

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 436 666**

51 Int. Cl.:

A61K 36/53 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.12.2010 E 10800741 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.10.2013 EP 2515922**

54 Título: **Extractos de plantas para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas**

30 Prioridad:

23.12.2009 EP 09180627

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

03.01.2014

73 Titular/es:

**FINZELBERG GMBH & CO. KG (100.0%)
Koblenzer Strasse 48-56
56626 Andernach, DE**

72 Inventor/es:

**WALBROEL, BERND;
FEISTEL, BJÖRN y
PAHNKE, JENS**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 436 666 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

Extractos de plantas para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas

La presente invención se refiere a extractos de plantas y a su uso.

5 Las enfermedades neurodegenerativas con depósitos de proteínas comprenden un amplio espectro de cuadros clínicos. Estos se caracterizan por concentraciones patológicamente anormales, globales o locales, de proteínas o fragmentos de proteínas (péptidos) y, con ello, por la formación de precipitados o agregaciones que, dado el caso, producen, mediante una dimerización u oligomerización previa, estructuras ordenadas (por ejemplo, fibrillas) y que incluso pueden formar estructuras proteicas cristalinas (por ejemplo, placas de β -amiloides en la enfermedad de Alzheimer).

10 Entre otras cosas, detrás de estas patologías se esconden enfermedades tales como corea de Huntington, en la que se acumula huntingtina y se deposita en regiones centrales del cerebro. La ataxia espinocerebelosa de tipo 2 (SCA2) es una enfermedad neurodegenerativa de la que es responsable la proteína ataxina-2 y se ha detectado en forma aglomerada. En el caso de demencia de corpúsculos de Lewy (LBD) se determina patofisiológicamente la forma aglomerada de la proteína α -sinucleína, que también reúne cuadros clínicos tales como enfermedad de Parkinson y atrofia multisistémica (MSA) en el grupo de las "sinucleinopatías". Otro grupo de enfermedades neurodegenerativas lo forman las tauopatías, en las que la proteína citoesquelética proteína Tau se condensa formando estructuras fibrilares (PHF o marañas).

20 Un grupo amplio de dichos precipitados de proteínas se observa en la amiloidosis. A este respecto aparecen grandes cantidades de proteínas anormalmente modificadas que se depositan como fibras pequeñas (fibrillas) no solubles. En el caso de la amiloidosis esto se basa, por ejemplo, en una alteración del plegamiento de una proteína normalmente soluble. Estas proteínas se condensan en caso de concentraciones anormales dando estructuras de lámina β plegada y, finalmente, forman fibrillas.

25 Debido a que las fibrillas son relativamente resistentes frente a mecanismos de defensa del organismo (fagocitosis y proteólisis), no pueden eliminarse totalmente de los órganos afectados. Estos depósitos destruyen después la arquitectura del órgano y provocan, de este modo, desde mal funcionamiento hasta un fallo total. Las amiloidosis son un proceso patológico de formación de depósitos que puede desencadenarse por distintos defectos metabólicos y según el órgano afectado causar distintas alteraciones o enfermedades crónicas.

30 Una manifestación especial de la amiloidosis es la amiloidosis senil, que afecta principalmente al corazón y al cerebro. Actualmente, esta forma de amiloidosis se describe inmunohistoquímicamente como amiloidosis AS. Este término se refiere a todas las proteínas amiloides que tienen como consecuencia una amiloidosis senil. Aunque en muchos casos las proteínas inductoras no están aún caracterizadas, se relaciona una aparición frecuente con la enfermedad de Alzheimer.

35 Otra enfermedad degenerativa periférica con depósito de proteínas es, por ejemplo, la miositis por cuerpos de inclusión (Inclusion Body Myositis). En la misma se encuentran moléculas/péptidos depositados dentro de fibras musculares que se relacionan también con procesos degenerativos de órganos dispuestos en otro sitio, tales como, por ejemplo, proteínas β -amiloides y priones. Estas últimas se consideran, entre otros factores, responsables de procesos de inflamación de músculos en la IBM.

40 La enfermedad de Alzheimer (Alzheimer Disease en inglés), también denominada demencia de Alzheimer, con la abreviatura internacional AD, es una enfermedad neurodegenerativa que en su forma más frecuente se manifiesta en personas mayores de 65 años y en el año 2007 fue responsable de aproximadamente 29 millones de enfermos de demencia. [R. Brookmeyer y col.: Forecasting the global burden of Alzheimer's disease. En: Alzheimer's and Dementia. 3/2007, volumen 3, páginas 186-191]. Con el progreso de la enfermedad empeoran las capacidades cognitivas, lo que puede ser causa de problemas de comportamiento y alteraciones de la personalidad. En el cerebro de los afectados pueden encontrarse las denominadas placas, que están constituidas por péptidos β -amiloides (A β). Hasta la fecha no se han podido encontrar causas claras para las variantes esporádicas de la enfermedad, pero se han relacionado con la AD familiar mutaciones génicas en tres genes distintos. También se han responsabilizado genotipos de alelos de la apolipoproteína E (ApoE), especialmente de la ApoE4, de un aumento del riesgo de enfermar de AD. [Corder, E.H. y col. (1993): Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. En: Science. 261 (5123) : 921- 923] [Bu, G. (2009) : Apolipoprotein E and its receptors in Alzheimer's disease: pathways, pathogenesis and therapy. En: Nat. Rev. Neurosci. 10 (5) : 333- 344.] También debido al desarrollo demográfico con un envejecimiento creciente de la población, enfermarán en los próximos decenios incluso más personas de AD. La prevalencia de Alzheimer aumenta del 2 % para las personas de 65 años al 20 % en caso de personas de 85 años. Los pronósticos prevén para el año 2050 una prevalencia de más de 100 millones de pacientes. Esta cantidad de pacientes representa, por lo tanto, una carga significativa para la comunidad. Un retraso en la patogénesis de aproximadamente 5 años podría aplazar el drama individual hasta la muerte natural y también reducir claramente los costes esperados para la economía pública.

Observando el mecanismo patológico con más detalle, en el cerebro de pacientes con Alzheimer se encuentran las denominadas placas seniles y marañas fibrilares (NFT). Los depósitos de proteínas de las placas están constituidos

esencialmente por péptidos β -amiloideos. Las marañas de neurofibrillas presentes intracelularmente están constituidas por la proteína Tau. Esta se agrega dando fibrillas cuando está fosforilada más intensamente de lo normal es decir, cuando está ocupada con restos de ácido fosfórico (hiperfosforilación). No está claro si esta fosforilación tau es de naturaleza secundaria o desencadenante de la enfermedad. Con el transcurso de la enfermedad la masa cerebral se reduce debido a la muerte de neuronas; se habla entonces de una atrofia cerebral. Además, no se produce más el neurotransmisor acetilcolina en cantidades suficientes, lo que causa un debilitamiento general de la potencia del cerebro.

Los péptidos $A\beta$ se generan a partir de una proteína precursora, la proteína precursora de amiloide (APP), que es una proteína de membrana integral. Esta es una proteína transmembrana de tipo I: Su extremo amino-terminal grande se encuentra en la parte exterior de la célula, mientras que su extremo carboxi-terminal más pequeño se encuentra dentro de la célula. La APP es degradada por enzimas proteolíticas, las denominadas secretasas (α -secretasa, β -secretasa y γ -secretasa), por lo que la liberación del péptido $A\beta$ puede provenir de la proteína precursora. Básicamente existen dos modos en que puede degradarse la APP. El modo no amiloidógeno: La APP es escindida por una α -secretasa. Esta escisión tiene lugar dentro de la parte de APP que contiene la $A\beta$. Con ello se impide la formación de $A\beta$. Se produce la liberación de una porción extracelular grande, cuya función no se ha aclarado definitivamente. El modo amiloidógeno: La APP es escindida en primer lugar de la β -secretasa y a continuación de la γ -secretasa. Esta escisión, que se realiza dentro del dominio transmembrana, causa la liberación de $A\beta$. Ambos procesos pueden tener lugar paralelamente en células nerviosas. Los péptidos $A\beta$ formados mediante β - y γ -secretasa varían en su longitud. El tipo principal ($A\beta$ -40) tiene 40 aminoácidos de longitud, mientras que una proporción más reducida ($A\beta$ - 42) tiene 42. La longitud del $A\beta$ tiene una importancia patológica fundamental, ya que la $A\beta$ -42 más larga tiene esencialmente una tendencia superior a la agregación que la $A\beta$ -40 más corta.

Existen causas genéticas que pueden provocar la enfermedad de Alzheimer. Aproximadamente del uno al cinco por ciento de los afectados muestran un historial familiar (familiar alzheimer's disease (FAD)) basado en mutaciones del gen de presenilina-1 del cromosoma 14, del gen de presenilina-2 del cromosoma 1 o del gen de APP del cromosoma 21. El síndrome de Down con su sistema triple de material genético del cromosoma 21, en el que se encuentra el gen de APP, aumenta también el riesgo de enfermar de una demencia, eventualmente la enfermedad de Alzheimer, complicando la determinación psicodiagnóstica en personas con esta mutación genómica mediante una alteración cognitiva en la mayor parte de los casos ya presente de forma temprana.

En el caso de la enfermedad de Alzheimer se destruye además la función de las mitocondrias. Un bloqueo de la cadena respiratoria en el complejo IV puede producir una sobreproducción de radicales, que dañan la célula. Si este bloqueo es la consecuencia de una sobreproducción de $A\beta$ o si se sobreproduce $A\beta$ como antioxidantes contra este estrés oxidativo de nueva generación, no está claro hasta la fecha. Para impedir, dado el caso, una producción de $A\beta$ generadora de radicales, pueden usarse extractos antioxidantes.

Los transportadores ABC forman una familia amplia de proteínas de membrana que transportan sustratos específicos de forma activa a una membrana celular. Los transportadores ABC pertenecen a los transportadores activos primarios por una parte y a las ATPasas presentes en la membrana por la otra. La superfamilia de transportadores ABC comprende una de las familias de proteínas más amplias conocidos, con miembros en casi todos los organismos, de bacterias a plantas y a mamíferos. Se han considerado en los últimos años los transportadores ABC, a la luz de intereses, ya que se ha reconocido que tienen una importancia médica, industrial y económica considerable. Cada año mueren cientos de decenas de personas de cáncer porque la quimioterapia ha fracasado debido a la intensa expresión de transportadores ABC en tejidos tumorales. En seres humanos, pueden provocar mutaciones en un gen, que codifica un transportador ABC, diferentes enfermedades metabólicas. Todos los transportadores ABC eucariotas son exportadores. Algunos son muy específicos del sustrato, otros son multiespecíficos. Los transportadores ABC transportan, entre otras cosas, también β -amiloide y se consideran, por lo tanto, parte del mecanismo patógeno que provoca la AD [Pahnke y col. 2008: Clinico-pathological function of cerebral ABC transporters - implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. Current Alzheimer Research 5, 396-406; Pahnke y col. 2009: Alzheimer's disease and blood-brain barrier function - Why have anti- β -amyloid therapies failed to prevent dementia progression? NeurosciBiobehavR 33: 1099- 1108].

Por el sector de los fitofármacos se conocen actualmente muchos extractos de plantas que tienen actividad en el SNC. Para ello es necesario que los ingredientes de las plantas superen la barrera hematoencefálica. Extractos que pudieron demostrar en estudios clínicos una actividad en el SNC se basan en plantas tales como ginseng, ginkgo, flor de la pasión, hierba de San Juan, valeriana, lúpulo, lavanda, té verde, salvia y otras.

Productos terapéuticos autorizados para el tratamiento de enfermedades de demencia neurodegenerativas, entre las que se cuentan, por ejemplo, la demencia de Alzheimer (AD) y la demencia en la enfermedad de Parkinson (PD), sirven actualmente solo para un tratamiento puramente sintomático. Se parte predominantemente de que en las enfermedades de demencia los síntomas clínicos se generan por una falta del neurotransmisor acetilcolina (ACh). Por consiguiente, se lucha contra esto terapéuticamente intentando inhibir la enzima que es responsable de la degradación de la acetilcolina (inhibidores de acetilcolinesterasa). Estos inhibidores de ACh, tales como, por ejemplo, donepezilo o galantamina, están autorizados en Alemania para el tratamiento de AD. Los tratamientos sintomáticos actuales, de todas las maneras, solo pueden retrasar de forma limitada el progreso de la enfermedad; un alivio del cuadro clínico no se considera actualmente de ningún modo.

- Un examen del Instituto alemán para la calidad y la eficiencia en el cuidado de la salud de agosto del 2009 [Informe del IQWiG - año: 2009 N° 67: investigación de actualización del informe A05-19A (Cholinesterasehemmer bei Alzheimer Demenz (inhibidores de colinesterasa en demencia de Alzheimer))] llega a la conclusión de que los tres principios activos autorizados en Alemania, donepezilo, galatamina y rivastigmina, podrían retrasar la destrucción de las capacidades cognitivas solo mínimamente en pacientes con demencia de Alzheimer leve o de gravedad media. Por ello se da la indicación de que los preparados correspondientes pueden retrasar la velocidad con la que los pacientes de Alzheimer pierden la capacidad de hacer frente a las actividades de la vida diaria. No se ha demostrado una utilidad con respecto a la calidad de vida con referencia a la salud y los tres principios activos presentarían, parcialmente, efectos secundarios significativos.
- Los extractos de Ginkgo biloba, que deberían actuar de modo preventivo sobre enfermedades de demencia o sobre su progreso, no han mostrado hasta la fecha ningún éxito en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas con depósitos de proteínas. Un estudio actual de gran prospectiva, de doble ciego, controlado por placebo, en el que tomaron parte más de 3000 pacientes, no pudo mostrar ningún efecto con respecto a la disminución del número de nuevos casos de enfermedad o del retardo de la progresión clínica en enfermedades de demencia ya iniciadas [DeKosky y col.; Ginkgo biloba for Prevention of Dementia: A Randomized Controlled Trial. JAMA. 2008; 300 (19) : 2253- 2262] .
- Extractos vegetales de la hierba de San Juan (*Hypericum perforatum spp.*) son conocidos como extractos activos en el SNC y se usan en el caso de depresión leve a depresión de gravedad media como estimuladores del estado anímico. A este respecto se usan los denominados extractos totales de soluciones alcohólico-acuosas como ingrediente farmacéutico activo (*active pharmaceutical ingredient*) (API). Silva y col. [Neurotoxicity Research, 2004, Vol. 6 (2), pp119- 130] describen un efecto neuroprotector de un extracto de hypericum sobre neurotoxicidad inducida por β -amiloide. El extracto descrito en dicho documento, con etanol al 80 % como agente de extracción, pudo demostrar *in vitro* buenas propiedades de protección de células. Por el contrario, esta publicación divulga tanto un efecto tóxico de una fracción de hiperforina, como también un efecto protector de fracciones de flavonoide. Los extractos de hierba de San Juan son extractos que se han investigado bien en todo el mundo en depresiones leves también respecto a su potencial de efectos secundarios. Precisamente para hiperforina y extractos que contienen altas concentraciones de hiperforina están documentadas, de todas las maneras, la mayor parte de informaciones sobre efectos secundarios. [Johne y col. (2003) BGBL 46: 1061- 1067 / DOI 10.1007/s00103- 003- 0742-y]. Se han descrito también efectos secundarios dependientes de la dosis e interacciones con citocromo oxidasa del sistema P450 [Moore y col. (2000) St.John's wort induces hepatic drug metabolism through activation of the pregnane X receptor. Proc Natl Acad Sci USA 97: 7500- 7502] . Estas interacciones conducen a interacciones con el metabolismo de una serie de medicamentos permitidos. Las enfermedades de demencia esporádicas aparecen en personas mayores de 60 años, un punto temporal en el que una gran cantidad de pacientes ya se tratan con medicamentos contra hiperlipidemia, hipertonia u otras consecuencias del síndrome metabólico.
- El espectro de efectos secundarios del P450 se atribuye particularmente a una cantidad de hiperforina en los extractos, mientras que se ha responsabilizado a un contenido alto de hipericina de efectos secundarios fototóxicos.
- Era un objetivo de la presente invención proporcionar un agente que fuera adecuado para el tratamiento de enfermedades neurológicas, de tipo degenerativo, y que combinara en la medida de lo posible una buena actividad con un potencial de efectos secundarios reducido.
- El objetivo se logra mediante el uso de extractos vegetales seleccionados de entre extractos de siderita que pueden obtenerse mediante extracción con agua o disolventes acuoso-alcohólicos o mezclas de los mismos para su uso en el tratamiento o la prevención de enfermedades neurodegenerativas, siendo la enfermedad degenerativa una enfermedad relacionada con proteínas/péptidos acumulados.
- Un objeto de la invención es, por lo tanto, el uso de extractos de plantas de la familia Lamiaceae (género Sideritis).
- De las partes aéreas de Sideritis se preparan los extractos correspondientes con disolventes acuosos o acuoso-alcohólicos.
- Disolvente acuoso-alcohólico significa que presenta mezclas de agua y alcoholes. Preferentemente, el contenido de alcohol se encuentra en el intervalo del 10 al 90 %. Los datos con respecto a la concentración de los alcoholes se dan en % (v/v) a 25 °C.
- Una extracción con disolventes acuoso-alcohólicos significa que la extracción primaria a partir del fármaco se lleva a cabo con este disolvente.
- Las preparaciones de extractos correspondientes son adecuadas para el tratamiento o la prevención de enfermedades neurodegenerativas. Sin vincularse a ninguna teoría, se cree que la actividad de extractos puede transcurrir mediante la activación del transportador ABC.
- Documentos actuales de los solicitantes [Pahnke y col. 2008: Clinico-pathological function of cerebral ABC transporters - implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. Current Alzheimer Research 5, 396-406; Pahnke y col. 2009: Alzheimer's disease and blood-brain barrier function - Why have anti- β -amyloid therapies failed

to prevent dementia progression? NeurosciBiobehavR 33:1099-1108] muestran que transportadores ABC tienen un papel importante en la eliminación de depósitos de proteínas en caso de enfermedad de demencia, en particular en el caso de depósitos de β -amiloides en caso de AD. Estos transportadores se encuentran en barreras naturales, tales como, por ejemplo, la barrera hematoencefálica. Con una activación de estos transportadores, de los que se conocen 49 transportadores humanos, pudo lograrse una reducción de agregados de proteínas y agregados de péptidos intracerebrales.

Según la invención se tiene el objetivo de impedir por medio de extractos de plantas o combinaciones de extractos la agregación y la acumulación patológica de proteínas *in vivo* o disolver parcial o totalmente agrupaciones de proteínas agregadas (también oligómeros) y, a continuación, eliminar los productos de degradación del cerebro/de los órganos. Finalmente, puede reducirse tanto la concentración de intermedio tóxico como también la agregación en las neuronas mediante el uso según la invención de extractos de plantas.

Según la invención los principios activos vegetales deben contribuir a reducir agregados de proteínas solubles o no solubles intraneuronales y también extraneuronales. Debido a que muchas enfermedades de demencia deben contar con un tratamiento a largo plazo hasta el final de la vida, deberían usarse para una relación utilidad-riesgo buenas sustancias con pocos efectos secundarios, bien toleradas, en lo posible. Por el tratamiento de otras alteraciones y enfermedades del SNC se conocen extractos vegetales desde hace tiempo con una buena tolerancia y una escasez de efectos secundarios.

Los resultados muestran que también se produce una disminución del número de placas.

En el documento EP 1 054 682 se describe una actividad *in vitro* de hiperforina en un modelo de capacidad de aprendizaje que se ha asociado con demencia. Algunas investigaciones *in vivo* en modelos de ratones de la AD mostraron, sin embargo, sorprendentemente, que las actividades de extractos de hierba de San Juan no presentaban ninguna correlación con el contenido de hiperforina (véanse los ejemplos 2 y 3). Los extractos pobres en hiperforina son, sin embargo, particularmente activos y, además, la totalidad de la matriz del extracto, determinada esencialmente mediante el agente de extracción en procedimientos de fabricación, explica la diferencia en modelos murinos de AD (véase la tabla del ejemplo 7).

Las enfermedades neurodegenerativas son enfermedades que están asociadas con proteínas o péptidos acumulados, las denominadas enfermedades neurodegenerativas con depósitos de proteínas.

La enfermedad puede ser síndrome de Down, corea de Huntington (HD), ataxia espinocerebelosa (SCA), en particular SCA2, o amiloidosis, en particular enfermedad de Alzheimer.

Los extractos según la invención también pueden usarse para el tratamiento de formas iniciales/formas tempranas de una enfermedad de demencia tal como deterioro cognitivo leve (MCI) en la enfermedad de Alzheimer.

En una forma de realización el extracto se prepara a partir de *Herba Sideritis* spp. Para extractos de *Sideritis* se ha demostrado que son preferentes, en particular, disolventes acuosos, así como también mezclas acuosas de alcoholes seleccionados de entre metanol, etanol, 1-propanol o 2-propanol en cantidades de 10 a 70 proporciones en volumen de alcohol. Son particularmente preferentes concentraciones de alcohol de entre el 20 y el 40 % en volumen de alcohol.

Los extractos obtenidos pueden usarse en preparaciones adecuadas, en particular como comprimidos, tinturas, cápsulas, bolsitas, ampollas bebibles o comprimidos para chupar.

Las cantidades de extracto nativo de 300 mg a 1200 mg por día son particularmente adecuadas.

Los extractos según la invención pueden usarse para la fabricación de un medicamento. También puede tratarse, de todas las maneras, de un producto alimentario o un suplemento alimenticio o una dieta equilibrada suplementada, que se usen para ayudar al tratamiento con medicamentos de la enfermedad neurodegenerativa.

En otra forma de realización como extracto de *Sideritis* pueden usarse *Herba Sideritis scardica*, *Herba Sideritis euboa* o mezclas de las mismas.

La invención se explicará con más detalle mediante los ejemplos siguientes.

Ejemplo 1: Modelo de ensayo

La eficacia de los extractos de ensayo se analizó en el modelo *in vivo* siguiente:

Una cepa de ratones producida genéticamente con predisposición a Alzheimer (véase, por ejemplo, Oakley H. y col. 2006, Intraneuronal beta-amyloid aggregates, neurodegeneration, and neuron loss in transgenic mice with five familial Alzheimer's disease mutations: potential factors in amyloid plaque formation. J Neurosci 26 (40) : 10129- 40) desarrolla normalmente a partir de 1,5-2 meses después del nacimiento los primeros depósitos de β -amiloide. A partir del día 50 se administra de forma activa a los ratones diariamente una dosis del extracto. Después de un periodo de vida total definido de 75 a 100 días, los animales se sacrifican y se analiza el cerebro. Para ello se mide

de forma biomolecular por medio de ELISA la concentración de la fracción de A β 42. Se analizan histológicamente los depósitos de placas con respecto a varios parámetros: número y superficie (valor promedio; n \geq 3).

Ejemplo 2: Ejemplo comparativo hierba de San Juan en EtOH al 80 % con poca hiperforina

5 Se maceran 10,7 kg de hierba de San Juan (Ph.Eur.) a 45 °C dos veces con 100 litros de etanol al 80 % (v/v). El eluido se recoge por filtración de sustancias en suspensión y se concentra de forma cuidadosa dando un extracto espeso. El extracto viscoso obtenido se enfrió a 4 °C y después de 8 horas se retiró una fase de resina presente sobre la superficie. El extracto espeso remanente se secó y se trituró al 70 % de extracto nativo, el 14 % de maltodextrina, el 14 % de celulosa microcristalina siliconada y con el 2 % de dióxido de silicio altamente disperso. Se obtuvieron 4,5 kg de extracto, que se caracterizó por un contenido en hipericina del 0,09 %, de hiperforina del 0,3 % y de flavonoides del 5,7 %.

10 El extracto obtenido de este modo se analizó en el modelo *in vivo* descrito en el ejemplo 1. Los resultados están compilados en el ejemplo 7.

Ejemplo 3: Ejemplo comparativo hierba de San Juan en EtOH al 80 % con el contenido habitual de hiperforina

15 Se extraen exhaustivamente 10,7 kg de hierba de San Juan (Ph.Eur.) a 50 °C con 150 litros de etanol al 80 % (v/v). El eluido se recoge por filtración de sustancias en suspensión después de su enfriamiento y se concentra de forma cuidadosa dando un extracto espeso. El extracto denso obtenido de este modo se secó y se trituró al 98 % de extracto nativo con el 2 % de dióxido de silicio altamente disperso. Se obtuvieron 2,2 kg de extracto, que se caracterizó por un contenido en hipericina del 0,21 %, de hiperforina del 2,9 % y de flavonoides del 11,3 %.

20 El extracto obtenido de este modo se analizó en el modelo *in vivo* descrito en el ejemplo 1. Los resultados están compilados en el ejemplo 7.

Ejemplo 4: Ejemplo según la invención a partir de hierba *Sideritis scardica*

25 Se percolaron exhaustivamente 10 kg (*Sideritis scardica* L.) con 300 litros de etanol al 20 % (v/v) a 50 °C. El eluido se retiró del fármaco y se liberó de los restos de fármaco. El percolado se concentró cuidadosamente a presión reducida y se eliminó el disolvente mediante varias adiciones de agua. Se obtuvo un rendimiento de 4,2 kg de extracto espeso con una proporción de sustancia seca del 43,3 %. Este se secó con el coadyuvante de secado maltodextrina con una relación del 70 % de extracto nativo: 30 % de maltodextrina.

El extracto obtenido de este modo se analizó en el modelo *in vivo* descrito en el ejemplo 1. Los resultados están compilados en el ejemplo 7.

30 **Ejemplo 5: Ejemplo según la invención a partir de hierba *Sideritis euboa***

35 Se percolaron exhaustivamente 10 kg de *Sideritis* (*Sideritis euboa*) con 300 litros de etanol al 20 % (v/v) a 50 °C. El eluido se retiró del fármaco y se liberó de los restos de fármaco. El percolado se concentró cuidadosamente a presión reducida y se eliminó el disolvente mediante varias adiciones de agua. Se obtuvo un rendimiento de 3,9 kg de extracto espeso con una proporción de sustancia seca del 42,6 %. Este se secó con el coadyuvante de secado maltodextrina con una relación del 70 % de extracto nativo: 30 % de maltodextrina.

El extracto obtenido de este modo se analizó en el modelo *in vivo* descrito en el ejemplo 1. Los resultados están compilados en el ejemplo 7.

Ejemplo 6: eEjemplo según la invención a partir de *Herba Sideritis spp.*

40 Se percolaron exhaustivamente 10 kg de *Sideritis* (mezcla 50/50 de *Sideritis scardica* L. y *S. euboa* L.) con 300 litros de etanol al 20 % (v/v) a 50 °C. El eluido se retiró del fármaco y se liberó de los restos de fármaco. El percolado se concentró cuidadosamente a presión reducida y se eliminó el disolvente mediante varias adiciones de agua. Se obtuvo un rendimiento de 3,2 kg de extracto espeso con una proporción de sustancia seca del 56 %. Este se secó con el coadyuvante de secado maltodextrina con una relación del 70 % de extracto nativo: 30 % de maltodextrina.

45 El extracto obtenido de este modo se analizó en el modelo *in vivo* descrito en el ejemplo 1. Los resultados están compilados en el ejemplo 7.

Ejemplo 7: Resultados de la formación de β -amiloide en el ensayo *in vivo*:

La cepa de ratones de ensayo según el ejemplo 1 está modificada genéticamente de modo que los depósitos de amiloides típicos de Alzheimer se manifiesten después de aproximadamente 100 días de edad. El comienzo del tratamiento se realizó después de 50 días de edad.

| | Cantidad de la fracción de A β 42 soluble (valor promedio en ng por mg de proteína cerebral total) | Periodo del tratamiento en días (edad en días en el análisis) |
|--|--|---|
| Cepa de control (tratamiento con H ₂ O) | 54,1 | 25 d (75 d) |
| Hypericum en etanol al 80 % con concentración baja de hiperforina según el ejemplo 2 | 23,9 | 25 d (75 d) |
| Hypericum en etanol al 80 % con concentración alta de hiperforina según el ejemplo 2 | 35,3 | 25 d (75 d) |
| Sideritis scardica según el ejemplo 4 | 20,3 | 25 d (75 d) |
| Sideritis euboa según el ejemplo 5 | 18,3 | 25 d (75 d) |
| Sideritis spp. según el ejemplo 6 | 32,8 | 25 d (75 d) |

5 Los extractos de Sideritis según los ejemplos 4-6 reducen la fracción soluble del β -amiloide en comparación con el tratamiento de control con agua. Mientras que la S. scardica provocó una reducción de la fracción de A β 42 soluble del 62,5 %, la S. euboa logró una reducción del 66,2 % (n \geq 3). Con ello pudo lograrse una reducción más fuerte de la fracción de A β 42 soluble que la que se obtuvo con los extractos de hierba de San Juan en EtOH al 80 %, que se confirmó como indicación conocida por la literatura (Silva, B. y col., Neurotoxicity Research 2004, 119-130) y, por lo tanto, del estado de la técnica, con el modelo de ensayo aplicado.

10 Por lo tanto, no es un ingrediente del extracto, sino la totalidad de la matriz del extracto (establecida por las especies vegetales usadas, el disolvente en el procedimiento de fabricación) la característica determinante para el uso exitoso de un extracto de Sideritis en el sector de enfermedades neurodegenerativas.

Ejemplo 8 - Valoración histológica de la formación de placas

La cepa de ratones de ensayo según el ejemplo 1 está modificada genéticamente de modo que los depósitos de amiloides típicos de Alzheimer se manifiesten después de aproximadamente 100 días de edad. El comienzo del tratamiento se realizó después de 50 días de edad.

15 Dependencia de la formación de placas después de la administración de 4000 mg/kg de extracto de hierba de San Juan según el ejemplo 2 de la duración del tratamiento (n \geq 5)

| Duración | 75 d | 100 d |
|---|---------|---------|
| Número de placas (N) | | |
| Grupo de control | 109,6 | 203,0 |
| Extracto de hierba de San Juan según el ejemplo 2 | 64,5 | 129,5 |
| Modificación relat. | -41,1 % | -36,2 % |
| Superficie promedio de las placas (A en μm^2) | | |
| Grupo de control | 380,6 | 498,0 |
| Extracto de hierba de San Juan según el ejemplo 2 | 337,4 | 367,5 |
| Modificación relat. | -11,3 % | -26,2 % |

Ejemplo 9 - Valoración histológica de la formación de placas

Se midió la formación de placas en caso de administración de extractos de Sideritis como en el ejemplo 8.

Modificación de la formación de placas después de la administración de 4000 mg/kg de extracto de KG Sideritis según el ejemplo 6 (n≥5)

| | |
|--|---|
| Duración | 100 d |
| | Número de placas (N) |
| Grupo de control | 203,0 |
| Extracto de Sideritis según el ejemplo 6 | 103,6 |
| Modificación relat. | -49 % |
| | |
| | Superficie promedio de las placas (A en μm^2) |
| Grupo de control | 498,0 |
| Extracto de Sideritis según el ejemplo 6 | 422,2 |
| Modificación relat. | -15,2 % |

En caso de superficie de placas prácticamente similar, la cantidad se ha reducido claramente.

5 **Ejemplo 10 - Ejemplo según la invención a partir de hierba Sideritis scardica**

10 Se percolaron exhaustivamente 10,1 kg de sideritis (*Sideritis scardica* L.) con 384 litros de agua purificada a 80 °C. El eluido se retiró del fármaco y se liberó de los restos de fármaco mediante filtración a través de un filtro de celulosa (250 mm). El percolado transparente se concentró cuidadosamente a presión reducida. Se obtuvo un rendimiento de 2,1 kg de extracto espeso con una proporción de sustancia seca del 63,0 %. Este se formuló con el coadyuvante de secado maltodextrina con una relación del 70 % de extracto nativo : 30% de maltodextrina, se pasteurizó y se secó por secado al vacío a 55 °C. El extracto obtenido de este modo se trituró a través de un tamiz de 0,75 mm dando un polvo marrón homogéneo.

El polvo hidrosoluble es adecuado para la fabricación de bolsitas, polvos bebibles instantáneos, comprimidos efervescentes o como aditivo en bebidas solubles.

15 **Ejemplo 11 - formulación de comprimidos**

Un comprimido contiene 300 mg de extracto seco de Sideritis según el ejemplo 6. Otros componentes son aceleradores de la degradación, carboximetilcelulosa de sodio, agente de fluidez dióxido de silicio, aglutinante polietilenglicol 4000, lubricante estearato de magnesio, así como hidrogenocarbonato de sodio.

REIVINDICACIONES

1. Extracto de Sideritis que puede obtenerse mediante extracción con agua o disolventes acuoso-alcohólicos para su uso en el tratamiento o la prevención de enfermedades neurodegenerativas, siendo la enfermedad degenerativa una enfermedad relacionada con proteínas/péptidos acumulados.
- 5 2. Extracto de Sideritis para su uso según la reivindicación 1, siendo la enfermedad degenerativa síndrome de Down, corea de Huntington (HD), ataxia espinocerebelosa (SCA), en particular SCA2, o amiloidosis, en particular enfermedad de Alzheimer.
- 10 3. Extracto de Sideritis para su uso según una de las reivindicaciones anteriores, tratándose de la forma inicial/forma temprana de una enfermedad de demencia, tal como deterioro cognitivo leve (MCI) en el caso de la enfermedad de Alzheimer.
4. Extracto de Sideritis para su uso según una de las reivindicaciones 1 a 3, habiéndose preparado el extracto a partir de Herba Sideritis spp.
5. Extracto de Sideritis para su uso según una de las reivindicaciones 1 a 4 en forma de un medicamento, un producto alimentario, un suplemento nutricional o una dieta equilibrada suplementaria.
- 15 6. Extracto de Sideritis para su uso según una de las reivindicaciones 1 a 5 que contiene adicionalmente un extracto de hierba de San Juan, preferentemente preparado con etanol al 80 % como agente de extracción.
7. Extracto de Sideritis para su uso según una de las reivindicaciones 1 a 6, en el que se usa como Sideritis Herba Sideritis scardica, Herba Sideritis euboa o mezclas de las mismas.