

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 459 540**

51 Int. Cl.:

A61K 36/16 (2006.01)

A61K 36/19 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.01.2011 E 11701027 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.03.2014 EP 2523674**

54 Título: **Composiciones que comprenden extractos de andrographis paniculata combinados con extractos de ginkgo biloba en complejos con fosfolípidos, y su uso.**

30 Prioridad:

12.01.2010 IT MI20100019

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

09.05.2014

73 Titular/es:

**INDENA S.P.A. (100.0%)
Via Ortles, 12
20139 Milano, IT**

72 Inventor/es:

**BOMBARDELLI, EZIO y
GIORI, ANDREA**

74 Agente/Representante:

LAZCANO GAINZA, Jesús

ES 2 459 540 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

Composiciones que comprenden extractos de *andrographis paniculata* combinados con extractos de *ginkgo biloba* en complejos con fosfolípidos, y su uso

5

Campo técnico de la invención

La presente invención se relaciona con composiciones que contienen extractos de *Andrographis paniculata* combinados con extractos de *Ginkgo biloba* en complejos con fosfolípidos, que son útiles en el tratamiento de trastornos neurodegenerativos, en particular la enfermedad de Alzheimer y la esclerosis múltiple.

10

Técnica anterior

Los trastornos tales como la enfermedad de Alzheimer y la esclerosis múltiple tienen una etiología multifactorial. particularmente, los problemas autoinmunes y problemas de inflamación vasculares se pueden identificar entre las causas de la aparición de ambos trastornos, que conducen a la degeneración de las áreas del cerebro.

15

Dicha degeneración resulta en la pérdida de memoria y pérdida de funciones periféricas.

20

Estos trastornos están creciendo rápidamente en todo el mundo debido al rápido aumento de la esperanza media de vida, especialmente en los países industrializados.

25

La enfermedad de Alzheimer es la causa más común de demencia en los países industrializados. Afecta a alrededor del 10% de la población mayor de 70, y conduce a la pérdida marcada de la memoria. Esto significa que 8-10 millones de personas se ven afectadas en el mundo occidental.

30

Clínicamente, la enfermedad de Alzheimer se presenta en las etapas iniciales con pérdida de memoria, lo que empeora durante los años hasta que evoluciona hasta una marcada demencia senil con pérdida cognitiva, y, a menudo, de la capacidad funcional.

35

Desde el punto de vista patológico, la atrofia difusa de la corteza cerebral se observó en el cerebro, con la ampliación de los surcos y los ventrículos y formación de placas extracelulares que contienen β -amiloide (Ab). Por otra parte, la acumulación de esta proteína en las paredes arteriales de los vasos cerebrales provoca su oclusión, lo que lleva a la atrofia de las partes afectadas.

40

Las bases para estas degeneraciones, asociadas con algunos genes recientemente identificados, es la inflamación vascular difusa que cataliza los procesos de modificación descritos anteriormente.

En cuanto a los tratamientos disponibles en la actualidad, los productos usados comprenden compuestos con actividad anti-acetilcolinesterasa tales como tacrina, donepezilo, un derivado de fisostigmina, y galantamina. Sin embargo, aunque el efecto inicial de estos productos es favorable, persisten las dudas en cuanto a su efectividad con el tiempo.

45

Las propuestas alternativas son el uso de estrógenos, que son aparentemente capaces de modificar el progreso de la enfermedad en mujeres, y el uso de fármacos anti-inflamatorios no esteroideos, pero en ambos casos los datos de eficacia son contradictorios.

Otros intentos con vacunaciones selectivas no han dado buenos resultados.

50

Por otra parte, los productos antes mencionados presentan problemas de toxicidad graves si se aumenta la dosis.

Los intentos recientes para el tratamiento clínico de la enfermedad de Alzheimer con productos de origen natural, como los productos que comprenden *Ginkgo biloba*, los cuales dieron resultados alentadores en estudios preliminares, posteriormente demostraron ser ineficaces, probablemente debido a su administración en dosis inadecuadas y/o a la baja absorción de los ingredientes activos.

55

Entre los ingredientes activos presentes en *Ginkgo biloba*, los diterpenos y sesquiterpenos, tales como bilobálicos y ginkgólidos, han sido identificados como compuestos potencialmente útiles en el tratamiento de trastornos neurodegenerativos, pero ninguno de ellos ha alcanzado la fase clínica para estos fines terapéuticos.

Los extractos de *Ginkgo biloba* solos probaron poseer efectos beneficiosos sobre las disfunciones cerebrales asociadas con la enfermedad de Alzheimer y la demencia senil, y una contribución significativa a la actividad de los extractos se atribuyó al bilobálico (Sasaki y otros Life science, 67, 709-15, 2000); el uso de los extractos de *Ginkgo biloba* para el tratamiento de trastornos del cerebro también era conocido por Kidd PM (Alternative medicine, 4, 144-61, 1999), quien reportó además su uso mezclado con fosfatidilserina.

Las mezclas de extractos de *Ginkgo biloba* con fosfatidilserina están presentes en el mercado de los Estados Unidos en forma de "suplementos dietéticos", designados para aumentar las funciones cognitivas y prevenir la enfermedad de Alzheimer (US 6,572,899 - JP 2003 169632 A - J. Geriatric and Neurology 11, 163-73, 1998). Los ensayos controlados no han confirmado la eficacia terapéutica deseada, por lo que se requieren diferentes enfoques tecnológicos y terapéuticos para obtener buenos resultados.

Se sabe que cuando los extractos de *Ginkgo biloba* están en complejo con fosfolípidos, hay un aumento en la biodisponibilidad de las especies químicas de los extractos que se consideran como ingredientes activos. La absorción de los ingredientes activos y una concentración adecuada de los mismos en el cerebro es extremadamente importante en el tratamiento de trastornos de ese órgano.

Recientemente, en WO 2005/074956 y Human Psychopharmacology 22, 1999-2010, 2007, se demostró que la administración del complejo de *Ginkgo biloba* con fosfolípidos, particularmente con fosfolípidos que contienen 10 a 50% de fosfatidilserina, es activo en el tratamiento y prevención de trastornos relacionados con una reducción de la capacidad cognitiva, tal como, demencia senil y enfermedad de Alzheimer.

EP 0 441 297 B1 da a conocer el complejo de bilobálico con fosfolípidos, incluyendo fosfatidilserina, lo que demuestra un efecto antiinflamatorio notable cuando se administra tópicamente o sistémicamente.

Más recientemente se informó de que la administración de los complejos de *Ginkgo biloba* con fosfolípidos conduce a la detección de cantidades mucho más altas de ingredientes activos en el cerebro que la administración de la forma no acomplexada (Rossi R. y otros, J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 50, 224-27, 2009).

WO 2005/074953 describe composiciones de diterpeno labdano extraídos de *Andrographis paniculata*, que son útiles en el tratamiento de enfermedades autoinmunes y la enfermedad de Alzheimer.

No todas las mezclas descritas en la literatura y presentes en el mercado satisfacen plenamente los requisitos terapéuticos. En consecuencia, existe una necesidad de identificar nuevas composiciones que sean eficaces en el tratamiento de los trastornos neurodegenerativos, en particular la enfermedad de Alzheimer y la esclerosis múltiple, y que tengan en cuenta los diferentes efectos, tales como los efectos inmunomoduladores, anti-inflamatorios y vasocinéticos.

Como la patogénesis de trastornos neurodegenerativos es compleja y multifactorial, está claro que es poco probable que un solo ingrediente activo modifique su progreso; por lo tanto, se necesitan combinaciones de extractos que, por diferentes razones, pueda actuar sobre un número de los factores desencadenantes de estos trastornos, así como que reduzca su progreso.

Resumen de la invención

La presente invención se refiere a una composición que comprende:

- (a) un extracto de *Andrographis paniculata* o andrografólido puro,
- (b) un extracto de *Ginkgo biloba* en complejos con fosfolípidos.

La presente invención se refiere además al uso de una composición que comprende:

- (a) un extracto de *Andrographis paniculata* o andrografólido puro,
- (b) un extracto de *Ginkgo biloba* en complejos con fosfolípidos,

para el tratamiento de trastornos neurodegenerativos, en particular la enfermedad de Alzheimer y la esclerosis múltiple.

Descripción detallada de la invención

Se ha encontrado ahora, sorprendentemente, que las composiciones obtenidas mediante la combinación de extractos de *Andrographis paniculata* con extractos de *Ginkgo biloba* en complejos con fosfolípidos, son útiles en el tratamiento de trastornos neurodegenerativos, particularmente enfermedad de Alzheimer y la esclerosis múltiple.

- 5 La presente invención se refiere a una composición que comprende:
- (a) un extracto de *Andrographis paniculata* o andrografólido puro,
 - (b) un extracto de *Ginkgo biloba* en complejos con fosfolípidos.
- 10 El extracto de *Andrographis paniculata* se prepara preferentemente a partir de las partes aéreas de la planta fresca o deshidratada por extracción de la biomasa con alcoholes miscibles con agua, preferentemente con etanol, o, dependiendo del material vegetal de partida, con cetonas y/o ésteres y éteres alifáticos. Después de concentrar los extractos primarios a un pequeño volumen bajo vacío, los residuos se distribuyen entre agua y disolventes inmiscibles para concentrar el ingrediente activo, andrografólido, selectivamente hasta que se alcancen las concentraciones deseadas en el extracto final.
- 15 El extracto de *Andrographis paniculata* contiene preferentemente andrografólidos (tales como andrografólido, 14-deoxi-11,12-didehidroandrografólido y neo-andrografólido) de 20% a 60%, y con mayor preferencia 35%.
- 20 Además, de acuerdo con otro aspecto de la invención, el andrografólido puro, obtenible de acuerdo con procesos conocidos, pueden usarse para formulaciones particulares, aunque se prefieren particularmente los extractos enriquecidos con *Andrographis paniculata* porque proporcionan los mejores datos de biodisponibilidad y actividad.
- 25 El extracto de *Ginkgo biloba* usado contiene preferentemente 20 a 30% de glicósidos de flavona de Ginkgo, con mayor preferencia 24%, y una mezcla de diterpenos/sesquiterpenos preferentemente está en el intervalo entre 2 y 10%, y con mayor preferencia aproximadamente 6%.
- El extracto de *Ginkgo biloba* en complejo con una mezcla de fosfolípidos, se prepara de acuerdo con métodos de preparación conocidos (tales como US 5,043,323 y US 5,202,313).
- 30 Una mezcla de fosfolípido crudo que contiene preferentemente 5 a 50% de fosfatidilserina, la cual mejora la biodisponibilidad de los ingredientes activos, puede usarse para formar el complejo de *Ginkgo biloba* con fosfolípidos. De acuerdo con un aspecto preferido de la invención, la mezcla de fosfolípidos contiene 20% fosfatidilserina.
- 35 Se ha encontrado ahora sorprendentemente que mediante la combinación de un extracto de *Andrographis paniculata* con un extracto de *Ginkgo biloba* en complejo con una mezcla de fosfolípidos, que contiene preferentemente fosfatidilserina, las degeneraciones neurovasculares típicas de la enfermedad de Alzheimer, y parcialmente de esclerosis múltiple, pueden reducirse en animales de laboratorio, y mejora la capacidad cognitiva después de sólo una semana de tratamiento oral.
- 40 Las dosis de extracto de *Andrographis paniculata* que han demostrado ser eficaces en la composición están en el intervalo entre 0.5 y 2 mg por kilo de peso corporal, administrado una a tres veces al día. Para el complejo de *Ginkgo biloba* con fosfolípidos, la dosis está en el intervalo entre 100 y 300 mg por forma farmacéutica, como se ilustra en los ejemplos más abajo.
- 45 En pruebas específicas, las composiciones de acuerdo con la invención demuestran la capacidad de controlar el progreso de trastornos neurodegenerativos tales como la enfermedad de Alzheimer y la esclerosis múltiple.
- Además, el Solicitante ha encontrado sorprendentemente que las composiciones descritas anteriormente, cuando se administra en aceites ricos en ácidos grasos poliinsaturados ω -3, demuestran un efecto sinérgico adicional entre el extracto de *Andrographis paniculata* y el extracto de *Ginkgo biloba* en complejos con fosfolípidos.
- 50 La composición se puede incorporar en las formulaciones farmacéuticas más comunes, tales como cápsulas de gelatina blandas o duras y cápsulas de celulosa, en particular las que son adecuadas para contener aceites, comprimidos y supositorios.
- 55 Se prefiere particularmente el uso de cápsulas de celulosa
- Una formulación preferida es la formulación de celulosa, en donde los ingredientes activos de la composición se suspenden en aceites vegetales o animales ricos en ácidos grasos poliinsaturados ω -3.

Los aceites usados pueden ser aceites vegetales, tales como aceites de *Linum usitatissimum*, *Oenothera biennis* y *Ribes nigrum* y derivados de estos, o aceites animales, tal como aceite de pescado, y derivados de estos.

5 De acuerdo con otro aspecto preferido, 250 mg del complejo de *Ginkgo biloba* con fosfolípidos que contienen fosfatidilserina se pueden dispersar en la formulación en aceite junto con 150 mg de extracto de *Andrographis paniculata* que tiene un contenido de 35% de andrografólido.

10 De acuerdo con otro aspecto, las composiciones de acuerdo con la invención pueden administrarse junto con otras sustancias que poseen actividad útil o complementaria.

15 Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención se pueden formular de acuerdo con técnicas convencionales, tales como las descritas en "Remington's Pharmaceutical Handbook", Mack Publishing Co., N.Y., USA. Particularmente, las composiciones de acuerdo con la invención se formulan de acuerdo con técnicas convencionales de formulación de ingredientes de plantas, que requieren que se adopte especial cuidado para evitar interacciones con los excipientes y las matrices de las cápsulas.

EJEMPLOS

20 Los ejemplos dados a continuación ilustran adicionalmente la invención.

Ejemplo 1 - Preparación de cápsulas de celulosa con aceite de onagra

extracto de <i>Andrographis paniculata</i> (35% andrografólidos)	150 mg
extracto de <i>Ginkgo biloba</i> en complejo con fosfolípido	250 mg
Aceite de onagra	csp para 600 mg

Ejemplo 2 - Preparación de cápsulas de celulosa con aceite de pescado modificado

extracto de <i>Andrographis paniculata</i> (35% andrografólidos)	150 mg
extracto de <i>Ginkgo biloba</i> en complejo con fosfolípido	250 mg
Etil eicosapentaenoato	csp para 600 mg

Ejemplo 3 - Preparación de cápsulas de gelatina dura

extracto de <i>Andrographis paniculata</i> (35% andrografólidos)	150 mg
<i>Ginkgo biloba</i> con fosfatidilserina	150 mg

Ejemplo 4 - Efecto de la composición (Ejemplo 1) en el tiempo de vuelo en ratones doble transgénicos APPswe/PS1

35 El modelo experimental en el que se realizó el estudio es el ratón transgénico APPswe/PS1.

Este modelo animal expresa la presenilina 1 del gen humano (delta E9) y el gen quimérico ratón/humano de la proteína precursora amiloide (APP), que a su vez contiene la mutación sueca.

40 Se demostró previamente que este modelo animal se caracteriza por la deposición de amiloide anormal, con la pérdida progresiva de memoria (Borchelt D. y otros Neuron 19, 1997, 939-945), demostrando de este modo uno de los modelos más predictivos para el estudio de fármacos diseñados para tratar la enfermedad de Alzheimer.

45 El tratamiento de 20 ratones transgénicos por grupo con la composición descrita en el ejemplo 1 y los ingredientes individuales demuestra que la composición de acuerdo con la invención reduce significativamente la pérdida de memoria inducida por la acumulación de amiloide en el ratón transgénico, como se demuestra en la prueba del paradigma del laberinto de agua de Morris (Morris RGM, J. Neurosci. Methods 1984; 11:47-60).

Particularmente, se encontró una sorprendente sinergia de acción entre los ingredientes de la composición (Tabla 1).

Tabla 1

Grupo	Tiempo de vuelo (seg)	% Aumento
Ratón normal	15 ± 2	--
Ratón transgénico	75 ± 3	400
Extracto de <i>Andrographis paniculata</i>	50 ± 2	233
Complejo de <i>Ginkgo biloba</i> con fosfolípidos	65 ± 3	333
Composición de acuerdo con la invención (Ejemplo 1)	25 ± 2	66

Ejemplo 5 - Efecto de la composición (Ejemplo 1) en la encefalitis autoinmune en ratón

El modelo animal utilizado para evaluar los productos en el tratamiento de la esclerosis múltiple es la Encefalomiелitis Autoinmune Experimental (EAE) del ratón. Este modelo experimental se caracteriza por la aparición de áreas focales de desmielinización del sistema nervioso central con la pérdida de funcionalidad axonal y parálisis ascendente progresiva de las patas delanteras y traseras (Iruretagoyena M.I. y otros, J. Pharm. Exp. Therapeutics, 312, 366-372, 2005).

Ratones hembra C57BL/6 se inyectaron por vía subcutánea con 50 µg de péptido MOG₃₅₋₅₅ (el código MOG identifica la glicoproteína de la mielina de oligodendrocitos de ratón) emulsionada en adyuvante de Freund (Gibco BRL, JPET # 725128 NY) con la adición de H37 RA desactivado de *Mycobacterium tuberculosis* (Difco Laboratories, Detroit, MI). Los ratones también reciben una inyección intraperitoneal de 500 ng de toxina de Pertussis (Calbiochem La Jolla, CA) en el momento de la sensibilización, y 48 horas a partir de entonces. Los signos clínicos de la enfermedad aparecen entre 15 y 18 días después de la sensibilización, y se registraron diariamente sobre la base de las siguientes puntuaciones:

- 0 = sin signos de EAE
- 1 = cola fría
- 2 = debilidad de las patas traseras o alteración de la marcha
- 3 = parálisis completa de las patas traseras
- 4 = parálisis completa de patas delanteras y traseras
- 5 = muerte

Los datos clínicos medios se calculan sumando las puntuaciones diarias de los ratones que pertenecen al mismo grupo de tratamiento, y dividiendo por el número de ratones. El tratamiento de 20 ratones transgénicos por grupo con la composición descrita en el Ejemplo 1 y los ingredientes individuales (comenzó 1 semana antes de la sensibilización con el péptido MOG y continuó durante todo el experimento) demuestra que la composición de acuerdo con la invención reduce significativamente todos los parámetros evaluados, y al mismo tiempo demuestra una sorprendente sinergia de acción entre los ingredientes de la composición (Tabla 2).

Tabla 2

Grupo	Incidencia	Puntuación (máxima)	Promedio de puntuaciones máximas
Control	20/20 (100%)	5	3.9 ± 0.1
Extracto de <i>Andrographis paniculata</i>	7/20 (35%)	4	2.9 ± 0.1*
Complejo de <i>Ginkgo biloba</i> con fosfolípidos	4/20 (20%)	5	3.3 ± 0.1
Composición de acuerdo con la invención (Ejemplo 1)	12/20 (75%)	2	2.2 ± 0.1**
* p<0.05 prueba t de Student ** p<0.01 vs. control			

REIVINDICACIONES

1. Composición que comprende:
 - 5 (a) un extracto de *Andrographis paniculata* o andrografólido puro,
 - (b) un extracto de *Ginkgo biloba* en complejos con fosfolípidos.
2. Composición de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el extracto de *Andrographis paniculata* contiene 20% a 60% de andrografólidos, preferentemente 35%.
10
3. Composición de acuerdo con la reivindicación 2, en donde los andrografólidos son andrografólido, 14-deoxi-11,12-didehidroandrografólido, y neoandro-grafólido.
4. Composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el extracto de *Ginkgo biloba* contiene de 20% a 30% de glicósidos de flavona de Ginkgo, y de 2% a 10% de una mezcla de diterpenos/sesquiterpenos.
15
5. Composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde los fosfolípidos comprender fosfatidilserina.
20
6. Composición de acuerdo con la reivindicación 5, en donde la fosfatidilserina está en el intervalo de 5 a 50%.
7. Composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que además comprende aceites vegetales o animales ricos en ácidos grasos poliinsaturados ω -3.
25
8. Composición de acuerdo con la reivindicación 7, en donde los aceites se seleccionan de aceite de *Lithium usitatissimum*, aceite de *Oenothera biennis*, aceite de *Ribes nigrum*, aceite de pescado; y derivados de estos.
9. Composición que comprende:
 - 30 (a) un extracto de *Andrographis paniculata* o andrografólido puro,
 - (b) un extracto de *Ginkgo biloba* en complejos con fosfolípidos, para usar en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas.
- 35 10. Uso de una composición que comprende:
 - (a) un extracto de *Andrographis paniculata* o andrografólido puro,
 - (b) un extracto de *Ginkgo biloba* en complejos con fosfolípidos, para la fabricación de un medicamento para el
40 tratamiento de enfermedades neurodegenerativas.
11. Uso de acuerdo con la reivindicación 10, para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.
12. Uso de acuerdo con la reivindicación 10, para el tratamiento de esclerosis múltiple.