

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 452 342**

51 Int. Cl.:

A61K 36/84 (2006.01)

A61P 25/20 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.09.2007 E 07820552 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.12.2013 EP 2066333**

54 Título: **Preparación de extracto de valeriana**

30 Prioridad:

27.09.2006 DE 102006045974

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

01.04.2014

73 Titular/es:

**FINZELBERG GMBH & CO. KG (100.0%)
KOBLENZER STRASSE 48-56
56626 ANDERNACH, DE**

72 Inventor/es:

**FEISTEL, BJÖRN;
SIEVERS, HARTWIG y
LEHNFELD, ROMANUS**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 452 342 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

Preparación de extracto de valeriana

La presente invención se refiere a una nueva preparación de extracto de valeriana, a un procedimiento para su fabricación y a su uso.

5 La raíz de valeriana (*Radix Valeriana officinalis*) se usa ya desde hace tiempo en estados de intranquilidad así como alteraciones del sueño de causa nerviosa. A pesar de numerosos ensayos no está completamente claro qué componentes son responsables de la acción.

10 El documento WO 98/13054 describe que los valepotriatos presentan propiedades sedantes. Dado que, sin embargo, los valepotriatos son prácticamente insolubles en disolventes acuosos y acuoso-alcohólicos, éstos no pueden detectarse prácticamente en extractos acuosos o alcohólicos de raíz de valeriana.

Otro componente al que se le atribuye parcialmente la actividad son los ácidos valerénicos, compuestos sesquiterpénicos. Los extractos de valeriana típicos se normalizan con respecto al contenido en ácidos valerénicos.

El documento WO 98/13054 describe extractos que se obtienen con extracción de CO₂ y debido a ello presentan altos contenidos tanto en ácido valerénico como de valepotriatos.

15 El documento US 6.383.526 describe un procedimiento para la fabricación de un extracto de valeriana en el que la extracción se realiza con del 50 % al 100 % (v/v) de etanol (normalmente el 70 %). Mediante esto se reducen los contenidos en valepotriatos, sin embargo se obtienen extractos que presentan altos contenidos en ácidos valerénicos. Para estos extractos se describe una acción ansiolítica.

20 El objetivo de la presente invención era proporcionar una preparación de extracto de valeriana que presentara propiedades mejoradas, en particular que mostrara una acción ansiolítica o antidepresiva reforzada.

Sorprendentemente se encontró que el objetivo puede conseguirse mediante un procedimiento para la fabricación de una preparación de extracto de valeriana que comprende las etapas de

- a) extraer *Radix Valeriana* con agentes de extracción alcohólico-acuosos, para obtener un extracto bruto, conteniendo el agente de extracción alcohólico-acuoso entre el 10 % y el 50 % en volumen de alcohol;
- 25 b) eliminar al menos parcialmente la proporción alcohólica del extracto bruto, para obtener un extracto espeso;
- c) llevar a contacto el extracto espeso con un agente de adsorción hidrófobo;
- d) separar el agente de adsorción hidrófobo, para obtener un extracto purificado;
- e) convertir el extracto purificado en una preparación de extracto de valeriana con coadyuvantes farmacéuticamente habituales.

30 En el procedimiento de acuerdo con la invención se extrae por tanto en primer lugar *Radix Valeriana officinalis* con un agente de extracción alcohólico-acuoso. Para ello normalmente se tritura la droga (8-12 mm) para facilitar la extracción. Una proporción en peso adecuada entre droga y agente de extracción se encuentra en el intervalo de aproximadamente 1:5 a 1:30, preferentemente de 1:10 a 1:20.

35 El experto sabe que la extracción puede mejorarse mediante calentamiento del agente de extracción. Las temperaturas adecuadas para la extracción se encuentran entre temperatura ambiente y aproximadamente 70 °C, preferentemente en el intervalo de 40 °C a 60 °C.

Cuanto durante más tiempo se extraiga, más componentes pueden extraerse. Por otro lado pueden dañarse también los componentes de extracto mediante el tratamiento de temperatura durante la extracción. Los tiempos de extracción típicos se encuentran entre 1 y 12 horas, preferentemente de 2 a 6 horas.

40 A diferencia del procedimiento descrito en el estado de la técnica, la extracción se realiza con un agente de extracción que contiene una proporción más bien baja de alcohol. El contenido en alcohol se encuentra entre el 10 % y el 50 % en volumen del agente de extracción, preferentemente entre el 20 % y el 45 % en volumen, aún más preferentemente entre el 30 % y el 40 % en volumen. Los alcoholes adecuados son en particular etanol, sin embargo también metanol, isopropanol y mezclas de los mismos.

45 Tras la extracción se separa el agente de extracción del residuo de droga. Ciertos procedimientos adecuados para ello son filtración, succión, purga, etc.

A continuación se elimina total o parcialmente la proporción alcohólica del extracto bruto así obtenido. Esto puede realizarse por ejemplo con un evaporador de burbujeo o con un evaporador de platos. Mediante la adición de más agua puede reducirse la proporción de alcohol, por ejemplo < 2 % en peso. La proporción de sustancia seca resultante se encuentra en del 40 % al 70 % (m/m).

50

El extracto acuoso así obtenido se designa a continuación como extracto espeso.

En la siguiente etapa se pone en contacto el extracto espeso con un agente de adsorción hidrófobo. Es deseable que el adsorbedor presente una superficie grande ($> 200 \text{ m}^2/\text{g}$), para poder adsorber una gran cantidad de sustancia. Han resultado especialmente ventajosas resinas con tamaños de poro homogéneos (de 100 a 450 Å).
 5 Han resultado especialmente adecuados adsorbedores de resina sintética, por ejemplo a base de copolímeros de divinilbenceno, polímeros de ésteres alifáticos o polímeros de formofenol. Preferentemente, los adsorbedores usados no presentan grupos funcionales tales como por ejemplo compuestos de amonio cuaternario o funcionalidades ácido, tal como son habituales en intercambiadores de iones. Ciertas sustancias especialmente
 10 adecuadas pueden obtenerse con el nombre comercial Amberlite[®]. Son productos adecuados XAD4, XAD2, XAD16, XAD761, XAD1180, XAD160, XAD7HP. Pueden usarse también resinas de adsorbedor caracterizadas análogas, por ejemplo de la empresa Diaion, de la empresa Bayer (Lewatit[®]) o de la empresa Miontech.

La puesta en contacto del extracto espeso con el agente de adsorción hidrófobo puede realizarse con tipos de procedimiento familiares para el experto, por ejemplo, en el que se rellena con material de adsorbedor una columna, por la que fluye a través el extracto espeso (eventualmente tras dilución). Una alternativa para ello es un
 15 procedimiento discontinuo, en el que se añade el agente de adsorción y tras un tiempo de permanencia se separa de nuevo.

Tras la separación del agente de adsorción hidrófobo se obtiene un extracto de valeriana que puede tratarse posteriormente de manera conocida por el experto. Preferentemente se seca el extracto. Esto puede realizarse por ejemplo mediante liofilización, secado por pulverización, secado a vacío, etc. Preferentemente se añaden
 20 coadyuvantes en el secado por pulverización y secado a vacío, para obtener un extracto seco que pueda fluir.

Es objeto de la invención también una preparación de extracto de valeriana que puede obtenerse según el procedimiento de acuerdo con la invención.

Sorprendentemente, la preparación de extracto de valeriana de acuerdo con la invención muestra un contenido relativamente bajo de ácidos valerénicos totales ($\leq 0,18 \%$ en peso) así como un contenido relativamente pequeño
 25 en valepotriatos ($\leq 0,1 \%$ en peso), respectivamente con respecto al extracto seco.

Normalmente se distribuyen los contenidos en ácidos valerénicos totales tal como sigue:

- $< 0,10 \%$ en peso de ácido valerénico,
- $< 0,1$, más preferentemente $< 0,07$, aún más preferentemente $< 0,05 \%$ en peso de ácido acetoxivalerénico,
- $\leq 0,01$, preferentemente $< 0,01 \%$ en peso de ácido hidroxivalerénico,

30 respectivamente con respecto al extracto seco.

Siempre que no se indique lo contrario, todos los datos de % son "% en peso".

Mediante el procedimiento se realiza un empobrecimiento de componentes especialmente lipófilos caracterizado por una ausencia o una concentración muy reducida en el intervalo R_f de 0,3 a 0,8 en comparación con el extracto de
 35 partida (véase la figura 3). Las condiciones de cromatografía de capa fina (de acuerdo con la figura 3) son tal como sigue:

Fase estacionaria (material de placas de CCF): gel de sílice 60 F₂₅₄

Fase móvil (eluyente): véase disolvente

40	Disolvente	dicloroetano : ácido acético : metanol : agua 50 : 25 : 15 : 10 (V/V/V/V) (con saturación de cámara de aproximadamente 30 min)
	Tramo de separación	15 cm (inicio hasta frente)
	Tiempo de ejecución	aproximadamente 2 horas
	Secado	aproximadamente 10 min en corriente de aire frío
	Reactivo de pulverización	reactivo de anisaldehído
45		0,5 ml de anisaldehído se mezclan con 10 ml de ácido acético anhídrido, 85 ml de metanol y 5 ml de ácido sulfúrico al 96 % en el orden indicado.
	Secado	aproximadamente 3 min a 120 °C hasta el desarrollo de color óptimo de las zonas.
50	Disolución de prueba	1 g de extracto de valeriana se disuelve con 10 ml de etanol al 50 % V/V durante 10 min en baño de agua a 65 °C. Tras el enfriamiento hasta temperatura ambiente se filtra hasta transparencia y el filtrado transparente se usa para la cromatografía. Se aplican 10 µl con aparato de aplicación.

La preparación de extracto de acuerdo con la invención presenta preferentemente una proporción de droga/extracto entre 3:1 y 10:1, preferentemente entre 4:1 y 6:1.

Es objeto de la invención también un fármaco que contiene la preparación de extracto de valeriana de acuerdo con la invención así como el uso de la preparación de extracto de valeriana de acuerdo con la invención para la fabricación de un fármaco para la inhibición de la ansiedad o la anulación de la ansiedad (ansiolítico) y para la reducción de depresiones o estados de ánimo depresivos (antidepresivo).

- 5 Es decisivo que la propiedad ansiolítica y la propiedad antidepresiva no se consigan mediante una acción sedante, sino tal como se muestra en los ejemplos 7 y 8 no exista ninguna acción sedante.

El extracto obtenido puede convertirse de manera sencilla en una preparación farmacéutica, por ejemplo en forma de comprimidos, cápsulas, pastillas.

- 10 Han resultado adecuadas en particular dosificaciones de aproximadamente 100 a 1.000 mg por unidad de dosis, pudiéndose tomar por día preferentemente de aproximadamente 1 a 3 unidades de dosis.

La figura 1a/b muestra un ensayo EPM con la administración del extracto de valeriana purificado de acuerdo con la invención.

La figura 2a/b muestra un ensayo EPM de la fracción de residuo de la purificación.

La figura 3 muestra un análisis de cromatografía de capa fina de las fracciones obtenidas.

- 15 La figura 4 muestra un ensayo de natación forzada del extracto de acuerdo con la invención en comparación con un extracto no purificado tras administración por vía oral de 16 días, 2 x día.

La invención se explica en más detalle mediante los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1: Preparación del extracto espeso

- 20 Se mezclaron 10 kg de *Radix Valerianae offic.* (ácidos valerénicos al 0,18 %) con etanol al 35 % v/v en la proporción 1:16 y se percolaron a 50 °C en el extractor Holstein-Kappert de manera exhaustiva. El eluido se purgó de la droga y a través de un paso de bolsa de tamizado de 250 µm se liberó de los restos de droga. El percolado se evaporó en un evaporador de platos y se condujo sin disolvente mediante adición de agua. Como rendimiento resultaron 4,6 kg de extracto espeso con una proporción de sustancia seca del 60,3 %.

Ejemplo 2a): Purificación mediante adsorbedores hidrófobos XAD-4

- 25 De esto se diluyó una porción de 663,3 g de extracto espeso, que correspondía a 400 g de equivalente de extracto seco, con agua desmineralizada hasta obtener una proporción de sustancia seca del 10 % y se homogeneizó durante 30 minutos con agitación. Resultó una disolución oscura, homogénea.

- 30 Ésta se añadió a una resina de adsorbedor hidrófobo (Amberlite XAD-4) en una columna de vidrio que estaba rellena con aproximadamente 4 l de resina húmeda, que correspondían a aproximadamente 1600 g de resina seca. Con una velocidad de 3 volúmenes de lecho de la resina por hora se realizó la etapa de purificación.

Tras la purificación de la disolución de extracto de partida pudo determinarse aún el 85 % de la cantidad de partida. Esta disolución se evaporó y se convirtió con el coadyuvante de secado maltodextrina en la proporción del 70 % de nativo : 30 % de maltodextrina por secado por pulverización en una preparación de extracto seco (UB 2005-37-2).

Ejemplo 2b): Purificación mediante adsorbedores hidrófobos XAD-1180

- 35 Basándose en un extracto espeso de valeriana de acuerdo con el ejemplo 1 se diluyó una porción de 2,7 kg de extracto, que correspondían a 1628 g de equivalente de extracto seco, con agua desmineralizada hasta obtener una proporción de sustancia seca del 10 % y se homogeneizó durante 30 minutos con agitación. Resultó una disolución oscura, homogénea.

- 40 Ésta se añadió a una resina de adsorbedor hidrófobo (XAD-1180) en una columna que estaba rellena con aproximadamente 20 l de resina húmeda, que correspondían a aproximadamente 8000 g de resina seca. Con una velocidad de 3 volúmenes de lecho de la resina por hora se realizó la etapa de purificación. Tras la purificación de la disolución de extracto de partida pudo determinarse aún el 81 % de la cantidad de partida.

- 45 Esta disolución se evaporó para obtener el extracto espeso y se convirtió con el coadyuvante de secado maltodextrina en la proporción del 70 % nativo : 30 % de maltodextrina por secado por pulverización en una preparación de extracto seco (UB 2005-78-2). Esta preparación de extracto de valeriana tenía una pérdida de secado del 4,6 % y contenía: < 0,02 % de valepotriatos, el 0,112 % de ácidos valerénicos totales, de estos el 0,06 % de ácido valerénico, el 0,04 % de ácido acetoxivalerénico y el 0,002 % de ácido hidroxivalerénico.

Ejemplo 3: Residuo del adsorbedor

5 Las sustancias retenidas por el adsorbedor en el ejemplo 2a se eluyeron mediante elución con 2 volúmenes de lecho de etanol al 96 % V/V. También esta disolución se concentró para obtener el extracto espeso y se convirtió con el coadyuvante de secado maltodextrina en la proporción del 70 % nativo : 30 % de maltodextrina por secado por pulverización en una preparación de extracto seco (UB 2005-37-1).

Ejemplo 4: Contenido en ácidos valerénicos

A continuación se determinaron los ácidos valerénicos de los extractos de acuerdo con los ejemplos 2a) y 3.

	Fase de etanol lipófila de inclusión de adsorbedor (ejemplo 3)	Fase de agua purificada tras contacto con adsorbedor (ejemplo 2a))
ácidos valerénicos totales en el extracto seco	0,73 %	0,13 %

Ejemplo 5: Ejemplo comparativo sin purificación

10 Basándose en un extracto espeso de valeriana de acuerdo con el ejemplo 1 se preparó con el coadyuvante de secado maltodextrina en la proporción del 70 % nativo : 30 % de maltodextrina por secado por pulverización una preparación de extracto seco (UB 2004-18). Esta preparación de extracto de valeriana tenía una pérdida de secado del 3,0 % y contenía: el 0,04 % de valepotriatos, el 0,29 % de ácidos valerénicos totales, de estos el 0,12 % de ácido valerénico, el 0,14 % de ácido acetoxivalerénico y el 0,03 % de ácido hidroxivalerénico.

Ejemplo 6: Acción ansiolítica

15 El laberinto en cruz elevado (EPM) es un modelo de comportamiento ampliamente difundido y reconocido que es adecuado para someter a estudio el comportamiento de ansiedad de ratas o ratones y permite la detección de sustancias de acción ansiolítica o ansiogénica. Se basa en la observación de que ratas o ratones no acondicionados reaccionan a estímulos aversivos naturales con comportamiento de evitación espontáneo.

20 Basándose en estudios de Montgomery, Pellow presentó en 1985 el EPM por primera vez (Pellow, S., *et al.*, 1985. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat, J Neurosci Methods 14, 149-167).

25 En el caso del EPM se trata de un aparato de ensayo en forma de cruz colocado de manera elevada, en cuya plataforma central cuadrada se enfrentan respectivamente dos nervios cerrados y dos abiertos. Los "brazos" cerrados presentan un reborde alto, mientras que los nervios abiertos pueden estar rodeados por un listón estrecho. A este respecto, los brazos cerrados representan una zona protegida que concede al animal de ensayo la posibilidad de cobertura, mientras que los nervios abiertos actúan de manera aversiva.

30 Los animales que pueden explorar libremente durante un espacio de tiempo definido todas las zonas del laberinto rehúyen los brazos abiertos y prefieren las zonas cerradas, lo que se expresa en un tiempo de permanencia más bajo en los nervios abiertos y en un número reducido de entradas en éstos. El comportamiento de evitación condicionado por el miedo prevalece a la curiosidad de explorar un nuevo entorno ("*Exploratory Behavior*", comportamiento explorador).

Durante un periodo de prueba se registran el número de entradas en los brazos abiertos y en los cerrados así como el tiempo en brazos abiertos y en los cerrados. Los dos parámetros aumentan mediante sustancias de acción ansiolíticas, se reducen mediante ansiogénicos.

35 Los resultados falsos positivos pueden originarse únicamente mediante sustancias que aumentan la motilidad, se eliminan debido a que no se evalúan los valores absolutos, sino los respectivos porcentajes (Hogg, S., 1996. A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety, Pharmacol Biochem Behav 54, 21-30).

40 El EPM permite una detección fiable de benzodiazepinas (por ejemplo Diazepam®). Dado que una multiplicidad de factores de influencia (luz, estímulos acústicos) influyen en el modelo, debe preceder una validación del sistema de prueba.

A cada sustancia de prueba ha de ponerse a disposición siempre una sustancia de referencia. Con el manejo y la evaluación correspondiente se indican efectos ansiolíticos y ansiogénicos de manera eficaz. Los resultados falsos positivos están casi excluidos según esto.

45 Las pruebas de las preparaciones de valeriana en el EPM se realizaron con ratones NMRI hembra (n = 10-14) usando la siguiente disposición de ensayo:

ES 2 452 342 T3

Cepa	Sexo	Experiencia de prueba	Alimentación	Listones (brazos abiertos)	Color del fondo del nervio
NMRI	hembra	sin tratamiento previo	no privados	sin listones	negro

Extractos de referencia

Se obtuvo el siguiente resultado para diversos extractos que se obtuvieron de una carga de droga:

Agente de extracción	Agua	Extracto comparativo de EtOH al 35 % V/V	Extracto comparativo de EtOH al 70 % V/V	Dióxido de carbono supercrítico
DEV nativo	3,3 : 1	3,1 : 1	4,0 : 1	40 : 1
Contenido en ácidos valerénicos totales	0,05 %	0,25 %	0,80 %	12,70 %
Contenido en valepotriatos	< 0,02 %	< 0,02 %	< 0,02 %	11,6 %
Propiedades ansiolíticas en el modelo de EPM (ratones NMRI hembra en ayunas, n = 10, 60 min tras administración oral), 250 mg/kg de peso corporal				
% de proporción de tiempo de permanencia en brazos abiertos	+ 10 %	+ 24 %	+ 17 %	+ 11 %
% de proporción de entrada a brazos abiertos	+ 6 %	+ 18 %	+ 8 %	- 3 %
Valoración	No significativo	Significativo con respecto al grupo control	No significativo	No significativo

Extractos de acuerdo con la invención

Extracto de acuerdo con la invención, carga UB 2007-37-2 de acuerdo con el ejemplo 2a)

Agente de extracción	EtOH al 35 % V/V
Purificación	Recorrido de columna de adsorbente con resina XAD-4
DEV nativo	4,2 : 1
Contenido en ácidos valerénicos totales	0,13 %
Contenido en valepotriatos	< 0,01 %
Propiedades ansiolíticas en el modelo de EPM (ratones NMRI hembra en ayunas, n = 10, 60 min tras administración oral), 250 mg/kg de peso corporal	
% de proporción de tiempo de permanencia en brazos abiertos	+ 16 %
% de proporción de entrada a brazos abiertos	+ 17 %
Valoración	Altamente significativa en comparación con el grupo control

- 5 Las figuras 1a/b muestran la prueba EPM con la administración del extracto de valeriana purificado de acuerdo con la reivindicación de acuerdo con el ejemplo 2a).

La figura 1a) muestra el tiempo que se pasa en brazos abiertos.

La figura 1b) muestra el número de entradas a los brazos abiertos.

En comparación con el control se muestra una clara actividad ansiolítica con 100 y 200 mg/kg de peso corporal. Igualmente se muestra para extractos vegetales el típico efecto de una ventana de dosificación óptima, dado que la dosificación más alta no muestra ninguna actividad mejorada.

5 Fracciones de residuo

Fracción de residuo separada del extracto de acuerdo con la invención, carga UB 2007-37-1, de acuerdo con el ejemplo 3

Agente de extracción	EtOH al 35 % V/V
Purificación	Eluido etanólico de la columna de adsorbedor con resina XAD-4
DEV nativo	4,2 : 1
Contenido en ácidos valerénicos totales	0,73 %
Contenido en valepotriatos	0,21 %
Propiedades ansiolíticas en el modelo de EPM (ratones NMRI hembra en ayunas, n = 10, 60 min tras administración oral), 250 mg/kg de peso corporal	
% de proporción de tiempo de permanencia en brazos abiertos	+ 12 %
% de proporción de entrada a brazos abiertos	+ 11 %
Valoración	Valores más bajos en comparación con el grupo control, indiferente hasta acción contraria (ansiogénica)

Adicionalmente se sometió a estudio la fracción de residuo del adsorbedor (ejemplo 3). Las figuras 2a/b muestran el estudio de esta sustancia en el EPM.

10 La figura 2a) muestra a este respecto el tiempo de permanencia en el brazo abierto.

La figura 2b) muestra el número de entradas a los brazos abiertos.

Se muestra que la sustancia encontrada en el adsorbedor con un alto contenido en ácidos valerénicos tiene incluso más bien un efecto ansiogénico. Mediante el procedimiento de acuerdo con la invención se reduce de manera dirigida la ansiolisis de sustancias que actúan de manera antagonista.

15 La figura 3 muestra el análisis de cromatografía de capa fina de las fracciones.

Carril 3: extracto bruto obtenido de acuerdo con el ejemplo 1.

Carril 2: extracto de acuerdo con la invención de acuerdo con el ejemplo 2a).

Carril 1: fracción de residuo que puede eluirse del adsorbedor de acuerdo con el ejemplo 3.

Ejemplo 7: Prueba sobre sedación

20 La acción sedante se sometió a prueba mediante estudio de la motilidad espontánea. Para ello se sometieron a prueba ratones NMRI (Charles River, Sulzfeld, n = 8 por grupo) por medio de técnica de infrarrojo inmediatamente tras la administración de la disolución de prueba con respecto a una acción sedante, en la que se midió la actividad de movimiento. Para ello se midieron en una jaula las superaciones de líneas en el transcurso de 10 minutos. En comparación con el control, el extracto de acuerdo con la invención no presentaba ninguna acción sedante.

25 **Ejemplo 8: Prueba sobre la duración de la anestesia**

En otra prueba se sometió a estudio la duración de la anestesia inducida con éter en ratones NMRI hembra (Charles River, Sulzfeld, n = 8). No pudo observarse ninguna prolongación de la duración de la anestesia; esto muestra igualmente que las preparaciones de extracto de acuerdo con la invención no tienen acción sedante.

Ejemplo 9: Estudio de la acción antidepresiva

La prueba de natación forzada (FST) desarrollada por Porsolt (Porsolt *et al.*, 1978. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments, Eur J Pharmacol 47, 379-391) ofrece una prueba más específica sobre la actividad antidepresiva.

5 Los animales de ensayo (ratas) se confrontaron en una denominada "prueba de natación" con una situación de estrés, de la que no pueden escaparse por sí solas. Para ello se dejan ratas en primer lugar en un ensayo previo (acondicionamiento), un día antes de la propia prueba, durante 15 minutos en un cilindro de vidrio relleno con agua. La altura de llenado está adaptada al peso corporal de los animales, de modo que cada animal se apoya con las patas y la cola y con movimientos de natación mínimos puede mantener la nariz por encima del agua. Los animales aprenden tras una fase que persiste durante más tiempo de movimientos de natación y buceo firmes, que no es posible una liberación de la situación y adoptan una postura corporal característica, casi sin movimientos, curvada con los párpados cerrados en su mayor parte ("*despair behavior*", comportamiento de desesperación). 24 horas tras este ensayo previo se realiza la prueba con extracto de valeriana, en la que las ratas se introducen de nuevo en el cilindro con agua y se registra durante un espacio de tiempo de 5 minutos la duración de la inmovilidad de manera acumulativa.

Para la prueba de las preparaciones de valeriana en ratas CD macho se trató previamente durante 16 días, se usó la preparación de acuerdo con el ejemplo 2b). Cinco horas tras el último tratamiento se colocaron las ratas en cilindros de plexiglás transparentes de 40 cm de altura con un diámetro de 18 cm. Los cilindros se llenaron antes de cada tanda de ensayo con agua caliente a 25 ± 1 °C, ascendiendo la altura de llenado dependiendo del peso de la rata a 17-20 cm. El ensayo se grabó por medio de una videocámara y se registró manualmente la duración de la inmovilidad de los animales más tarde en el monitor.

Los antidepresivos como Diazepam provocan un acortamiento de la duración de la inmovilidad, los animales permanecen durante un mayor tiempo en la fase de natación activa.

En esta prueba acertaba 1 mg/kg de Diazepam la duración de la inmovilidad en un 28 % con respecto al grupo control. Para un extracto primario de raíces de valeriana con EtOH al 35 % (UB 2004-18, ejemplo 5) no se estableció con una dosificación de 125 mg/kg ninguna modificación con respecto al grupo control. Por el contrario, el extracto de valeriana de acuerdo con la invención consiguió tras la purificación a través de adsorbedor hidrófobo (UB 2005-78-2, ejemplo 2b)) con igual dosificación de 125 mg/kg una reducción de la duración de la inmovilidad en un 36 %, que era estadísticamente significativo en comparación con el grupo control.

30 Además se obtiene una diferencia estadística y altamente significativa entre la concentración de 12,5 mg y 10 veces la dosificación de 125 mg.

Ejemplo 10: Fabricación de extracto espeso

35 Se introdujeron 10,5 kg de *Radix Valerianae offic.* (0,23 % de ácidos valerénicos) en un extractor y se trataron durante 3 h con vapor de agua caliente de abajo arriba. A este respecto se descargaron componentes volátiles del extractor y se condensaron. El condensado acuoso dentro y fuera el extractor se desechó. A continuación se mezcló la droga tratada previamente de ese modo con etanol al 30 % v/v en la proporción 1:14 y se percoló a 40 °C en el extractor Holstein-Kappert de manera exhaustiva. El eluido se purgó de la droga y a través de un paso de bolsa de tamizado de 250 µm se liberó de los restos de droga. El percolado se evaporó en un evaporador de platos y se condujo sin disolvente mediante adición de agua.

40 Como rendimiento resultaron 4,9 kg de extracto espeso con una proporción de sustancia seca del 66,0 %. Calculados en el extracto seco nativo están contenidos < 0,02 % de valepotriatos, el 0,015 % de ácido iso-valérico, el 0,23 % de ácidos valerénicos totales, de estos el 0,11 % de ácido valerénico, el 0,09 % de ácido acetoxivalerénico y el 0,03 % de ácido hidroxivalerénico.

Ejemplo 11: Extracto de acuerdo con la invención

45 Una porción de 606 g de extracto del ejemplo 10, que correspondían a 400 g de equivalente de extracto seco, se diluyó con agua desmineralizada hasta obtener una proporción de sustancia seca del 10 % y se homogeneizó durante 30 minutos con agitación. Resultó una disolución oscura, homogénea.

50 Ésta se añadió a una resina de adsorbedor hidrófobo (XAD-4) en una columna de vidrio que estaba rellena con aproximadamente 4 l de resina húmeda, que correspondían a aproximadamente 1600 g de resina seca. Con una velocidad de 3 volúmenes de lecho de la resina por hora se realizó la etapa de purificación. Tras la purificación de la disolución de extracto de partida pudo determinarse aún el 85 % de la cantidad de partida.

Esta disolución se evaporó para obtener el extracto espeso y se convirtió con el coadyuvante de secado maltodextrina en la proporción del 80 % nativo: 20 % de maltodextrina por secado por pulverización en una preparación de extracto seco (UB 2006-66).

Esta preparación de extracto de valeriana de bajo contenido en olor tenía una pérdida de secado del 4,0 % y contenía: < 0,02 % de valepotriatos, el 0,008 % de ácido iso-valérico, el 0,113 % de ácidos valerénicos totales, de estos el 0,07 % de ácido valerénico, el 0,04 % de ácido acetoxivalerénico y el 0,003 % de ácido hidroxivalerénico.

- 5 La prueba en el modelo de EPM sobre propiedades ansiolíticas dio como resultado con 100 mg de dosificación / kg de peso corporal de ratas NMRI hembra, 60 min tras la administración oral: aumento del tiempo en los brazos abiertos en un 30 %; aumento del número de entradas a los brazos abiertos en un 25 %, en comparación con el control.

Ejemplo 12: Fabricación de una composición farmacéutica

- 10 El extracto de acuerdo con la invención se somete con la siguiente fórmula a una preparación de comprimidos directa.

300 mg	extracto seco de valeriana de acuerdo con la invención
160 mg	de celulosa microcristalina
25 mg	de carboximetilcelulosa sódica
10 mg	dióxido de silicio altamente disperso
5 mg	estearato de magnesio

El comprimido resultante se recubrió con un recubrimiento de Eudragit E100 para reducir el olor típico de la valeriana.

Resultados de los experimentos

- 15 El extracto de acuerdo con la invención combina por consiguiente una actividad antidepresiva y ansiolítica sin presentar una acción generalmente sedante.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la fabricación de una preparación de extracto de valeriana que comprende las etapas de
- 5 a) extraer *Radix Valerianae officinalis* con agentes de extracción alcohólico-acuosos, para obtener un extracto bruto, conteniendo el agente de extracción alcohólico-acuoso entre el 10 % y el 50 % en volumen de alcohol;
 b) eliminar al menos parcialmente la proporción alcohólica del extracto bruto, para obtener un extracto espeso;
 c) poner en contacto el extracto espeso con un agente de adsorción hidrófobo;
 d) separar el agente de adsorción hidrófobo, para obtener un extracto purificado,
 e) convertir el extracto purificado en una preparación de extracto de valeriana con coadyuvantes farmacéuticamente habituales.
- 10 2. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado porque** el alcohol se selecciona de metanol, etanol, isopropanol y mezclas de los mismos.
3. Procedimiento según la reivindicación 1 o 2, **caracterizado porque** el alcohol en el extracto bruto se elimina mediante evaporación.
- 15 4. Procedimiento según al menos una de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado porque** el adsorbente hidrófobo se selecciona del grupo copolímeros de divinilbenceno, polímeros de ésteres alifáticos y polímeros de formofenol.
5. Procedimiento según al menos una de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado porque** la preparación de extracto de valeriana se convierte en una preparación de extracto seco junto con coadyuvantes de secado.
6. Preparación de extracto de valeriana que puede obtenerse según un procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 5.
- 20 7. Preparación de extracto de valeriana según la reivindicación 6, **caracterizado por** un contenido de como máximo
- ácidos valerénicos totales $\leq 0,18$ % en peso, de esto
 - ácidos acetoxivalerénicos $\leq 0,1$ %,
 - ácidos hidroxivalerénicos $< 0,01$ %,
 - valepotriatos $\leq 0,1$ % en peso, respectivamente con respecto al extracto seco nativo.
- 25 8. Preparación de extracto de valeriana según al menos una de las reivindicaciones 6 o 7, **caracterizado porque** la proporción droga/extracto se encuentra entre 3:1 y 10:1.
9. Fármaco o suplemento dietético que contiene una preparación de extracto de valeriana según al menos una de las reivindicaciones 6 a 8.
- 30 10. Uso de una preparación de extracto de valeriana según al menos una de las reivindicaciones 6 a 8 para la fabricación de un fármaco o suplemento dietético para la inhibición de la angustia y la anulación de la angustia (ansiolítico).
11. Uso de una preparación de extracto de valeriana según al menos una de las reivindicaciones 6 a 8 para la fabricación de un fármaco o suplemento dietético para la reducción de depresiones o estados de ánimo depresivos (antidepresivo).

35

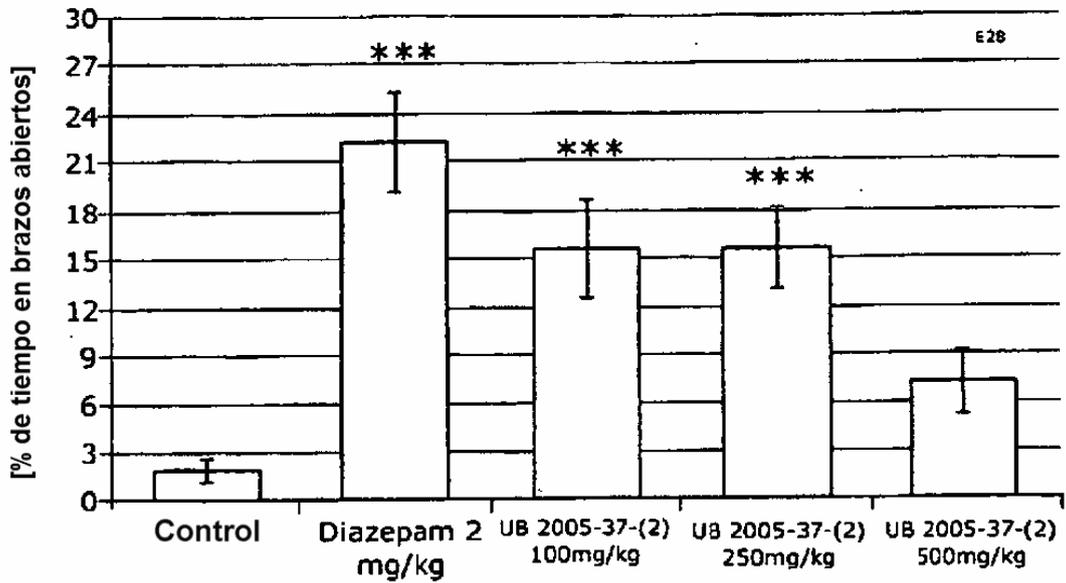
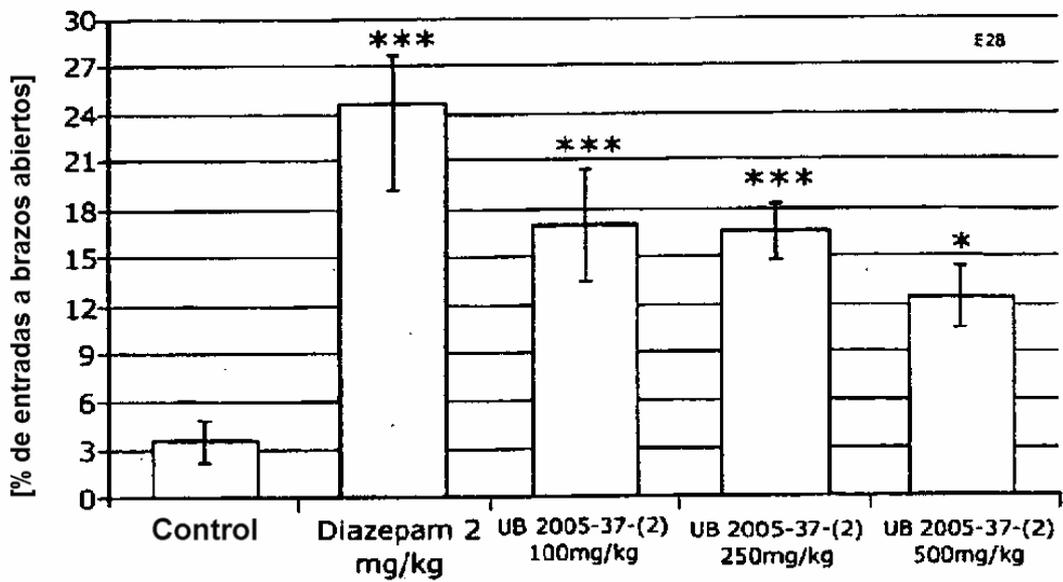


Fig.1a



* = Significativo frente a control $p < 0,05$
 ** = Significativo frente a control $p < 0,01$
 *** = Significativo frente a control $p < 0,001$

Fig.1b

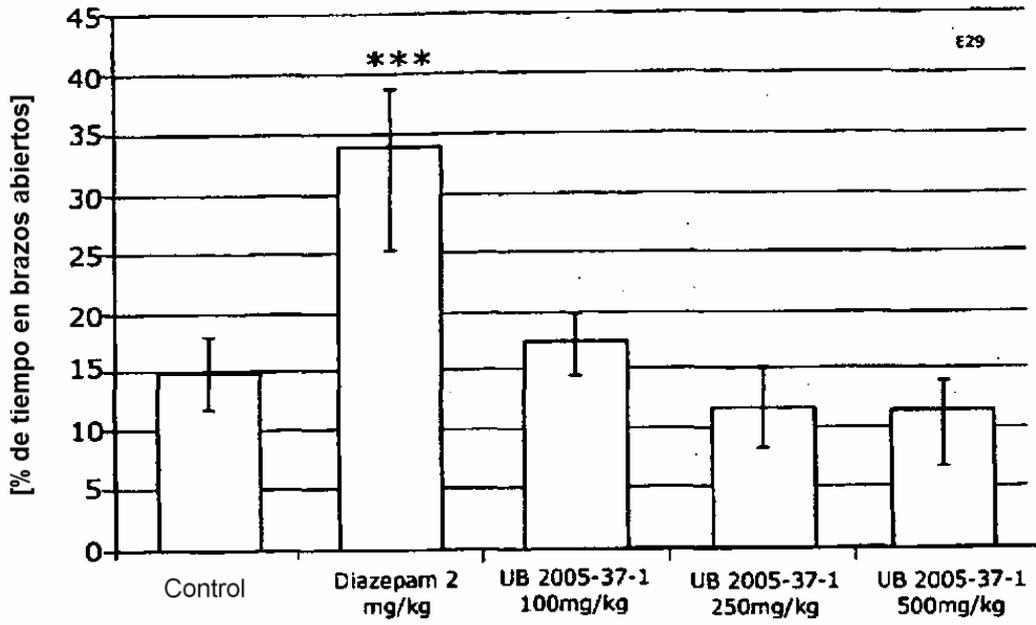
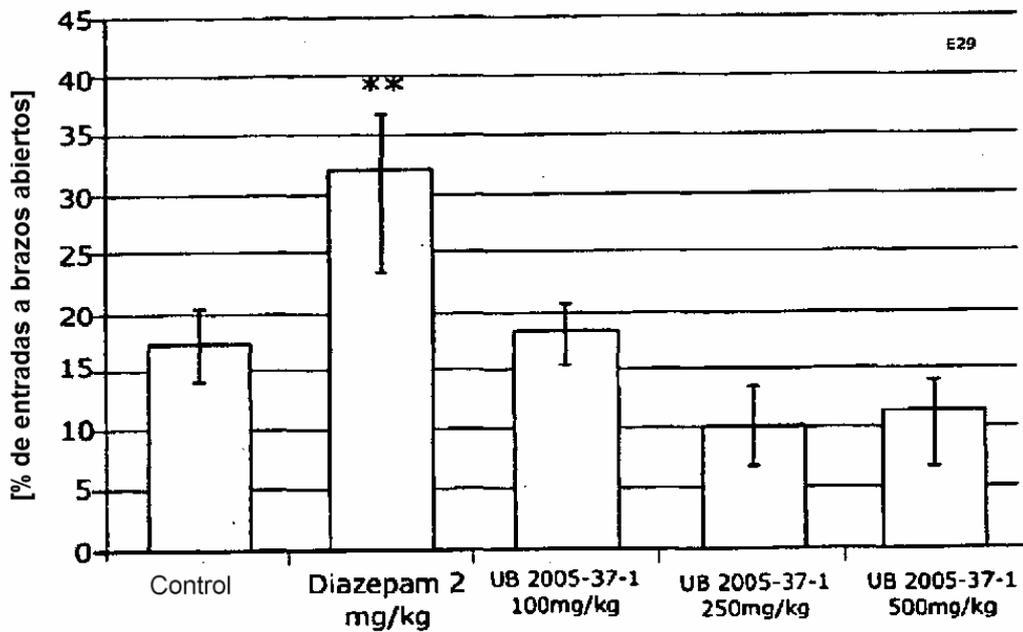


Fig.2a



* = Significativo frente a control $p < 0,05$
 ** = Significativo frente a control $p < 0,01$
 *** = Significativo frente a control $p < 0,001$

Fig.2b

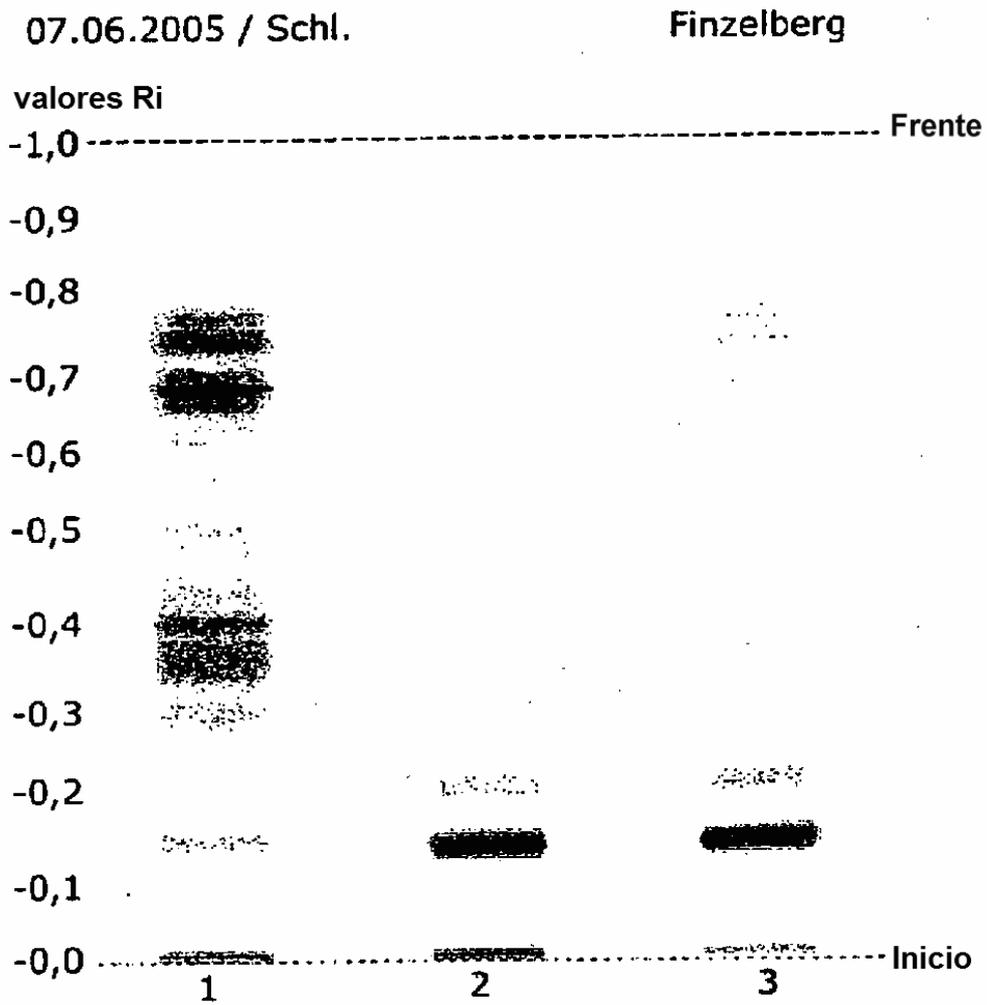
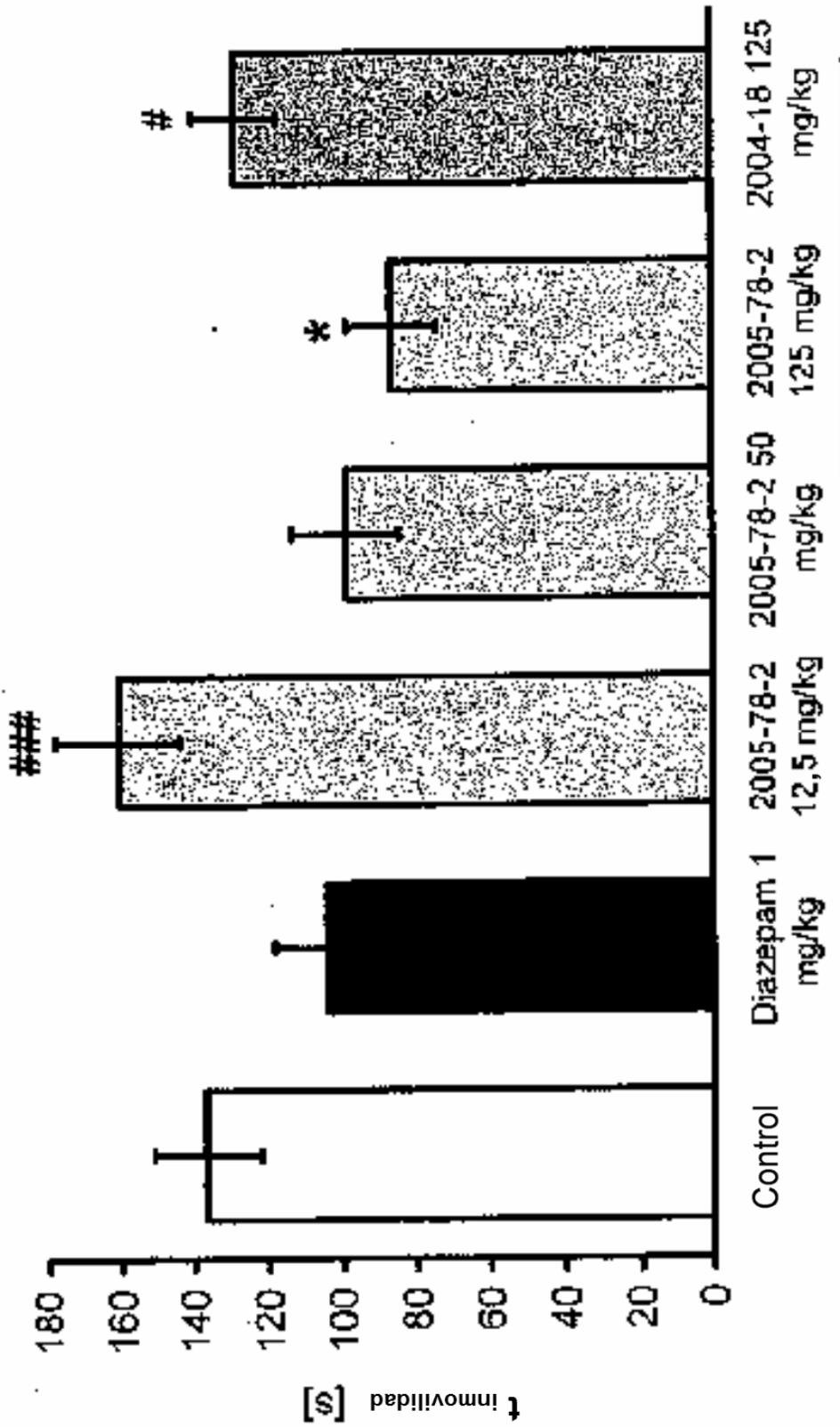


Fig.3



*: $P < 0,05$ frente a control; #: $P < 0,05$, ###: $P < 0,001$ frente a UB 2005-78-2 125 mg/kg

Fig.4