

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 545 152**

51 Int. Cl.:

A61K 36/185 (2006.01)

A61K 36/515 (2006.01)

A61K 36/70 (2006.01)

A61K 36/85 (2006.01)

A61P 11/12 (2006.01)

A61P 31/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.08.2012 E 12762228 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.06.2015 EP 2744504**

54 Título: **Procedimiento para la preparación de extractos secos**

30 Prioridad:

19.08.2011 EP 11178206

15.12.2011 EP 11193734

30.05.2012 EP 12170125

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

08.09.2015

73 Titular/es:

**BIONORICA SE (100.0%)
Kerschensteiner Strasse 11-15
92318 Neumarkt, DE**

72 Inventor/es:

POPP, MICHAEL

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 545 152 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

Procedimiento para la preparación de extractos secos

5 La invención se refiere a un procedimiento para la preparación de extractos secos de plantas y a las preparaciones farmacéuticas que contienen los mismos, especialmente fitofármacos, que contienen al menos un extracto etanólico/acuoso de una planta (droga), en el que las plantas están seleccionadas del grupo compuesto por: *Rumex acetosa* L., *Rumex acetosella* L., *Rumex obtusifolius* L., *Rumex patientia* L., y *Rumex crispus* L. (en lo sucesivo denominadas con el concepto genérico "*Rumicis herba*"); *Verbena officinalis*; *Sambucus nigra*; *Primula veris*; y *Gentiana lutea* así como sus mezclas. La invención se refiere además a un fármaco para el tratamiento de enfermedades inflamatorias y/o infecciosas de la zona de la nariz-faringe y/o senos nasales así como a un suplemento dietético y a su uso.

15 Las plantas medicinales anteriormente mencionadas son conocidas como expectorantes en las infecciones de las vías respiratorias superiores, especialmente en sinusitis. Cada droga individual lleva a este respecto una parte para la eficacia única de la composición:

20 de *Gentiana lutea* (genciana amarilla, raíz de genciana) se utiliza con fines medicinales, por regla general, la raíz. Entre los componentes se encuentran, entre otros, distintos glicósidos secoiridoides con efecto expectorante.

25 De las especies de *Rumex* mencionadas, en lo sucesivo denominada "*Rumicis herba*" (vinagrera, acedera común), se utilizan con fines medicinales, por regla general, las hojas y tallos. En este caso se encuentran los flavonoides y distintos taninos como componentes con efecto antiinflamatorio, que además ayudan de manera positiva a las defensas del cuerpo.

30 Bajo el concepto genérico "*Rumicis herba*" (acedera común) se entiende una mezcla de las siguientes especies:

35 *Rumex acetosa* L., sinónimo: *Lapathum acetosa* SCOP, sinónimo: *Lapathum pratense* LAM, sinónimo: *Acetosa pratensis* MILLER; *Rumex acetosella* L., sinónimo: *Rumex infestus* SALISB;
Rumex obtusifolius L., sinónimo: *Lapathum obtusifolium* MOENCH, sinónimo: *Lapathum obtusantum* MONTAD, sinónimo: *Rumex actus* WALLR, sinónimo: *Rumex silvestris* WALLR;
Rumex patientia L., sinónimo: *Rumex olympicus* BOISS., sinónimo: *Lapathum hortense* MOENCH;
Rumex crispus L.;
Rumex thyrsoiflorus FINGERH., sinónimo: *Acetosa thyrsoiflora* FINGERH, sinónimo: *Rumex acetosa subsp. auriculatus* WALLR.

40 De *Verbena officinalis* (verbena, hierba de verbena) se utilizan preferentemente con fines medicinales las hojas y tallos, que contienen como componentes principales glicósidos iridoides, glicósidos feniletanoides y flavonoides, por los que se obtienen efectos expectorantes y antivirales.

45 De *Sambucus nigra* (saúco negro, saúco común) se utilizan típicamente con fines medicinales las flores, cuyos componentes contienen diferentes flavonoles glicósidos y como principal principio activo contiene sambuginina, un glicósido cianogénico que actúa como expectorante y antiviral (Grabovac, A. y Ullmer, A., *Österreichische Apotheker-Verlagsgesellschaft* m.b.H., 2003).

50 De *Primula veris* (prímula, flor de prímula) se utilizan con fines medicinales las flores y el cáliz. Los componentes comprenden saponinas triterpeno y glicósidos fenólicos, como primulaverina. Actúan como expectorantes y luchan contra virus. Los componentes actúan como secretolítico y expectorante suave en el tratamiento de enfermedades de las vías respiratorias.

55 La combinación de las plantas medicinales mencionadas es conocida como secretolítica bajo la marca registrada para el solicitante de la inscripción Sinupret® y está desde hace unos 75 años en el mercado. Las plantas medicinales utilizadas en Sinupret® se seleccionan, analizan y procesan específicamente. Las plantas obtenidas alcanzan la calidad constante del fármaco de los fabricantes, la empresa BIONORICA, mediante estrategias de cultivo y recolección optimizadas y un riguroso control de calidad.

60 La composición que sirve de base a Sinupret® es efectiva preferentemente en inflamaciones e infecciones de la zona de la garganta, nariz y oído y es apropiada especialmente para el tratamiento de la sinusitis y/o rinosinusitis aguda y crónica.

65 Tanto la sinusitis aguda como la crónica son frecuentes. En tres de cada cuatro casos, la sinusitis se desarrolla como resultado de un resfriado con un ensanchamiento de los senos nasales, que va acompañado de inflamación de las mucosas. Las vías respiratorias llegan de los senos nasales con los distintos senos hasta los alveolos pulmonares. Entre los senos nasales se cuentan los senos frontales, los senos etmoidales, los senos esfenoidales y los senos maxilares. Todas las cavidades óseas mencionadas están revestidas anteriormente con membranas mucosas y desembocan por aperturas estrechas, los ostium, en la cavidad nasal principal.

La superficie de las vías respiratorias está revestida de una mucosa protectora, en la que se quedan adheridas partículas de suciedad y gérmenes patógenos como virus, bacterias u hongos, que penetran con el aire que se respira. La membrana contiene anticuerpos que atacan las sustancias que penetran y las hacen inofensivas. Para que las sustancias extrañas puedan eliminarse del cuerpo, la mucosa se evacúa por regla general con ayuda de los cilios del epitelio ciliado en dirección de la faringe, donde puede tragarse.

Para poder protegerse de las enfermedades de las vías respiratorias causadas por infecciones, la mucosa debe estar provista libremente de mecanismos de protección y limpieza. Para la evacuación de la mucosa cargada con los patógenos es indispensable la función libre de los cilios, que transportan posteriormente la mucosa con movimientos ondulados. En una infección, así como en procesos de inflamación de las vías respiratorias superiores, los mecanismos de protección y limpieza de la membrana mucosa tienen una funcionalidad limitada.

Por ejemplo, los virus como rinovirus, adenovirus o coronavirus provocan reacciones inflamatorias de las membranas mucosas, por las cuales la membrana mucosa se hincha y aumenta la producción de mucosidad. A este respecto, el flujo de mucosidad es acuoso al principio y después viscoso. En el transcurso de la inflamación de la membrana mucosa nasal, los ostium de los senos nasales pueden hincharse y obstaculizar o incluso impedir el drenaje de mucosidad. Esto lleva a una congestión en los senos nasales unidos con la mucosidad espesa, que lleva a una merma de función o pérdida de función de los cilios. Esto causa por último una merma del mecanismo de limpieza de la membrana mucosa.

Tal microambiente favorece la rápida proliferación de microorganismos presentes de manera ubicua.

En el caso de una larga duración de estas condiciones desfavorables, como por ejemplo una membrana mucosa hinchada y cilios pegados por una mucosidad viscosa, puede llevar a una sinusitis crónica, con el resultado de un daño permanente de la membrana mucosa y del epitelio ciliado. Patógenos relevantes de las vías respiratorias, entre los que se entienden también especialmente gérmenes relacionados con la otorrinolaringología, que anidan en la mucosidad, son, por ejemplo, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus mutans* o *Haemophilus influenzae*.

En el caso de una adhesión de las vías respiratorias superiores por mucosidad espesa, los componentes de la composición utilizada (*Gentiana lutea* : *Rumicis herba* : *Verbena officinalis* : *Sambucus nigra* : *Primula veris* = 1:3:3:3:3) inducen la formación de mucosidad nueva y fluida, por lo cual se logra el proceso anteriormente descrito de disolución de mucosidad y evacuación así como la disminución de los síntomas de inflamación y se inicia el proceso de curación de la membrana mucosa nasal Sinupret® consigue de manera cuidadosa la recuperación de la capacidad de autodepuración de las vías respiratorias y desarrolla al mismo tiempo un fuerte efecto antimicrobiano. Un rasgo distintivo de Sinupret® es su buena digeribilidad, cuya composición y dosis ha determinado BIONORICA, que rara vez causan efectos secundarios en los pacientes y además no se conoce ninguna interacción con otros fármacos.

Los extractos secos de plantas están descritos en general y los extractos secos de plantas son conocidos de extractos acuosos/etanólicos.

Los extractos secos de plantas pueden prepararse por ejemplo, según la enseñanza técnica del documento EP0753306, en grandes cantidades.

Sin embargo, existe una gran necesidad de poner a disposición un nuevo extracto seco de plantas Sinupret® que presente un efecto mejorado ventajoso de la combinación de plantas.

La farmacopea alemana (FA) 2010 fija niveles mínimos de componentes para la calidad de la droga, de modo que, para una calidad constante y mejorada, deben realizarse esfuerzos con más frecuencia. Precisamente los procedimientos de extracción y secado representan un obstáculo para una calidad suficiente de los fitofármacos.

A partir de este estado de la técnica es por lo tanto objetivo de la presente invención poner a disposición un procedimiento mejorado para la preparación de un extracto seco de plantas y también un extracto seco de plantas mejorado que contiene al menos una etapa de extracción etanólica/acuosa, en la que las plantas están seleccionadas del grupo compuesto por: *Rumex acetosa* L., *Rumex acetosella* L., *Rumex obtusifolius* L., *Rumex patientia* L., y *Rumex crispus* L. (en lo sucesivo y en las reivindicaciones denominadas con el concepto genérico "Rumicis herba"); *Verbena officinalis*; *Sambucus nigra*; *Primula veris* y/o *Gentiana lutea* y sus mezclas.

De manera sorprendente, pudo obtenerse un extracto seco de plantas mejorado mediante una extracción doble, en la que en una primera etapa se realizó una extracción acuosa/etanólica y, en una segunda etapa, una extracción acuosa.

De manera sorprendente puede enriquecerse mediante este procedimiento según la invención el porcentaje de principios activos beneficiosos en la mezcla de principios activos existente en cada extracto total después del secado, de manera que se consigue una eficacia farmacológica mejorada del extracto seco de plantas obtenido.

Por lo tanto, la invención se refiere a un procedimiento para la preparación de extractos secos de plantas, con las etapas:

- 5 a.) extracción alcohólica/acuosa de *Rumicis herba*, *Verbena officinalis*, *Sambucus nigra*, *Primula veris* y *Gentiana lutea*,
- b.) separación del sobrenadante,
- c.) segunda extracción acuosa del residuo de a.),
- d.) separación del sobrenadante,
- 10 e.) combinación de los sobrenadantes obtenidos de b.) y d.),
- f.) secado de los sobrenadantes y obtención del extracto seco de planta.

La mejora según el procedimiento consiste en que, en comparación con un simple extracto acuoso-etanólico habitual, se consigue una eficacia más rápida, véanse los ejemplos. Esto resulta sorprendente, ya que con un cambio del disolvente para la extracción podría haberse esperado en todo caso una extrapolación lineal (por ejemplo, si se extrae exclusivamente de manera acuosa/etanólica o exclusivamente acuosa).

El procedimiento según la invención permite especialmente una dosificación mejorada, de manera que con la misma dosis puede conseguirse un efecto curativo mayor.

20 Por lo tanto, la invención se refiere también a un extracto seco de plantas que se obtiene o es obtenible de acuerdo con un procedimiento según la invención (en lo sucesivo, extracto seco (de plantas) según la invención, extracto seco (ES) Sinupret).

25 En otra forma de realización preferida del procedimiento según la invención, la proporción de *Gentiana lutea* : *Rumicis herba* : *Verbena officinalis* : *Sambucus nigra* : *Primula veris* es 1:3:3: 3:3, respectivamente +/- 0,3 a 0,5 (como por ejemplo 1 : 3,2 : 2,9 : 2,5 : 3,2 : 3).

30 Además, resulta preferente que la totalidad de las plantas de todas las plantas (fármacos) esté presentada en un lote, en el que la proporción de las plantas (fármacos) es como se ha mencionado anteriormente. Además, resulta preferente que las plantas (fármacos) presentadas estén lavadas y cortadas.

35 En otra forma de realización preferida del procedimiento según la invención, el fármaco de extracción alcohólica/acuosa presenta en la etapa a.) un porcentaje 40 : 60 (v/v) a 60 : 40 (v/v), especialmente 41 : 59 (v/v) o 50 : 50 (v/v) de agua/alcohol. Resulta preferente el etanol, pero también están comprendidos metanol y propanol o sus mezclas. Además, resulta preferente el uso de etanol al 96 %.

También está previsto según la invención que la extracción en las etapas a.) y c.) se lleve a cabo a de 20 a 40 °C, y que la extracción en las etapas a.) y c.) se lleve a cabo a de 2 a 8 h.

40 En el sentido de esta invención, una "separación del sobrenadante" puede realizarse de manera continua o discontinua conforme a la extracción según la invención mediante drenaje, decantación, filtrado, tamizado o uno de los procedimientos de separación conocidos por el experto.

45 Además, resulta preferente que el secado según la etapa f.) se realice a vacío a de 30 a 60 °C, especialmente a de 40 a 50 °C, preferentemente en un secador de agitación de vacío. El extracto seco según la invención presenta un porcentaje de residuo de etanol de 0,5 % como máximo.

Se explican otros procedimientos de secado adecuados según la invención:

50 los extractos secos de plantas se preparan de manera habitual, en la que se extrae un material vegetal con ayuda de un disolvente o una mezcla de disolventes, por ejemplo mediante maceración o percolación y, tras la separación del residuo de la extracción, el extracto fluido obtenido o la tintura obtenida se concentra hasta sequedad.

55 Los procedimientos de secado tradicionales están comprendidos según la invención e incluyen el secado de lecho fluidizado o la restricción a un extracto grueso o extracto espeso y el posterior secado en cinta de vacío o secado en bandejas de este extracto espeso.

60 También pueden tenerse en cuenta procedimientos clásicos para la preparación de extractos secos de plantas según la invención por un extracto fluido (o extracto de plantas líquido) o una tintura; en la que, tras la posterior destilación del disolvente, se obtiene un denominado extracto espeso (extracto viscoso), al que suelen añadirse adyuvantes y/o aditivos como, por ejemplo, lactosa, polivinilpirrolidona, sacarosa, dióxido de silicio, etc. Esta masa húmeda y espesa se lleva después a armarios de rejillas o secaderos para la preparación del extracto seco deseada.

Un procedimiento que se utiliza muy frecuentemente en la preparación de extractos secos es el denominado procedimiento de secado en cinta de vacío. A este respecto se lleva el extracto espeso tras un presecado a un evaporador de película descendente para la preparación del extracto seco.

- 5 Un procedimiento de secado mediante un secado de lecho fluidizado necesita temperaturas de entre aprox. 47 °C y 117 °C. El secado en este procedimiento se lleva a cabo en condiciones de presión normales.

10 Un procedimiento de secado delicado para la obtención de extractos secos de plantas según la invención está descrito en el documento EP 0 753 306. Según el procedimiento descrito, el extracto fluido obtenido en la extracción de los materiales vegetales de acuerdo con el procedimiento según la invención en un sistema de secado de vacío, preferentemente en un secador de agitación de vacío con un agitador de varios brazos con tracción propia que se extiende por una cámara de mezclado y secado cilíndrica y, en caso necesario, equipado con filtro de vapor, dispositivo de lavado por contracorriente, condensador de disolvente con refrigerador posterior y recipiente colector, condensador posterior y una unidad de procesamiento, control y regulación, así como, opcionalmente, boquillas de granulación, Los sistemas de secado de vacío utilizados según el documento EP 0 753 306 se venden en las antiguas empresas Inox Glatt AG o Inox-Maurer AG bajo las denominaciones "IUT" o "INOX". Los fabricantes y vendedores actuales son, por ejemplo, De Dietrich Process Systems GmbH, Mainz, Alemania (Rosemund ®).

20 En este sistema de secado de vacío, el extracto fluido que va a ser secado se bombea desde arriba en el procedimiento de lotes en la cámara de mezclado y secado y a continuación se aplica un vacío.

Un sistema de secado de vacío preferente presenta las siguientes características, como se realiza por ejemplo en un dispositivo IUT/INOX conocido (supra):

- 25 a.) un agitador de varios brazos con tracción propia que se extiende por una cámara de mezclado y secado cilíndrica y, según los requisitos, con filtro de vapor, dispositivo de lavado por contracorriente, condensador de disolvente con refrigerador posterior y recipiente colector, condensador posterior, una unidad de procesamiento, control y regulación, así como, opcionalmente, boquillas de granulación.
- 30 b.) además, puede estar previsto un cortador que se extiende sobre la profundidad total de la cámara de secado y mezclado con tracción de agitación independiente así como, opcionalmente, un estator intercalado para aumentar el efecto del cortador.
- c.) además, pueden estar previstas una o varias boquillas para introducir los extractos de plantas líquidos de un depósito a la cámara de secado, como se describe en el documento WO2002073108.

35 Los extractos secos de plantas obtenidos de esta manera se emplean además para preparaciones farmacéuticas.

El agente de acción antimicrobiana que contiene el extracto seco de plantas según la invención puede por tanto utilizarse de manera ventajosa en el tratamiento de infecciones producidas por patógenos relacionados con las vías respiratorias. El efecto expectorante y antiinflamatorio se complementa por el efecto antimicrobiano adicional. Por

40 ello, se debilita una infección de las vías respiratorias superiores junto con la liberación de la mucosidad viscosa cargada con patógenos mediante la destrucción y/o se limita o incluso se deja completamente paralizada la reducción de la proliferación de los patógenos bacterianos.

Mediante la invención anteriormente descrita se trata, por ejemplo, un paciente enfermo de sinusitis y/o rinosinusitis y/o inflamaciones de los senos nasales, especialmente en su respectiva forma aguda de una manera delicada sin la

45 aplicación de componentes sintético-químicos.

La composición (farmacéutica) de acción antimicrobiana de la presente invención es especialmente eficaz contra patógenos relacionados con las vías respiratorias, en los que muestran una eficacia antimicrobiana específicamente

50 contra *coccus* Gram-positivos como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* (SARM), *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus mutans*, contra bacterias en forma de vara Gram-negativas como *Haemophilus influenzae*, así como contra *Enterobacteriaceae faecalis*. Además, se obtiene una eficacia contra virus.

La formulación galénica del fármaco antimicrobiano puede seleccionarse del grupo compuesto por: gotas, jugo, jarabe, comprimidos, grageas, cápsulas, formulaciones retardantes, supositorios rectales o vaginales, infusión, en particular pulverización para la faringe y soluciones desinfectantes; pomadas, emulsiones, granulado, polvo, pulverización nasal, preparados líquidos o sólidos para inhalación, compresas, apósitos, en particular apósitos para heridas y encías, taponamientos, también para dientes, soluciones de lavado, en particular en combinación con concentraciones fisiológicas y hiperosmolares de sales o mezclas de sales, especialmente sal común, en particular

60 sal marina. Evidentemente, la formulación puede contener adyuvantes farmacéuticos habituales.

Por lo tanto, la presente invención se refiere también al uso o aplicación del agente antimicrobiano según la invención que contiene un extracto seco de plantas según la invención para el tratamiento de infecciones producidas por patógenos relacionados con las vías respiratorias, así como el uso para la preparación de un fármaco y un fármaco como tal.

65

En otra forma de realización preferente, la invención se refiere a un fármaco para el uso o la aplicación en sinusitis y/o rinosinusitis y/o inflamaciones de los senos nasales, en particular en su respectiva forma aguda, en particular para el tratamiento y la profilaxis de sinusitis y/o rinosinusitis y/o inflamaciones de los senos nasales, en particular en su respectiva forma aguda.

5 Debido a la relevancia con la otorrinolaringología de los patógenos probados, el agente de acuerdo con la invención también es extremadamente adecuado en todas partes donde las bacterias pueden luchar directamente e inmediatamente local o tópicamente.

10 El agente de acuerdo con la invención puede utilizarse preferentemente, por tanto, junto con la aplicación sistémica, directamente en un lugar contaminado, por ejemplo en forma de una solución desinfectante biodegradable al 100 % o naturalmente también a la aplicación tópica directa en la piel y las membranas mucosas tanto en personas como en animales. Para ello se consideran distintas formas de aplicación. Resultan preferentemente adecuadas las formulaciones como soluciones, cremas, pomadas y emulsiones en el campo dermatológico de la medicina humana y también veterinaria. En este caso, el agente según la invención puede aplicarse directamente sobre la zona de la piel afectada y/o utilizarse en forma de compresas, apósitos o taponamientos empapados.

15 Resulta especialmente interesante la aplicación del agente según la invención, naturalmente, en todo el rango de enfermedades de todo el tracto respiratorio, en particular de las vías respiratorias superiores, en este caso preferentemente en la zona de las membranas mucosas de la faringe, la nariz y los senos nasales. De especial importancia es la irrigación nasal, especialmente junto con sales, como por ejemplo en combinación con una solución salina fisiológica o hiperosmolar. De acuerdo con la invención está comprendida también una pulverización nasal que contiene el agente según la invención.

20 La amplia gama de nuevas posibilidades de aplicación varía de soluciones para pintar las amígdalas, soluciones para hacer gárgaras en infecciones faríngeas hasta preparados para inhalación en polvo o preparados para inhalación en pulverizaciones.

25 Otros campos de aplicación e indicación comprenden apósitos para heridas y encías, por ejemplo en forma de apósitos de algodón o apósitos de hilo de algodón que están empapados con el agente según la invención. También son posibles irrigaciones de oído con soluciones que contienen el agente según la invención en infecciones del conducto auditivo.

30 Por lo tanto, la invención también se refiere a un fármaco para el uso y aplicación de enfermedades de todo el tracto respiratorio, especialmente de las vías respiratorias superiores, especialmente en la zona de las membranas mucosas de la faringe, la nariz y los senos nasales, enfermedades de las vías respiratorias, especialmente mucoviscidosis (fibrosis quística), especialmente su tratamiento y profilaxis. Una mucoviscidosis puede tratarse de manera especialmente ventajosa, véanse las Figuras 7A y 7B.

35 Otra forma de realización preferida se refiere a un suplemento dietético que contiene el fármaco según la invención, especialmente en forma de una composición dietética. Alimentos o comestibles apropiados según la invención, como productos de panadería y bebidas y preparaciones de alimentación infantil, incluido el agua, no están definidos de forma concluyente, como por ejemplo en el Reglamento (CE) n.º 178/2002 del 28 de enero de 2002. El suplemento dietético según la invención puede utilizarse con vehículos fisiológicamente adecuados.

40 Las preparaciones farmacéuticas según la invención pueden prepararse en forma de unidades de dosificación. Esto quiere decir que las preparaciones existen en forma de partes individuales, preferentemente cápsulas y ampollas, cuyo contenido de principio activo de los extractos secos de plantas se corresponde con una fracción o un múltiplo de una dosis individual. Las unidades de dosificación pueden contener, por ejemplo, 1, 2, 3 o 4 dosis individuales o 1/2, 1/3 o 1/4 de una dosis individual. Una dosis individual contiene preferentemente la cantidad de extracto seco de plantas (principio activo) según la invención que se administra en una aplicación y se corresponde con la totalidad, la mitad, un tercio o un cuarto de la dosis diaria habitual. Resulta preferente una dosificación de tres veces al día, preferentemente en forma de un comprimido, especialmente mañana, tarde y noche, opcionalmente durante las comidas.

45 En otra forma de realización preferente, la formulación galénica puede seleccionar un comprimido con revestimiento de calcio, como se muestra en el documento EP EP1392337.

50 Entre las sustancias portadoras no tóxicas, inertes y farmacéuticamente adecuadas están comprendidos los diluyentes, sustancias de relleno y auxiliares de formulación sólidos, semisólidos o líquidos de todo tipo, como a) productos de relleno y diluyentes, por ejemplo almidones, lactosa, azúcar de caña, glucosa, manitol, dextrina, maltodextrina y ácido silícico, dióxido de silicio altamente disperso, b) aglutinantes, por ejemplo carboximetilcelulosa, celulosa en polvo, celulosa microcristalina, alginato, gelatina, polivinilpirrolidona, c) humectantes, por ejemplo glicerina, d) explosivos, por ejemplo agar-agar, carbonato de calcio y carbonato de sodio, e) retardadores de solución, por ejemplo parafina y f) aceleradores de reabsorción, por ejemplo compuestos de amonio cuaternario, g) agentes de humectación, por ejemplo alcohol cetílico, monoestearato de glicerina, h) adsorbentes, por ejemplo

caolín y bentonita y i) lubricantes, por ejemplo talco, estearato de calcio y estearato de magnesio y polietilglicoles sólidos o mezclas de sustancias enumeradas desde a) hasta i).

Los comprimidos, grageas, cápsulas, pastillas y granulados pueden estar provistos de los revestimientos y cubiertas habituales, opcionalmente opacificantes, por ejemplo tales como hipromelosa no concluyente, celulosa microcristalina, ácido esteárico, dióxido de titanio, y también estar formulados de manera que estos o los principios activos den retraso opcionalmente a solo o preferentemente a una parte determinada del tracto intestinal, en el que pueden utilizarse como masas de integración, por ejemplo, sustancias poliméricas y ceras.

EJEMPLOS

Estos ejemplos sirven exclusivamente para explicar la invención, sin limitar la invención a estos ejemplos.

En lo sucesivo, "extracto seco" (ES)" quiere decir el extracto seco de plantas preparado según la invención.

Ejemplo 1:

La actividad antiviral del extracto seco según la invención se probó en una multitud de ensayos *in vitro*.

En estos ensayos, se analizó en primer lugar el efecto general que daña la célula (citotóxico) del extracto seco según la invención en el Sinupret® conocido (alcohólico/acuoso). Tras la incubación de las líneas celulares adecuadas (por ejemplo, HeLa, HEp-2) con los distintos virus durante un período de una hora, las líneas celulares infectadas se trataron con diferentes concentraciones, y a continuación se midió el efecto sobre la multiplicación vírica.

La determinación cuantitativa de la actividad antiviral *in vitro* se llevó a cabo sobre la detección de un efecto citopatógeno (adenovirus 5), en ensayo de reducción de placas (FluA, HRV14, VSR) y en ensayos de inmunoabsorción enzimática específicos de virus (ELISA; Adeno5, VSR).

En la detección de un efecto citopatógeno, las células de crecimiento confluyente sensibles a los virus se infectan con una solución de virus definida (MDI, multiplicidad de infección). Después de una hora de incubación, se extrae el inóculo de virus y se lava la capa celular. A continuación se realiza la adición de las concentraciones de sustancias fisiológicas. Los respectivos lotes de pruebas se cultivan hasta que se observa en los controles de virus no tratados microscópicamente un efecto citopatógeno (ECP) al 70-90 %, que se muestra como áreas celulares destruidas. La superficie de las áreas celulares destruidas se define como infección al 100 %. En comparación, se evaluaron las superficies celulares de los respectivos lotes de pruebas, de manera que los efectos inhibidores de las sustancias que van a analizarse pueden mostrarse como inhibición porcentual (% de inhibición).

En los ensayos de reducción de placas, las células de crecimiento confluyente sensibles a los virus se infectan con una solución de virus definida (MDI, multiplicidad de infección). Después de una hora de incubación, se extrae el inóculo de virus y se lava la capa celular infectada. A continuación se realiza la adición de las concentraciones de sustancias fisiológicas así como de un componente del medio sólido (agarosa o metilcelulosa) y se volvió a incubar. Mediante los componentes sólidos en el medio superpuesto se delimita la superficie de infección, de modo que se forma un foco de células infectadas ("placa"). Los respectivos lotes de pruebas se cultivan hasta que se observa en los controles de virus no tratados microscópicamente el número de placas ajustado (MDI). Mediante la fijación y la tincura de las áreas celulares las placas de virus pueden visualizarse como granjas de color claro en áreas celulares de color oscuro. La determinación del número de placas se realiza con ayuda de los sistemas de procesamiento de imágenes. El número de placas del control no tratado se define como infección al 100 %. Por el contrario, el número de placas de los respectivos lotes de pruebas se evalúa de manera que los efectos inhibidores de las sustancias de ensayo pueden mostrarse como inhibición porcentual (% de inhibición).

En ELISA se analiza la producción de virus. Las tiras de prueba con anticuerpos contra los virus específicos unen virus existentes en el sobrenadante del cultivo celular de las líneas celulares infectadas. Para hacer visible la reacción, se utiliza un anticuerpo de detección específico de patógenos marcado con peroxidasa. Tras la adición de una sustancia/cromógeno así como de peróxido de hidrógeno y tetrametilbencidina se realiza una reacción de color. La intensidad de la coloración se determina fotométricamente y es proporcional al contenido de antígenos de virus. El análisis de la producción de virus en células infectadas y tratadas se realiza tras la infección de células de crecimiento confluyente sensibles a los virus con una solución de virus definida (MDI, multiplicidad de infección). Después de una hora de incubación, se extrae el inóculo de virus y se lava la capa celular infectada. A continuación se realiza la adición de las concentraciones de sustancias fisiológicas. Los respectivos lotes de pruebas se cultivan hasta que se observa en los controles de virus no tratados microscópicamente un efecto citopatógeno (ECP) al 70-90 %. Los virus recién sintetizados se encuentran en este estado en el sobrenadante del cultivo celular. El valor de absorbancia fotométrico determinado de los controles no tratados se definen como infección al 100 %. En comparación, los valores extinción de los respectivos lotes de pruebas se evalúan de manera que los efectos inhibidores de las sustancias de ensayo pueden representarse como inhibición porcentual (% de inhibición).

En todos los ensayos se muestra una clara inhibición de la multiplicación vírica, es decir, una reducción de la carga viral, véase la Figura 1.

El extracto seco según la invención inhibe la multiplicación vírica del virus de la influenza humana (FluA) y porcina (pFluA) (virus de la gripe). Las concentraciones de 124,8 µg de Sinupret/ml (FluA) o 43,4 µg Sinupret/ml (pFluA) son suficientes para inhibir (reducir) un 50 % (de la carga) de los virus. El extracto seco Sinupret según la invención muestra un menor CE50 y por tanto, correspondientemente, una mayor eficacia que Sinupret® alcohólico/acuoso contra las cepas víricas HRV 14, Adeno5 y VSR (véanse las Figuras 1 y 2).

5

Tabla 0: Efecto antiviral

| Cepa vírica | CE50 alcohólica/acuosa de Sinupret [µg/ml] | CE50 de extracto seco de Sinupret [µg/ml] |
|-------------|---|--|
| HRV 14 | 73,1 | 50,5 |
| Adeno 5 | 66,4 | 13,8 |
| VSR | 20,7 | 10,4 |

Ejemplo 2:

10

La actividad antiinflamatoria de Sinupret pudo confirmarse en modelos animales. Como modelo de prueba se seleccionó, por ejemplo, el edema inducido por carragenina en pata de rata (ratas macho Wistar Han, 220-230 g). En este modelo, las sustancias de ensayo pueden analizarse por su efecto antiinflamatorio, en el que su efecto inhibidor se mide del edema de pata o pleuritis causados por carragenina. Como sustancias de referencia sirven ácido (RS)-2-[4-(2-metilpropil)fenil]propanoico (ibuprofeno®) y ácido 2-[1-(4-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-1H-indol-3-il]acético (indometacina, "indo"). En el presente ensayo se trataron grupos de 10 ratas respectivamente con ibuprofeno®, indometacina, extracto seco de Sinupret® (ES SIN) o mezcla de fármacos de Sinupret® (SIN, como disponible para su compra) y 1 hora después se inyectó carragenina. La inhibición de formación de edemas por las sustancias de ensayo y referencia se determinó por los distintos momentos tras la inyección de carragenina, en la que el volumen de la pata de los animales tratados solamente con carragenina sirvió como control (vehículo = control en blanco). Los resultados de este ensayo están representados en las Tablas 1 y 2 y las Figuras 3 a 6, y se explican a continuación.

15

20

25

Figura 3: en el modelo de carragenina se muestra que el extracto seco según la invención que ya inhibe el edema de pata inducido por carragenina 30 minutos después de la inyección de carragenina, y en mayor medida que la mezcla de fármacos de Sinupret, mientras que el ibuprofeno® no mostró ningún efecto de inhibición de la inflamación en este momento anterior. Asimismo, una o dos horas después de la inducción de edema, el efecto antiinflamatorio del extracto seco según la invención es aún mayor que el de la mezcla de fármacos de Ibuprofen® y Sinupret®.

30

La Tabla 1 muestra el efecto de Sinupret® (SIN) en pleuritis inducida por carragenina mediante el marcador de inflamación (PGE₂, LTB₄, TNF-alfa, IL1-beta) con medición después de 4 h.

35

Las ratas (respectivamente 10 por grupo) se trataron respectivamente con 100 mg/kg o 500 mg/kg de SIN y, en comparación, con 5 mg/kg de indometacina y muestra ciega y 1 hora después se inyectó carragenina.

40

Las "células inflamatorias" están en correlación con la acumulación/infiltración de NPM (neutrófilos polimorfonucleares).

Estadística: media +/- SEM, n = 10, ** p< 0,01; ***p<0,001 vs vehículo (muestra ciega) (prueba de Tukey), p< 0,05 es estadísticamente significativo.

Se indica una representación gráfica comparativa en la Figura 4.

| tratamiento | volumen de exudado (ml) | células inflamatorias x 10 ⁶ | PGE ₂ ng/rata | LTB ₄ ng/rata | TNFα ng/rata | IL1β ng/rata |
|---------------------|-------------------------------|---|--------------------------|--------------------------|--------------|-----------------------|
| vehículo | 0,196±0,012 | 38,6±2,54 | 0,861 ± 0,061 | 0,50 ± 0,07 | 4,94 ± 0,33 | 3,37 ± 0,25 |
| Sinupret® 100 mg/kg | 0,125 ± 0,018 ** (36 %) | 27,7 ± 2,64 ** (28 %) | 0,973 ± 0,066 | 0,61 ± 0,06 | 5,94 ± 0,30 | 2,45 ± 0,23 (21 %) |
| Sinupret® 500 | 0,034 ± 0,010 | 23,5 ± 1,34 *** | 0,865 ± 0,065 | 0,67 ± 0,06 | 5,48 ± 0,19 | 2,03 ± 0,30 ** |
| tratamiento | volumen de exudado (ml) | células inflamatorias x 10 ⁶ | PGE ₂ ng/rata | LTB ₄ ng/rata | TNFα ng/rata | IL1β ng/rata |

| | | | | | | |
|----------------------|---------------|-----------------|------------|-------------|-------------|-------------|
| mg/kg | *** (83 %) | (39 %) | | | | (40 %) |
| indometacina 5 mg/kg | 0,009 ± 0,003 | 11,4 ± 0,93 *** | <0,125 *** | 0,43 ± 0,02 | 5,48 ± 0,28 | 3,17 ± 0,18 |
| mg/kg | *** (96 %) | (70 %) | | | | |

La Tabla 2 muestra el efecto del extracto seco de Sinupret® (ES SIN) en pleuritis inducida por carragenina mediante el marcador de inflamación (PGE₂, LTB₄, TNF-alfa, IL1-beta) con medición después de 4 h.

5 Las ratas (respectivamente 10 por grupo) se trataron respectivamente con 100 mg/kg o 500 mg/kg de ES SIN y, en comparación, con 5 mg/kg de indometacina y muestra ciega y 1 hora después se inyectó carragenina.

Las “células inflamatorias” están en correlación con la acumulación/infiltración de NPM (neutrófilos polimorfonucleares).

10 Estadística: media +/- SEM, n = 10, ** p< 0,01; ***p<0,001 vs vehículo (muestra ciega) (prueba de Tukey), p< 0,05 es estadísticamente significativo.

| tratamiento | volumen de exudado ml | células inflamatorias x 10 ⁶ | PGE ₂ ng/rata | LTB ₄ ng/rata | TNFα ng/rata | IL1β ng/rata |
|-------------------------|-----------------------|---|--------------------------|--------------------------|--------------|--------------|
| vehículo | 0,192 ± 0,012 | 38,6 ± 2,54 | 0,891 ± 0,061 | 0,50 ± 0,07 | 4,94 ± 0,33 | 3,37 ± 0,21 |
| extracto seco 100 mg/kg | 0,112 ± 0,009 | 22,8 ± 2,19 *** | 0,775 ± 0,050 | 0,41 ± 0,05 | 5,36 ± 0,44 | 3,00 ± 0,21 |
| | *** (43 %) | (41 %) | (10 %) | | | (11 %) |
| extracto seco 500 mg/kg | 0,072 ± 0,013 | 18,8 ± 0,92 | 0,603 ± 0,039 ** | 0,64 ± 0,05 | 4,66 ± 0,30 | 2,74 ± 0,09 |
| | *** (63 %) | (51 %) | (30 %) | | | (19 %) |
| indometacina 5 mg/kg | 0,009 ± 0,003 | 11,4 ± 0,93 *** | <0,125 *** | 0,43 ± 0,02 | 5,48 ± 0,28 | 3,17 ± 0,18 |
| | *** (96 %) | (70 %) | | | | |

15 Se indica una representación gráfica comparativa en la Figura 4.

La Figura 5 muestra el efecto de la mezcla de fármacos de Sinupret® (SIN) y extracto seco de Sinupret (ES SIN) de la expresión de proteína COX-2 en pulmón de rata.

20 Las ratas (respectivamente 10 por grupo) se trataron respectivamente con 100 mg/kg o 500 mg/kg de SIN o ES SIN y, en comparación, con 5 mg/kg de indometacina y muestra ciega y 1 hora después se inyectó carragenina. Se llevó a cabo una inmunotransferencia de tipo Western con respectivamente 30 µg de proteína de pulmón de rata (homogeneizado) en 10 % de gel de SDS-poliacrilamida y se analizó el COX-2.

25 La Figura 6 muestra el efecto de la mezcla de fármacos de Sinupret® (SIN) y extracto seco de Sinupret (ES SIN) sobre citoquinas.

30 Las ratas (respectivamente 10 por grupo) se trataron respectivamente con 100 mg/kg o 500 mg/kg de SIN o ES SIN y, en comparación, con 5 mg/kg de indometacina y muestra ciega y 1 hora después se inyectó carragenina. Los marcadores de inflamación IL1-beta y TNF-alfa se determinaron después de 4 h de la inyección de carragenina.

Estadística: media +/- SEM, n = 10, ** p< 0,01; ***p<0,001 vs vehículo (muestra ciega) (prueba de Tukey), p< 0,05 es estadísticamente significativo.

35 Conclusión:

El extracto seco de Sinupret (ES SIN) según la invención muestra al menos para PGE₂ una inhibición significativa especialmente ventajosa de la unión de PGE₂ (30 %; p<0,01; Figura 4C, Tabla 2) en comparación con la mezcla de fármacos de Sinupret® (SIN). Además, extracto seco de Sinupret (ES SIN) según la invención resulta más eficaz en menor dosificación que la mezcla de fármacos del Sinupret® (SIN) conocido.

40

Ejemplo 3:

En el siguiente ejemplo se muestra que el extracto seco según la invención activa, en el uso tópico, la secreción de cloruro, probablemente por la activación de CFTR. Además, el extracto seco según la invención estimula la frecuencia de latido ciliar.

5 Material: cultivo celular: se adquirieron células humanas del epitelio bronquial (HEB) de Lonza (Walkersville, MD) y se expandieron con el medio de crecimiento de células del epitelio bronquial (MCEB) de Lonza (Walkersville, MD). Se disolvieron 250 mg de extracto seco según la invención en 1 ml de etanol al 50 % y se trataron en ultrasonido a 35 kHz durante 30 minutos con centrifugación consecutiva a 3000 g durante 10 minutos a temperatura ambiente. Se aspiró el sobrenadante. Se disolvió amilorida (Sigma, St. Louis, MO) en agua destilada y desionizada y se diluyó 1000 veces. Se disolvió forskolina (Kaliokemm, EMD, San Diego, CA) en DMSO y se diluyó 1000 veces.

10 Se utilizó una cámara de Ussing (Physiology Instruments San Diego, CA, USA) que contenía insertos Transwell (Corning Life Sciences) con implementación a 37 °C y una monocapa con una pinza de voltaje de 0 voltios (VCC 600) (Physiology Cal Instruments San Diego, CA, USA) en el ajuste de la resistencia al flujo. Se colocaron filtros de Transwell en la solución a 37 °C y la solución se infundió de manera continua con oxígeno al 95 % de 5 % de CO₂. La resistencia transepitelial (RT) se ajustó mediante un programa de ordenador (Physiology Instruments San Diego, CA, USA) a 640 ms, se midió el potencial bipolar de 10 mV por la monocapa según la Ley de Ohm. Según la definición, una oscilación positiva es una secreción de aniones o una absorción de cationes. Los experimentos se repitieron al menos tres veces en cultivos celulares HEB.

15 Soluciones electrolíticas utilizadas (en mM): 120 NaCl, 25 NaHCO₃, 3,3 KH₂PO₄, 0,8 K₂HPO₄, 1,2 MgCl₂, 1,2 CaCl₂ y 10 glucosa.

20 Las mediciones de frecuencia de latido ciliar (FLC) se llevaron a cabo de acuerdo con un método según Woodworth *et al.* (Woodworth, BA, Zhang S, Tamashiro E, *Zinc increases ciliary beat frequency in a calcium dependent manner*, Am J Rhinol Allergy 24: 6-10, 2010). Las imágenes se obtuvieron con un objetivo de 63 aumentos de Leica Microsystems, Inc., Bannockburn, IL (modelo A 602f-2, videocámara digital monograma de alta velocidad, Basler AG, Ahrensburg, Alemania). El extracto seco según la invención se analizó por el transporte de electrolitos transepitelial. El extracto seco se aplicó sobre la superficie basolateral de células HEB en la cámara de Ussing antes de que este se mezclara con amilorida y forskolina.

25 En la Figura 7a y 7b, el extracto seco según la invención muestra, tras la adición de amilorida y forskolina, un cambio de la corriente de cortocircuito transepitelial (I_{sc}) (7A), de manera que se observa un aumento relacionado con la dosis de la frecuencia de latido ciliar (FLC), que va acompañada de una secreción de iones de cloruro.

30 Estos resultados prueba el empleo ventajoso del extracto seco según la invención, por ejemplo mediante una pulverización nasal, ya que puede conseguirse una depuración mucociliar (DMC) mejorada.

35 Conclusión: El extracto seco según la invención es adecuado para el tratamiento de enfermedades de las vías respiratorias, especialmente para el tratamiento de mucoviscidosis (fibrosis quística).

Ejemplo 4:

40 El efecto antiinflamatorio del extracto seco de Sinupret según la invención y las gotas de Sinupret (alcohólico/acuoso ("Sinupret OD")) se analizó como sigue.

45 Edema inducido por carragenina (supra): en primer lugar, se pesaron los animales de ensayo (n=8/grupo) en estado de ayuno y se midió el volumen basal de la pata posterior. A los animales se les administró las sustancias de ensayo (10 ml/kg de masa corporal) (extracto seco (ES) de Sinupret: 5 mg/kg, equivalente a la cantidad de mezcla de fármacos en 1 ml de gotas/kg; 50 mg ES/kg correspondiente a 1 vez la dosis humana equivalente (1 x DHE); gotas de Sinupret (Sinupret OD): 1 ml de OD/kg, correspondiente a 1 vez la dosis humana equivalente (1 x DHE); 2,5 ml de OD/kg, equivalente a la cantidad de mezcla de fármacos en 50 mg de ES/kg; indometacina: 20 mg/kg como control positivo; 10 % v/v de etanol como control de vehículo. Después de 60 minutos, se provocaron los animales por una inyección subcutánea de carragenina (0,1 ml de una solución de 1 % p/v de solución salina fisiológica) en la pata posterior izquierda. Los volúmenes de la pata se determinaron mediante pletismografía antes (-1 h) y después de la inyección de carragenina (estudio 1: +1 h (Figura 8), estudio 2: +15 min, +30 min, +1 h (Figura 9)) en todos los animales. La inhibición porcentual del hinchamiento de la pata vs. el control de vehículo se calculó de manera individual para cada animal de ensayo.

50 Los resultados se muestran de manera comparativa en la Figura 8 (inhibición de la inflamación después de 1 hora).

55 Figura 8: A: Se administraron respectivamente ES Sinupret y Sinupret OD en la dosis humana equivalente a una vez. ES Sinupret actúa más rápido e inhibe mejor la inflamación que Sinupret OD. La inhibición de la inflamación mediante ES Sinupret, no mediante Sinupret OD, es comparable después de 1 h al efecto inhibitor mediante la indometacina antiinflamatoria conocida.

65

B, C: La dosis administrada en este caso de ES Sinupret y Sinupret OD es comparable sobre la base respectivamente para la preparación de la cantidad utilizada de mezcla de fármacos (MD) (B: 23,6 mg/kg, C: 223 mg/kg). ES Sinupret actúa más rápido e inhibe mejor la inflamación que Sinupret OD. La inhibición de la inflamación mediante ES Sinupret, no mediante Sinupret OD, es comparable después de 1 h al efecto inhibitor mediante la indometacina antiinflamatoria conocida.

Los resultados se muestran de manera comparativa en la Figura 9 (inhibición de la inflamación después de +15 min, +30 min, +1 h).

Figura 9: La dosis administrada de ES Sinupret y Sinupret OD es comparable sobre la base respectivamente para la preparación de la cantidad utilizada de mezcla de fármacos (23,6 mg de mezcla de fármacos/kg). ES Sinupret se destaca por un inicio de su acción más temprano y más fuerte en comparación con Sinupret OD. Sinupret OD causa solo a partir de 30 minutos una inhibición de inflamación. ES Sinupret inhibe la inflamación en un período completo analizado comparando potencia y rapidez con la indometacina antiinflamatoria conocida.

Ejemplo 5:

El siguiente ejemplo describe compuestos marcadores determinados de la mezcla multicomponente.

Implementación:

Todas las muestras se tomaron inmediatamente después de las etapas de extracción individuales, se filtraron y se analizaron por espectrometría de masas en una concentración de 600 mg/l (en MeOH al 30 % en volumen). Como patrón interno se utilizó metilparabeno. Las muestras se renovaron dos veces y se analizaron dos veces. Se utilizaron los siguientes parámetros y dispositivos:

EM: 5600 Triple ToF (ABSciex); HPLC: Agilent 1290

Programa informático: Analyst TF 1.5.1, MultiQuant 2.1.1, MarkerView 1.2.1

Fase estacionaria: Zorbax RRHD Eclipse Plus C18, 2,1 x 50 mm, 1,8 µm

Método CL:

| Etapas | Tiempo (min.) | Caudal (µl/min) | Eluyente A | Eluyente B |
|--------|---------------|-----------------|------------|------------|
| 0 | 0,00 | 600 | 95,0 | 5,0 |
| 1 | 1,00 | 600 | 95,0 | 5,0 |
| 2 | 6,00 | 600 | 69,0 | 31,0 |
| 3 | 10,00 | 600 | 0,0 | 100,0 |
| 4 | 11,00 | 600 | 0,0 | 100,0 |
| 5 | 11,10 | 600 | 95,0 | 5,0 |
| 6 | 13,00 | 600 | 95,0 | 5,0 |

A = 0,1 % de ácido fórmico en H₂O; B = acetonitrilo

Método EM:

| | |
|--|-----------------|
| Tipo de exploración: | TOF EM negativo |
| Duración | 10,997 min |
| Tiempo del ciclo | 0,2750 s |
| GS1 (gas en pulverización): | 70,00 |
| GS2 (gas turbo): | 55,00 |
| CUR (gas de cortina): | 25,00 |
| TEM (GS 2): | 500,0 |
| ISVF (flotación de voltaje de pulverización iónica): | 4500,0 |
| CAD (Gas Collision): | 6 |

ES 2 545 152 T3

| | |
|---------------------------------|------------|
| Masas TOF (Da): | 130 - 2000 |
| Tiempo de acumulación (s): | 0,25 |
| Intervalos de tiempo que añadir | 4 |
| DP: | -100,0 |
| CE: | -10,0 |

Tabla 3: Enriquecimiento y empobrecimiento selectivo de componentes característicos

| | | m/z = 399,2 TR = 0,5 min. | m/z = 540,3 TR = 8,4 min. | m/z = 279,2 TR = 9,6 min |
|------------------------|--------------------------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| Enfoque de laboratorio | 1. Extracción (EtOH al 59 % en vol.) | 8 % | 2879 % | 737,2 g (± 11,7 g) |
| | 2. Extracción (agua) | 224 % | 61 % | 0,0 g |
| | Extracto total | 100 % | 100 % | 622,3 g (± 6,0 g) |
| Enfoque de producción | 1. Extracción (EtOH al 59 % en vol.) | 16,5 % | 896 % | 745,5 g (+19,6 g) |
| | 2. Extracción (agua) | 67 % | 104 % | 0,0 g |
| | Extracto total | 100 % | 100 % | 119,9 g (± 12,2 g) |

5 Si se cuantifican los patrones de referencia, las cantidades de componentes se indican como contenido absoluto en [g]. En caso contrario, el contenido de componentes se determina en relación [%] al extracto total respectivo (según la etapa f.)). Los datos proceden de un enfoque de laboratorio A1 así como de un enfoque de producción P1. Las señales se detectaron en ionización negativa.

10 Tabla 4: Componentes con enriquecimiento típico en la primera etapa de extracción en ganancia mediante extracción posterior acuosa

| | | m/z = 401,1 TR = 2,6 min. | m/z = 463,1 TR = 3,7 min. | m/z = 623,2 TR = 3,9 min. |
|------------------------|--------------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Enfoque de laboratorio | 1. Extracción (EtOH al 59 % en vol.) | 500,7 g (± 6,4 g) | 122,0 g (± 2,3 g) | 575,6 g (± 6,4 g) |
| | 2. Extracción (agua) | 152,3 g (± 3,6 g) | 11,9 g (± 0,4 g) | 91,2 g (± 0,1 g) |
| | Extracto total | 655,4 g (± 3,3 g) | 134,2 g (± 0,8 g) | 657,6 g (± 17,4 g) |
| Enfoque de producción | 1. Extracción (EtOH al 59 % en vol.) | 704,5 g (± 6,1 g) | 127,6 g (± 3,0 g) | 527,0 g (± 12,5 g) |
| | 2. Extracción (agua) | 70,0 g (± 0,03 g) | 9,0 g (± 0,02 g) | 42,3 g (± 1,7 g) |
| | Extracto total | 788,2 g (± 11,8 g) | 138,1 g (± 0,7 g) | 571,1 g (± 20,2 g) |

15 Si se cuantifican los patrones de referencia, las cantidades de componentes se indican como contenido absoluto en [g]. En caso contrario, el contenido de componentes se determina en relación [%] al extracto total respectivo (según la etapa f.)). Los datos proceden del enfoque de laboratorio A1 así como del enfoque de producción P1. Las señales se detectaron en ionización negativa.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la preparación de extractos secos de plantas, con las etapas:
 - 5 a.) extracción alcohólica/acuosa de *Rumicis herba*, *Verbena officinalis*, *Sambucus nigra*, *Primula veris* y *Gentiana lutea*,
 - b.) separación del sobrenadante,
 - c.) extracción acuosa del residuo,
 - d.) separación del sobrenadante,
 - 10 e.) combinación de los sobrenadantes obtenidos de b.) y d.),
 - f.) secado de los sobrenadantes y obtención del extracto seco de planta.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que la proporción en la etapa a.) de *Gentiana lutea* : *Rumicis herba* : *Verbena officinalis* : *Sambucus nigra* : *Primula veris* es 1:3:3:3:3, respectivamente +/- 0,3 a 0,5.
- 15 3. Procedimiento según la reivindicación 1 o 2, en el que, en la etapa a.), el agente de extracción alcohólica/acuosa es 40 : 60 (v/v) a 60 : 40 (v/v), especialmente 41 : 59 (v/v), 50 : 50 (v/v).
4. Procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que se utiliza etanol, especialmente etanol al 96 %, como alcohol.
- 20 5. Procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que las plantas en a.) se proporcionan juntas en un lote.
6. Procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que la extracción en las etapas a.) y c.) se lleva a cabo a de 20 a 40 °C.
7. Procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que la extracción en las etapas a.) y c.) se lleva a cabo en de 2 a 8 h.
- 30 8. Procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que el secado según la etapa f.) se realiza a vacío a de 30 a 60 °C, especialmente a de 40 a 50 °C.
9. Procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que el secado según la etapa f.) se realiza en un secador de agitación a vacío.
- 35 10. Extractos secos de plantas que pueden obtenerse según una de las reivindicaciones 1 a 9.
11. Preparaciones farmacéuticas que contienen extractos secos de plantas según la reivindicación 10, opcionalmente junto con sustancias portadoras adecuadas, especialmente en forma de grageas, comprimidos, comprimidos recubiertos, polvos, cápsulas o diluyentes líquidos, especialmente gotas, jugos o jarabes, pomadas, emulsiones, granulados, polvos, pulverizaciones nasales, preparados líquidos o sólidos para inhalación, compresas, apósitos para heridas o encías, taponamientos, soluciones para pintar las amígdalas, soluciones para hacer gárgaras o soluciones de lavado.
- 45 12. Fármaco que contiene un extracto seco de planta según la reivindicación 10 o una preparación farmacéutica según la reivindicación 11.
13. Fármaco antibacteriano, antiviral o antiinflamatorio que contiene un extracto seco de planta según la reivindicación 10 o una preparación farmacéutica según la reivindicación 11.
- 50 14. Fármaco que contiene un extracto seco de planta según una de las reivindicaciones 10 a 12 para el uso en el tratamiento y la profilaxis de sinusitis y/o rinosinusitis y/o inflamaciones de los senos nasales, especialmente en la forma aguda respectivamente.
- 55 15. Fármaco que contiene un extracto seco de planta según una de las reivindicaciones 10 a 12 para el uso en el tratamiento y la profilaxis de enfermedades de todo el tracto respiratorio, especialmente de las vías respiratorias superiores, especialmente en la zona de las membranas mucosas de la faringe, la nariz y los senos sales, enfermedades de las vías respiratorias, especialmente mucoviscidosis (fibrosis quística).
- 60 16. Suplemento dietético que contiene un extracto seco de planta según la reivindicación 10.

Inhibición de la multiplicación de los virus (virus de la gripe humana y porcina)

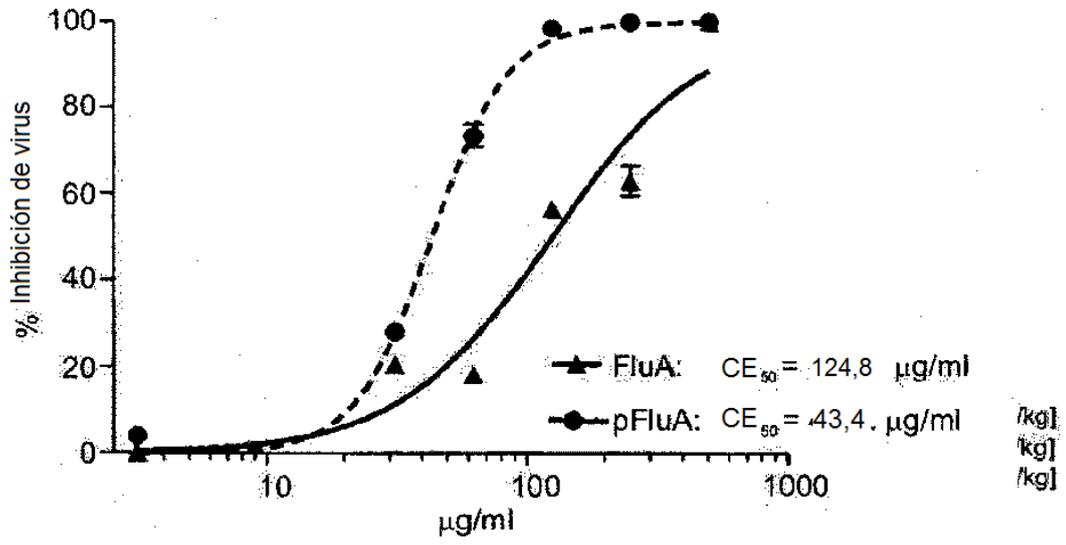


Fig. 1

Inhibición de la multiplicación de los virus (virus sincial respiratorio (VSR))

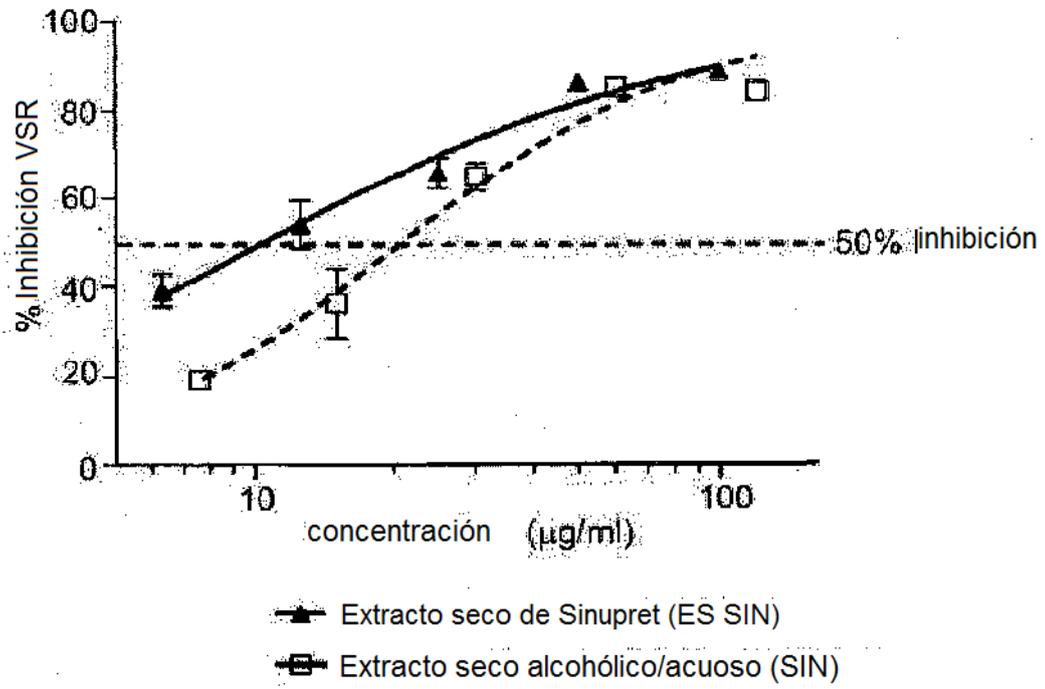


Fig. 2

Efecto en el modelo de inflamación

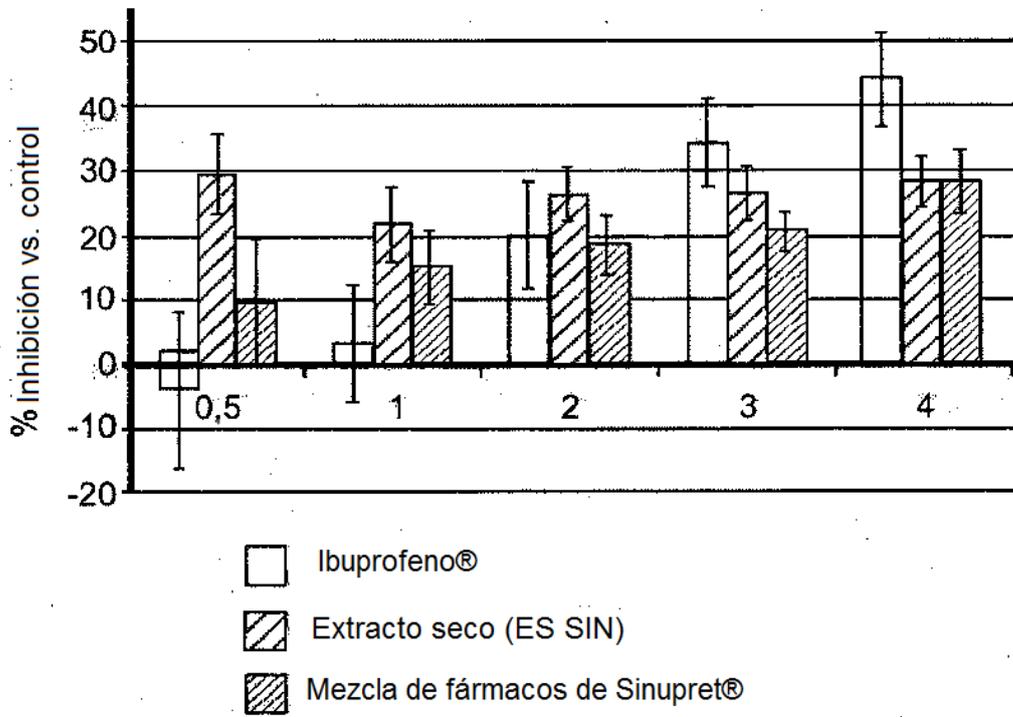


Fig. 3

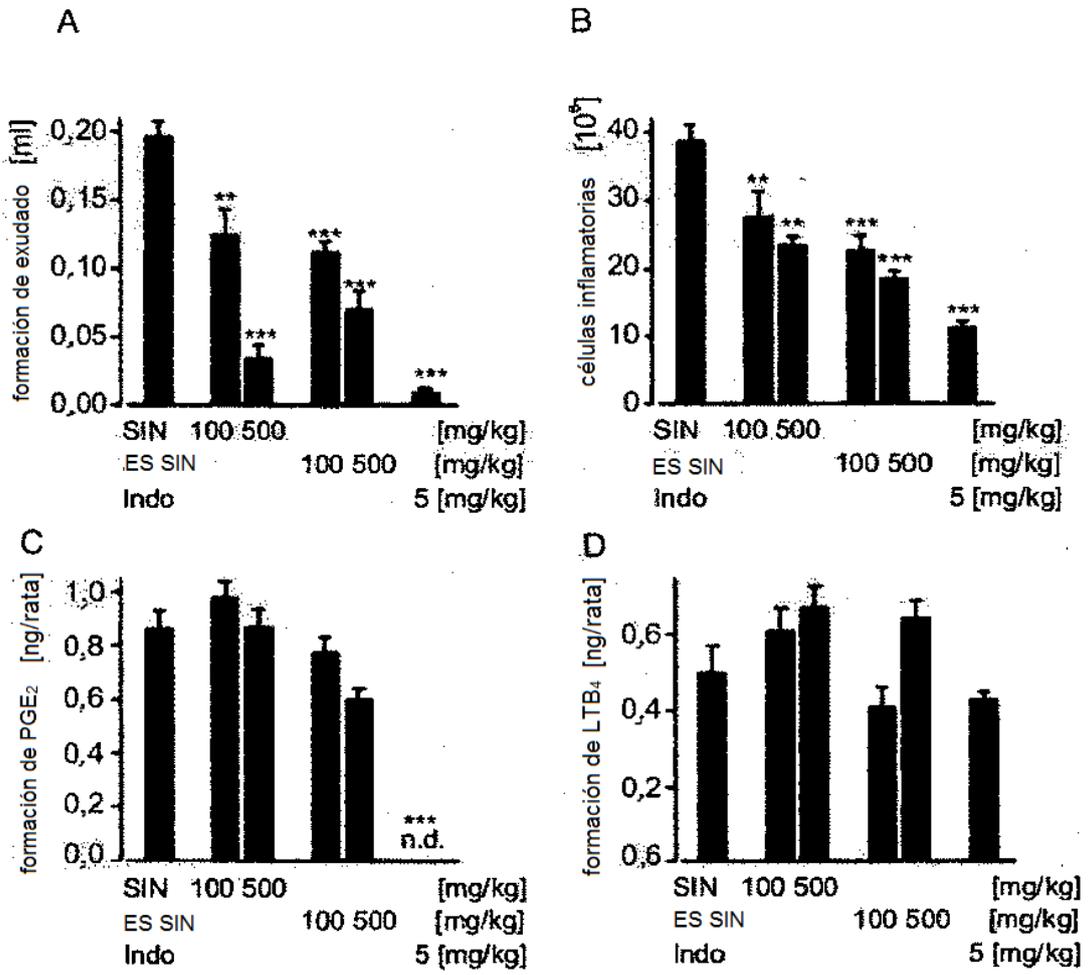


Fig. 4

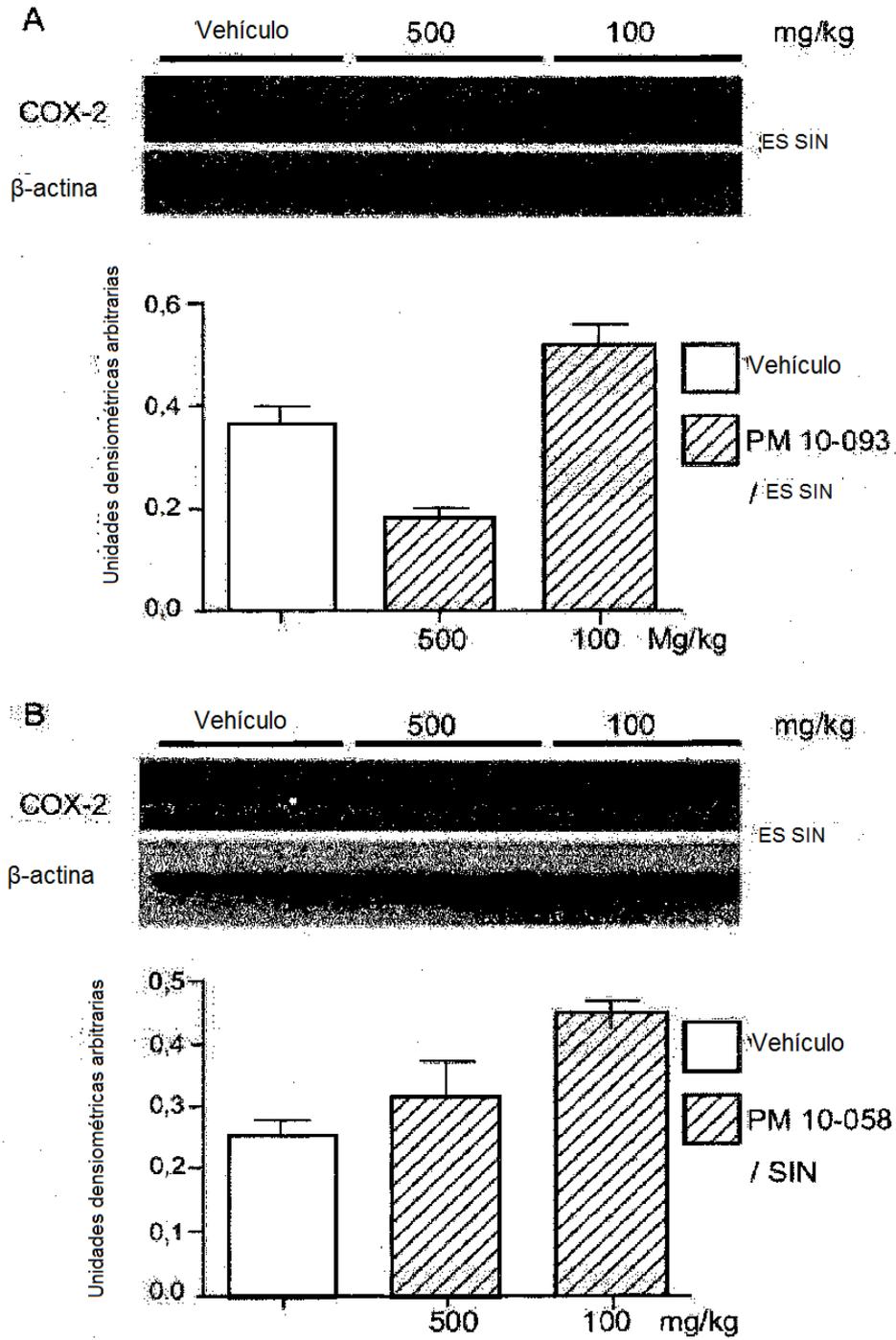


Fig. 5

Fig. 6

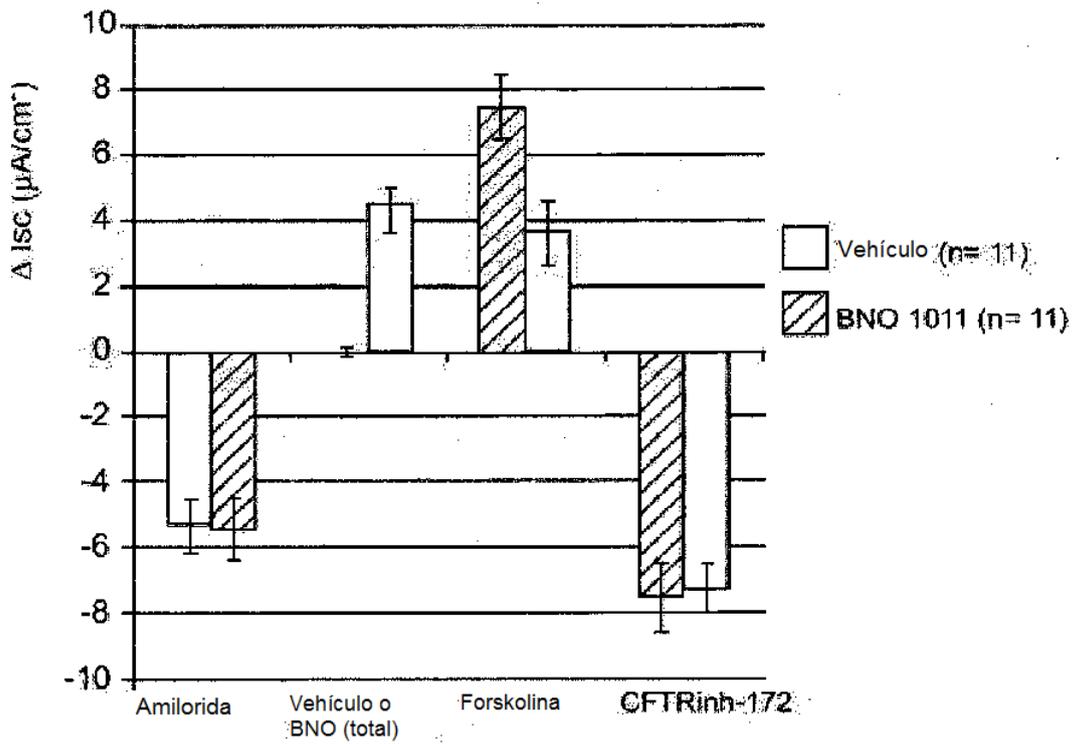
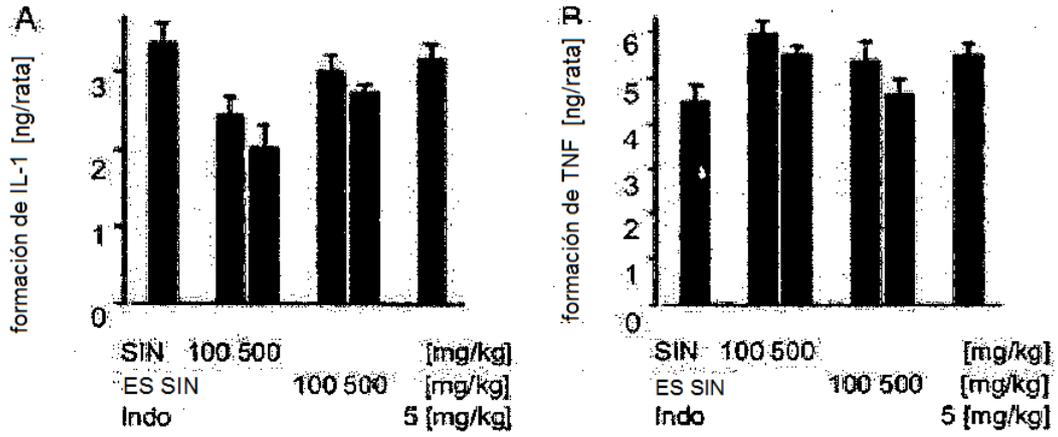


Fig. 7A

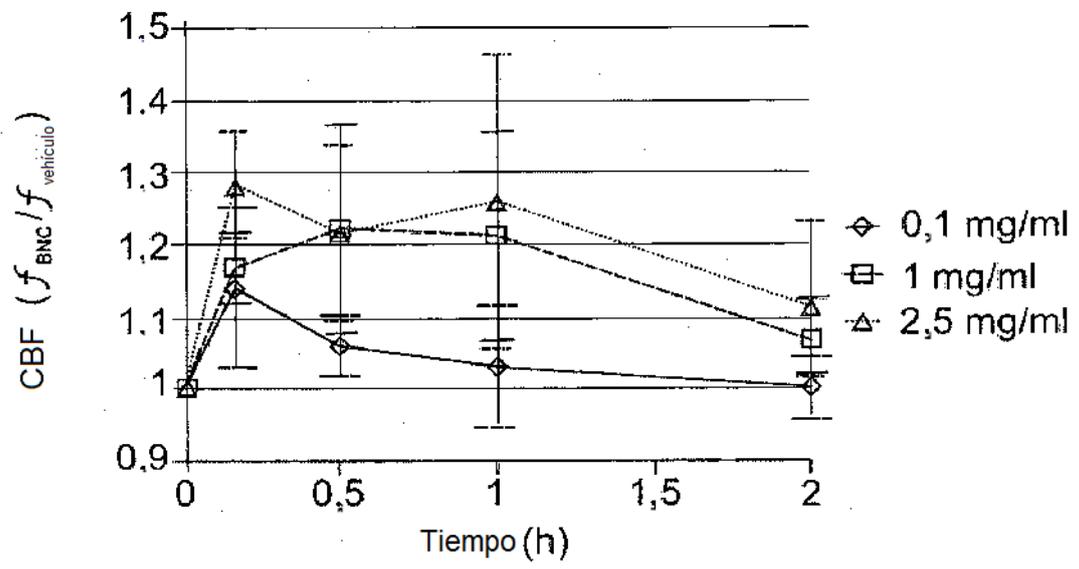


Fig. 7B

Fig. 8

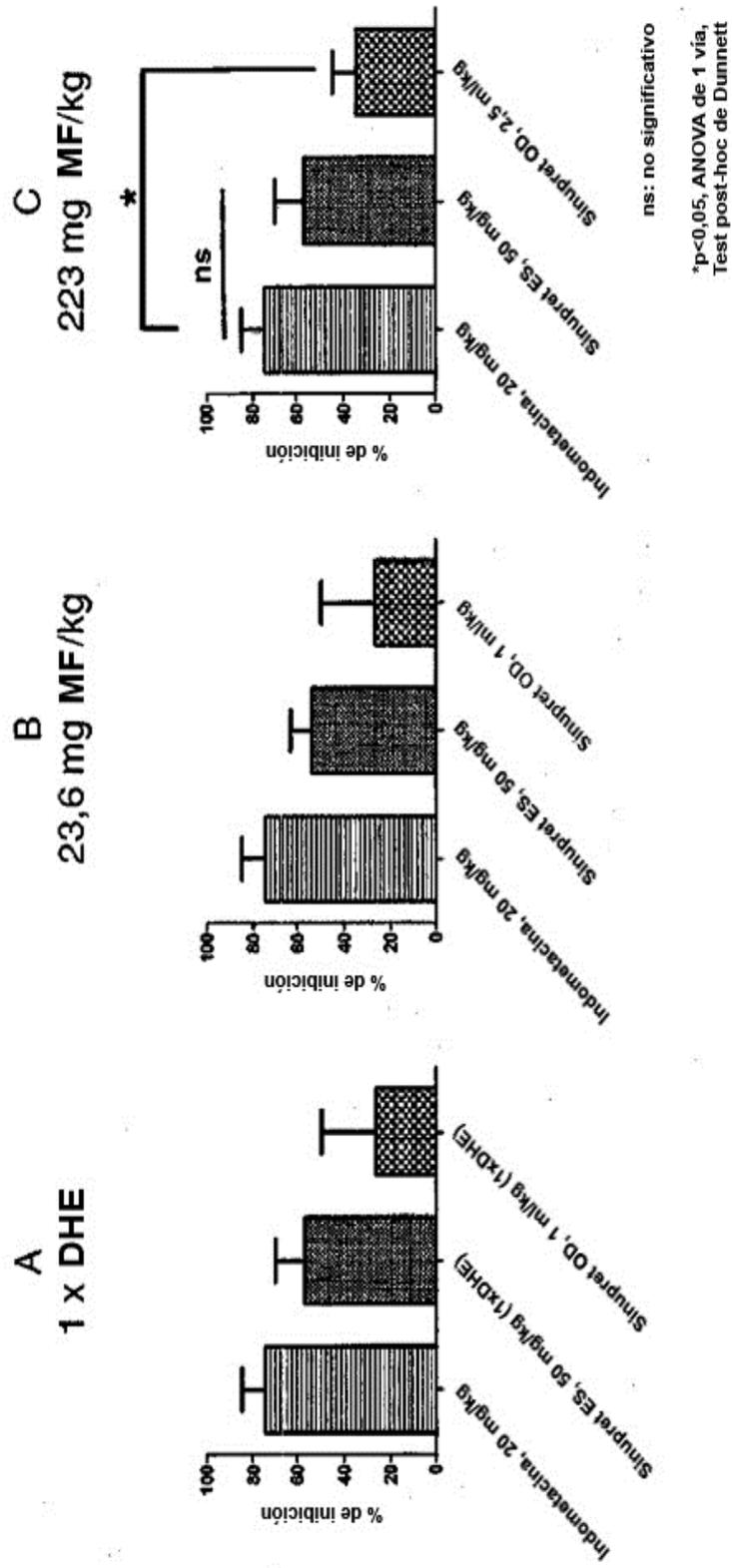


Fig. 9

