C2'	81,4 / 81,2 ^{))}	81,3	
C3'	77,8 ^{))}	79,0	
C4' / C5'	73,7 / 73,2 ^{))} // 69,1 / 68,9 ^{))}	70,9 / 70,5	
C6'	60,0 / 59,8	61,3	
C2''	82,5		82,2
C3''	71,1 / 70,9		70,8
C4''	37,6 / 37,4		36,4
C5'' / C7'' / C9''	158,3 / 157,5 ^{##)} // 161,9 / 160,0 ^{##)} // 163,0 ^{##)}		156,8 - 155,6 (3x C)
C6'' / C8''	96,3 / 96,1 ^{))} // 94,5 / 94,4 ^{))}		95,5 (2x)
C10''	103,6 / 103,4 ⁺⁺⁾		104,0
C1'''	132,6 / 132,6 ^{+))}		130,7
C2'''	115,9 / 115,8 ^{§§)}		113,8
C3''' / C4'''	144,8 / 144,7 ^{#)} // 145,0 ^{#)}		143,6 / 143,5
C5'''	115,4 / 115,1 ^{§§)}		114,1
C6'''	119,5 / 119,3 ^{§)}		119,0

Figura 6

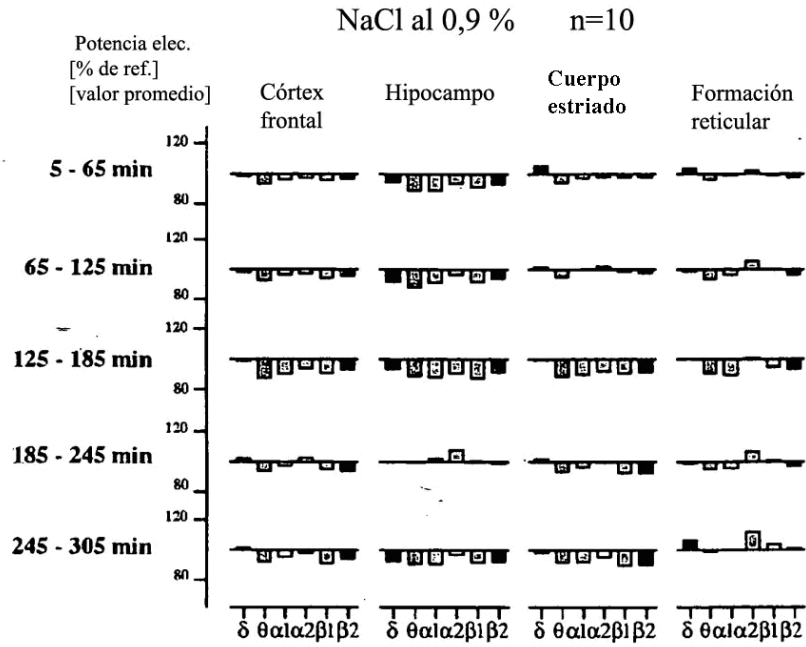


Figura 7

Compuesto según la fórmula I 4,06 mmol/kg n=6

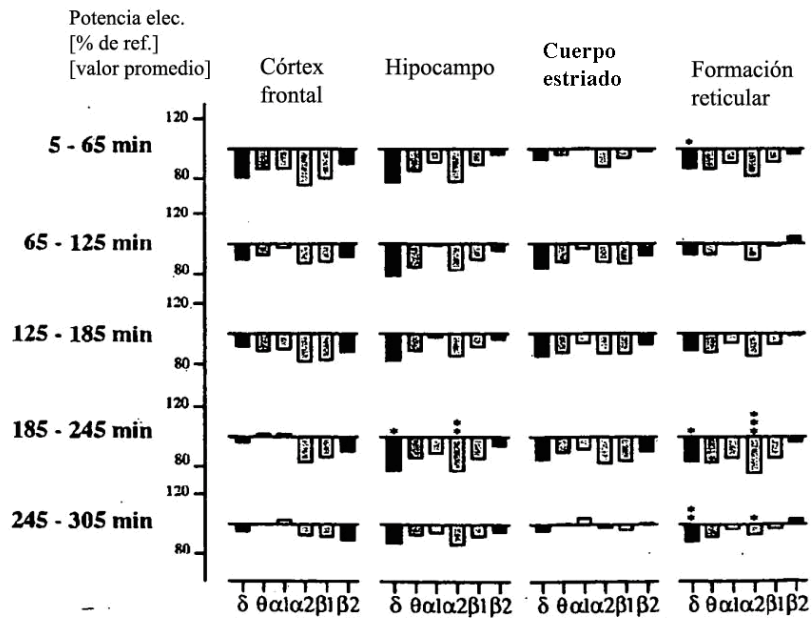


Figura 8

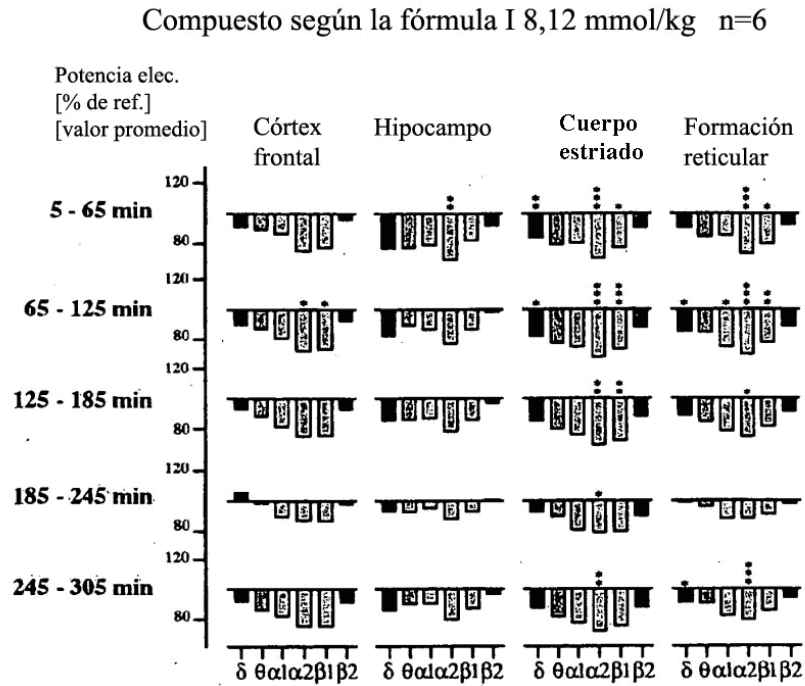


Figura 9

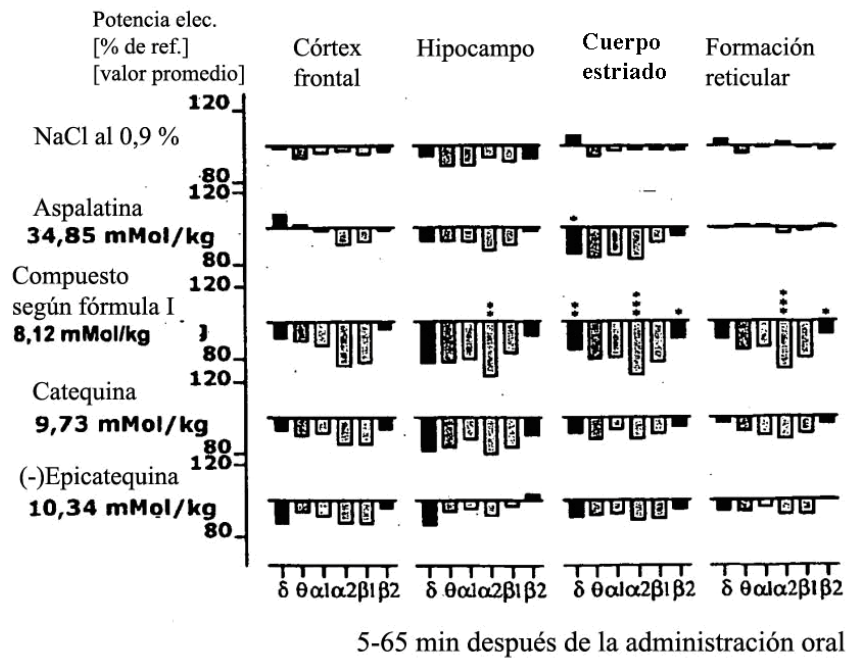


Figura 10

