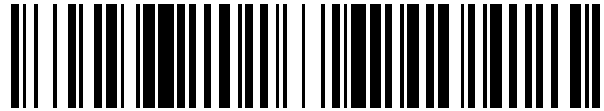


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 576 683**

51 Int. Cl.:

**A61K 36/732** (2006.01)

**A61P 19/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.06.2009 E 09770384 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.05.2016 EP 2319521**

54 Título: **Composición de fármaco en bruto para la regeneración del cartílago, la supresión del dolor y la supresión de edema**

30 Prioridad:

**24.06.2008 KR 20080059627**

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

**08.07.2016**

73 Titular/es:

**VIROMED CO., LTD. (100.0%)  
Building 203, College of Natural Science Seoul  
National University San 56-1, Sinlim-dong  
Gwanak-gu  
Seoul 151-747, KR**

72 Inventor/es:

**KIM, SUN YOUNG;  
KIM, SEON-HEE;  
PARK, SU JIN;  
EO, HAE KWAN;  
CHOI, JIN YONG y  
CHO, BYUNG WOOK**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**ES 2 576 683 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

Composición de fármaco en bruto para la regeneración del cartílago, la supresión del dolor y la supresión de edema

## 5 Campo de la invención

La presente descripción se refiere a una composición farmacéutica que comprende extractos de hierbas de *Chaenomelis Fructus*, *Achyranthis Radix*, *Acanthopanax*, *Cinnamomi Cortex*, *Gentianae Radix*, *Clematidis Radix*, *Angelicae Radix*, *Cnidii Rhizoma*, *Gastrodiae Rhizoma*, cártamo, *Phlomidis Radix*, y *Ledebouriellae Radix*, en la que los extractos contienen acantósido D como ingrediente activo, para su uso en la supresión del dolor, o la supresión de edema.

Antecedentes de la invención

## 15 La artritis está clasificada ampliamente en artrosis (AO) y artritis reumatoide (AR).

La artrosis, también conocida como artritis degenerativa, es la forma más común de artritis que afecta a personas de mediana edad y de edad avanzada. Causa dolor, rigidez y disfunción motora progresiva de las articulaciones, por ejemplo, las rodillas y las caderas. La artrosis supone la destrucción del cartílago articular por metaloproteinasas de la matriz (MMPs), que se caracteriza por cambios degenerativos en el cartílago articular e inflamación, dando lugar a hinchazón de las articulaciones y dolor.

La artritis reumatoide es una enfermedad inflamatoria autoinmune que afecta a múltiples articulaciones. En pacientes con artritis se observan patologías tales como hiperplasia de tejido sinovial, infiltración subíntima de macrófagos, células dendríticas, linfocitos T y B activados, y la acumulación de células polimorfonucleares en el líquido sinovial y en la superficie del cartílago, induciendo inflamación.

Además, la hiperplasia de tejido sinovial forma pannus avascular, una capa de tejido conectivo que se produce en el cartílago articular, causando dolores debido a la destrucción irreversible del cartílago y el hueso, en la que se asocian factores de destrucción de cartílago tales como MMPs.

El objetivo ideal para el tratamiento de la artrosis y la artritis reumatoide es proteger y mantener los tejidos de cartílago y hueso y aliviar el dolor asociado a las mismas.

Los estímulos nocivos que evocan el dolor se pueden clasificar como estímulos mecánicos, térmicos, y químicos. Estos estímulos son percibidos por los nociceptores que son terminaciones nerviosas libres de las fibras A $\delta$  y C de conducción del dolor, y los estímulos intensos y continuos producen daños en los tejidos e inflamación. El dolor patológico es el resultado de daños en el tejido o los nervios por estímulos nocivos, inflamación, infección vírica, y otros.

Una vez que tiene lugar la inflamación, las células inmunes o células dañadas producen y secretan citoquinas proinflamatorias tales como la interleuquina-1 (por ejemplo, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), y otros, así como mediadores algésicos como prostaglandinas, que mejoran la sensibilidad al dolor.

A su vez, los tejidos inflamados también secretan péptidos opioides de supresión del dolor tales como endorfina, encefalina, dinorfina, y otros, o citoquinas antiinflamatorias tales como IL-4, IL-10, IL-13, y otras, para ejercer efectos analgésicos.

Mientras tanto, el cartílago de la rodilla cubre la superficie del fémur y la tibia, lo que impide la abrasión de articulación de la rodilla por la fuerza de fricción. Sin embargo, en la artrosis, se producen fibrosis y la fisura en la superficie del cartílago, dando lugar a cartílago dañado.

Las MMPs tales como la MMP-1, MMP-3, y MMP-13 juegan un papel importante en dicho metabolismo de la matriz del cartílago, y a las mismas se asocian las citoquinas inflamatorias tales como la interleuquina-1 $\beta$  (IL-1  $\beta$ ), IL-6, TNF- $\alpha$ ) y otros mediadores inflamatorios tales como la prostaglandina y el óxido de nitrógeno (NO).

Las MMPs se secretan de condrocitos activados por estímulos mecánicos, y degradan el colágeno y el proteoglicano, los principales componentes del cartílago, y las citoquinas inflamatorias y otros mediadores inflamatorios no solo promueven la secreción de MMP para mejorar las actividades de las MMP, sino que también estimulan las células inflamatorias agravando la inflamación.

Las actividades de las MMP están reguladas por inhibidores tisulares específicos de las metaloproteinasas (ITEM), y por lo tanto, la regulación en aumento de los ITEM puede inhibir las actividades de las MMP que ejercen efectos beneficiosos. Además, el aumento de las citoquinas antiinflamatorias incluyendo IL-4, IL-10 e IL-13 también puede proteger la matriz del cartílago inhibiendo la producción de citoquinas inflamatorias y promoviendo la producción de ITEM.

- Se han desarrollado una serie de agentes terapéuticos para la inhibición de la inflamación y el dolor, pero actualmente no hay fármacos disponibles para la regeneración del cartílago. Además, como todos los fármacos anteriores tienen efectos limitados, aún queda por resolver el dolor intenso de los pacientes, así como la pérdida económica asociada al mismo. En la actualidad, para el tratamiento de la artrosis y la artritis reumatoide se usan antiinflamatorios no esteroideos (AINE), medicamentos a base de oro, penicilamina, y fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (DMARD), tales como medicamentos contra la malaria. Sin embargo, estos fármacos tienen efectos secundarios graves.
- Se han probado intensamente muchos agentes terapéuticos para la artritis usando productos naturales, pero estos se basan en la supresión de la reacción inflamatoria y tienen bajos efectos curativos. Por lo tanto, hay una necesidad para el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos para la artritis que tengan pocos efectos secundarios y efectos excelentes en la supresión del dolor, del edema, y la regeneración del cartílago.
- Las hierbas usadas en la composición de acuerdo con la presente invención, incluyendo *Chaenomelis Fructus*, *Achyranthis Radix*, *Acanthopanax*, *Cinnamomi Cortex*, *Gentianae Radix*, *Clematidis Radix*, *Angelicae Radix*, *Cnidii Rhizoma*, *Gastrodiae Rhizoma*, cártamo, *Phlomis Radix*, y *Ledebouriellae Radix*, son muy conocidas como medicamentos tradicionales a base de plantas sin efectos secundarios adversos significativos, por ejemplo, toxicidad. Las características y eficacias de estas hierbas se describen a continuación.
- Chaenomelis Fructus* es una forma seca del fruto de *Chaenomeles sinensis* KOEHNE o *Chaenomeles speciosa* NAKAI que pertenece a las Rosaceae, y se ha usado para el tratamiento de la gastroenteritis aguda, beriberi, mialgia, artritis, neuralgias, tos ferina, expectoración, neumonía y bronquitis (Park J. H. et al., The Encyclopedia of Medicinal Plants, 2000; Herbalogy, 1998).
- Achyranthis Radix* es la raíz de *Achyranthes japonica* (Miq.) NAKAI que pertenece a las Amaranthaceae y en el mercado hay disponibles raíces de *Achyranthes Bidentata* BLUME y *Cyathula officinalis* KUAN. Se ha usado para el fortalecimiento de los músculos y los huesos y para proteger el hígado y el riñón (Park J. H. et al., The Encyclopedia of Medicinal Plants, 2000; Herbalogy, 1998).
- Acanthopanax* es la corteza de la raíz de *Acanthopanax gracilistylus* W. W. SMITH, que pertenece a las Araliaceae, y se ha usado para aumentar los músculos y los huesos y para el tratamiento del edema (Park J. H. et al., The Encyclopedia of Medicinal Plants, 2000; Herbalogy, 1998).
- Cinnamomi Cortex* es la corteza del tallo de *Cinnamomum cassia* BLUME que pertenece a las Lauraceae, y se ha usado para el tratamiento del frío y la ataralgia (Modern Farmacognosia, Hakchangsa, 1993).
- Gentianae Radix* es la raíz de *Gentiana macrophylla* PALLAS que pertenece a las Gentianeae, y se ha usado para el tratamiento de la parálisis (Park J. H. et al., The Encyclopedia of Medicinal Plants, 2000; Herbalogy, 1998).
- Clematidis Radix* es la raíz de *Clematis mandshurica* MAX. que pertenece a las Ranunculaceae, y se ha usado para el tratamiento de la gota (The Encyclopedia of Medicinal Plants, Park J. H. et al., Shinil Books, pp. 303-305, 2000; Herbalogy, Sanitation press, pp. 309-310, 1998).
- Angelicae Radix* es una forma seca de la raíz de *Angelica gigas* NAKAI que pertenece a las Umbelliferae. Las raíces secas de *Angelica sinensis* DIELS y *Angélica Acutiloba* KITAGAWA se han usado en China y Japón, respectivamente, para la enfermedad puerperal, hematomía, dolor de cabeza, y vigorizante del torrente sanguíneo (Park J. H. et al., The Encyclopedia of Medicinal Plants, 2000; Herbalogy, 1998).
- Cnidii Rhizoma* es el rizoma de *Cnidium officinale* MAKINO, *Ligusticum wallichii* FRANCH var. *Officinale* YOOK, *Angelica genuflexa* MUTT de Japón, y *Ligusticum chuaxiong* HORT de China, que pertenece a las Umbelliferae, y se ha usado para el tratamiento de hematomía, dolor de cabeza, obstetricia y enfermedad ginopática (Park J. H. et al., The Encyclopedia of Medicinal Plants, 2000; Herbalogy, 1998).
- Gastrodiae Rhizoma* es una forma seca de la corteza del rizoma de *Gastrodia elata* BLUME que pertenece a las Orchidaceae, y se ha usado para el tratamiento del dolor de cabeza y mareos (Park J. H. et al., The Encyclopedia of Medicinal Plants, 2000; Herbalogy, 1998).
- El cártamo es una forma seca de la flor de *Carthamus tinctorius* L. que pertenece a las Compositae, y se ha usado para tratar enfermedad ginopática, leucorrea, y enfermedad climatérica (The Encyclopedia of Medicinal Plants, Park J. H. et al., Shinil Books, pp. 343-345, 2000; Herbalogy, Sanitation press, pp. 501-502, 1998).
- Phlomis Radix* es la raíz de *Phlomis umbrosa* TURCZ que pertenece a las Labiatae, que se ha usado para el tratamiento de hematomas, fracturas, y la mejora de la regeneración de tejidos (The Encyclopedia of Medicinal Plants, Park J. H. et al., 2000; Herbalogy, 1998).
- Ledebouriellae Radix* es la raíz de *Ledebouriella seseloides* WOLF que pertenece a las Umbelliferae, que se ha

usado para el tratamiento del frío, dolor de cabeza, artritis, y tétanos (The Encyclopedia of Medicinal Plants, Park J. H. et al., Shinil Books, pp. 160-161, 2000; Herbalogy, Sanitation press, pp. 169-171, 1998).

5 Las hierbas mencionadas anteriormente se han usado para inflamaciones agudas y crónicas tales como diversas lesiones, abscesos, neumonía, bronquitis, anemia, dolor de cabeza, frío, y neuralgia, cada una que tiene una acción farmacológica y eficacia únicas.

10 Se ha comprobado que el extracto de hierbas complejo de las hierbas anteriores (denominado "PG201") era eficaz en la protección del cartílago y la prevención de la inflamación en un modelo de rata de artritis reumatoide y un modelo de conejo de artrosis (S.S. Shin, et al., J. Rheumatol, 42, pp. 665-672, 2003; KC Park, et al, Biochem Bioph Res Co, 331, pp. 1469-1477, 2005). Sin embargo, no se ha informado de la regeneración del cartílago o de la supresión del dolor en modelos clínicos de artrosis.

15 Los presentes inventores han descubierto inesperadamente que PG201 es eficaz en la regeneración del cartílago y en la supresión de dolor y edema en ensayos con animales.

#### Sumario de la invención

20 En consecuencia, un objeto de la presente invención es proporcionar una composición farmacéutica que no tiene efectos secundarios significativos, para su uso en la supresión del dolor o la supresión de edema.

25 De acuerdo con un aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende extractos de hierbas de *Chaenomelis Fructus*, *Achyranthis Radix*, *Acanthopanax*, *Cinnamomi Cortex*, *Gentianae Radix*, *Clematidis Radix*, *Angelicae Radix*, *Cnidii Rhizoma*, *Gastrodiae Rhizoma*, cártamo, *Phlomidis Radix*, y *Ledebouriellae Radix*, en el que los extractos contienen acantósido D como ingrediente activo, para su uso en la supresión del dolor, o la supresión de edema.

30 Además, la composición anterior se proporciona para su uso en la supresión del dolor o la supresión de edema, en forma de alimento saludable.

Aún más, la composición anterior se proporciona para su uso en la supresión del dolor o la supresión de edema, en forma de un aditivo alimentario o para piensos.

#### 35 Breve descripción de los dibujos

Los objetos y características anteriores de la presente invención y otros resultarán evidentes a partir de la siguiente descripción de la invención, cuando se toma junto con los dibujos adjuntos.

40 Figura 1: El diagrama esquemático que muestra el experimento para la regeneración del cartílago usando artritis inducida por colágeno en conejos.

Figura 2: El efecto de cada grupo experimental en la regeneración del cartílago en la artritis inducida por colágeno en conejos.

Figura 3: Cromatograma de HPLC que muestra acantósido D en PG201.

#### 45 Descripción detallada de la invención

La composición farmacéutica de la presente invención puede comprender los extractos de hierbas en una cantidad del 0,01 al 95 % en peso, preferentemente del 1 al 80 % en peso, en base a la cantidad total de la composición.

50 Además, la composición farmacéutica de la invención puede comprender extractos de *Chaenomelis Fructus*, *Achyranthis Radix*, *Acanthopanax*, *Cinnamomi Cortex*, *Gentianae Radix*, *Clematidis Radix*, *Angelicae Radix*, *Cnidii Rhizoma*, *Gastrodiae Rhizoma*, cártamo, *Rhlomidis Radix*, y *Ledebouriellae Radix*, en la que las relaciones en peso de los extractos son 1,5-2,5: 1,5-2,5: 1,5-2,5: 1,5-2,5: 0,75-1,75: 0,75-1,75: 0,75-1,75: 0,75-1,75: 0,75-1,75: 0,5-1,5: 1, o puede comprender un extracto obtenido a partir de hierbas mezcladas en las relaciones anteriores.

Además, dichos extractos de hierbas de la composición farmacéutica de la invención contienen acantósido D como ingrediente activo. La cantidad de acantósido D puede ser del 0,01~0,05 % en peso, en base a la cantidad total de los extractos de hierbas.

60 Además, la composición farmacéutica de la presente invención puede comprender otros extractos de hierbas que ejercen efectos iguales o similares.

65 Los extractos de hierbas se pueden preparar mediante el siguiente procedimiento. Las hierbas se lavan, se secan y, opcionalmente, se cortan en trozos pequeños, o se pulverizan. A continuación, las hierbas lavadas, secas, cortadas, o pulverizadas se extraen de acuerdo con el método de extracción convencional, por ejemplo, usando agua caliente

o disolventes orgánicos. Además, la composición de la invención puede comprender una forma de polvo seco derivada de dichos extractos o una mezcla de polvos derivados de extractos disponibles en el mercado. En la preparación de extractos de hierbas, las hierbas se pueden usar en forma seca o no seca, o una de sus mezclas.

5 Los extractos de hierbas de la composición de la invención se pueden preparar, por ejemplo, cortando las hierbas secas en trozos pequeños, mezclando, extrayendo la mezcla de 1 a 5 veces en 1 a 20 veces de peso de agua, disolvente orgánico, o una mezcla de dichos disolventes, preferentemente, del 10 al 100 % (v/v) de etanol, durante aproximadamente 1 hora a 10 días, a 10 °C a 100 °C, de acuerdo con la extracción con agua caliente, la extracción con agua fría, sonicación, reflujo o extracción convencional, y después filtrando, concentrando o liofilizando el extracto. Un disolvente orgánico ejemplar incluye alcoholes inferiores C<sub>1-4</sub>, acetato de etilo, cloroformo, hexano, diclorometano y otros.

15 Como se muestra en los ejemplos experimentales de la presente invención, la composición farmacéutica de la invención muestra una excelente regeneración de cartilago *in vivo* en modelos de artritis en conejo y una inhibición significativa del dolor en el ensayo de contorsión inducido por PBQ (véase Tabla 1). Además, la composición muestra una excelente supresión de edema en el ensayo de edema en la pata inducido por carragenina (véase la Tabla 2).

20 La composición farmacéutica de la invención además puede comprender vehículos, adyuvantes, o diluyentes farmacéuticamente aceptables para su uso en el tratamiento de la artritis o para su uso en la supresión del dolor.

25 Ejemplos de estos vehículos, adyuvantes, o diluyentes incluyen lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, xilitol, eritritol, maltitol, almidones, goma arábica, alginato, gelatina, fosfato de calcio, silicato de calcio, celulosa, metilcelulosa, celulosa microcristalina, polivinil pirrolidona, agua, metilhidroxi benzoato, propilhidroxi benzoato, talco, estearato de magnesio y aceite mineral.

30 La composición de la invención se puede preparar en cualquier forma, por ejemplo, en forma de dosificación oral tal como un polvo, gránulo, comprimido, píldora, cápsula, extracto, suspensión, emulsión, jarabe, medicina acuosa, aerosol, y otras, preparación tópica tales como parche Trast® y parche transdérmico, medicina no acuosa, preparación liofilizada, y preparación inyectable estéril.

35 En las formulaciones, si es necesario, se pueden incluir cargas, diluyentes, aglutinantes, agentes humectantes, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, adyuvantes, agentes desintegrantes, emulsionantes, agentes lubricantes farmacéuticamente aceptables y similares.

40 La dosis deseable de la composición farmacéutica de la invención puede depender de la edad del paciente, el sexo o el peso, pero generalmente se puede administrar de 1 a 3 veces al día en una dosis dividida de 0,01-10 g, preferentemente, 1 a 5 g. Además, la dosis se puede ajustar de acuerdo con la vía de administración, la gravedad de la enfermedad, el sexo del paciente, el peso, la edad y similares. Por lo tanto, la dosis no limita de ningún modo el alcance de la presente invención.

45 La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende extractos de hierbas de *Chaenomeles Fructus*, *Achyranthis Radix*, *Acanthopanax*, *Cinnamomi Cortex*, *Gentianae Radix*, *Clematidis Radix*, *Angelicae Radix*, *Cnidii Rhizoma*, *Gastrodiae Rhizoma*, cártamo, *Phlomis Radix*, y *Ledebourielae Radix*, en la que los extractos contienen acantósido D como ingrediente activo, para su uso en la supresión del dolor, o la supresión de edema, en forma de alimento saludable.

50 El alimento saludable de la presente invención puede comprender los extractos de hierbas en una cantidad total del 0,01 al 95 % en peso, preferentemente del 1 al 80 % en peso.

Además, la relación en peso de los extractos de hierbas usados en los alimentos saludables y el método de preparación de la invención son los mismos que se han mencionado antes.

55 El alimento saludable de la presente invención puede estar en cualquier forma de un polvo, gránulo, comprimido, cápsula o bebida, y además puede comprender otras sustancias naturales o sintéticas para promover la salud y aditivos para su preparación.

60 La bebida saludable de la presente invención puede contener los extractos de hierbas en una cantidad de 1 a 30 g, preferentemente de 3 a 10 g, en base a 100 ml de bebida. Siempre que la bebida saludable de la presente invención contenga los extractos descritos anteriormente como componentes esenciales en la proporción indicada, no hay ninguna limitación particular sobre los otros componentes líquidos, y la bebida además puede contener diversos agentes aromatizantes o hidratos de carbono naturales que se usan convencionalmente en las bebidas. Ejemplos de hidratos de carbono naturales mencionados anteriormente son monosacáridos tales como glucosa, fructosa, y otros; disacáridos tales como maltosa, sacarosa, y otros; azúcares convencionales, tales como dextrina, ciclodextrina, y otros; y alcoholes de azúcar tales como xilitol, sorbitol, eritritol, y otros. Además de los hidratos de carbono, se pueden usar agentes aromatizantes naturales, tales como taumatina, extracto de estevia (por ejemplo, levaudiósido

A, glicirricina, etc.), y agentes aromatizantes sintéticos tales como sacarina, aspartamo, y otros. Los hidratos de carbono naturales generalmente se pueden usar en una cantidad de aproximadamente 1 a 20 g, preferentemente de 5 a 12 g por 100 ml de composición.

- 5 Además de dichos componentes, la composición de la presente invención puede contener diversos suplementos nutricionales, vitaminas, minerales (electrolitos), agentes aromatizantes sintéticos o naturales, agentes colorantes, y cargas (queso, chocolate, etc.), ácido péctico y sus sales, ácido algínico y sus sales, ácidos orgánicos, espesantes coloidales protectores, agentes de ajuste del pH, estabilizadores, conservantes, glicerina, alcoholes, agentes de carbonatación usados en bebidas carbonatadas, y otros. Además, la composición de la invención puede contener
- 10 pulpas de fruta para zumos de frutas naturales y bebidas de zumos de frutas y bebidas de vegetales. Estos componentes se pueden usar de forma independiente o en combinación. La proporción de dichos aditivos en general se puede seleccionar en un intervalo de 0 a 20 partes en peso aproximadamente en base a 100 partes en peso de la composición.
- 15 Los ejemplos de alimento saludable incluyen varios alimentos, bebidas, gomas, complejos vitamínicos, suplementos de alimentos saludables, y otros.

La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende extractos de hierbas de *Chaenomelis Fructus*, *Achyranthis Radix*, *Acanthopanax*, *Cinnamomi Cortex*, *Gentianae Radix*, *Clematidis Radix*, *Angelicae Radix*, *Cnidii Rhizoma*, *Gastrodiae Rhizoma*, cártamo, *Phlomidis Radix*, y *Ledebouriellae Radix*, en la que los extractos contienen acantósido D como ingrediente activo, para su uso en la supresión del dolor, o la supresión de edema, en forma de aditivo alimentario o para piensos.

El aditivo alimentario o para piensos de la presente invención puede comprender los extractos de hierbas en una cantidad total del 0,01 al 95 % en peso, preferentemente del 1 al 80 % en peso en base a la cantidad total de la composición.

Además, la relación en peso de los extractos de hierbas usados en el aditivo alimentario o para piensos y su método de preparación de la invención son los mencionados anteriormente.

El aditivo se puede añadir como materia prima en la preparación de alimentos o piensos, o se añade al alimento o pienso preparado final.

Los siguientes ejemplos están destinados a ilustrar adicionalmente la presente invención.

35 Ejemplo 1: Preparación de extractos de hierbas (PG201) usando disolvente polar (1)

Doce hierbas, *Chaenomelis Fructus*, *Achyranthis Radix*, *Acanthopanax*, *Cinnamomi Cortex*, *Gentianae Radix*, *Clematidis Radix*, *Angelicae Radix*, *Cnidii Rhizoma*, *Gastrodiae Rhizoma*, cártamo, *Rhlomidis Radix*, y *Ledebouriellae Radix* se adquirieron en un mercado especializado en hierbas (mercado de hierbas Kyungdong, Seúl, Corea), y cada hierba se lava y se seca. A continuación, 62,3 g de *Chaenomelis Fructus*, 62,3 g de *Achyranthis Radix*, 62,3 g de *Acanthopanax*, 62,3 g de *Cinnamomi Cortex*, 38,9 g de *Gentianae Radix*, 38,9 g de *Clematidis Radix*, 38,9 g de *Angelicae Radix*, 38,9 g de *Cnidii Rhizoma*, 38,9 g de *Gastrodiae Rhizoma*, 38,9 g de cártamo, 31,1 g de *Rhlomidis Radix*, y 31,1 g de *Ledebouriellae Radix* se mezclaron con 1,6 l de etanol al 25 %, y la mezcla se extrajo a temperatura ambiente durante 3 días mientras se agita. El extracto se concentró a presión reducida a 55~65 °C, y se liofilizó para obtener un polvo de extracto (PG201).

Ejemplo 2: Preparación de extractos de hierbas (PG201) usando disolvente polar (2)

50 Doce hierbas, *Chaenomelis Fructus*, *Achyranthis Radix*, *Acanthopanax*, *Cinnamomi Cortex*, *Gentianae Radix*, *Clematidis Radix*, *Radix angelicae*, *Cnidii Rhizoma*, *Gastrodiae Rhizoma*, cártamo, *Rhlomidis Radix*, y *Radix Ledebouriellae* se lavan y se secan. A continuación, se añadió 1,0~1,5 l de etanol al 25 % a 62,3 g de *Chaenomelis Fructus*, 62,3 g de *Achyranthis Radix*, 62,3 g de *Acanthopanax*, 62,3 g de *Cinnamomi Cortex*, 38,9 g de *Gentianae Radix*, 38,9 g de *Clematidis Radix*, 38,9 g de *Angelicae Radix*, 38,9 g de *Cnidii Rhizoma*, 38,9 g de *Gastrodiae Rhizoma*, 38,9 g de cártamo, 31,1 g de *Rhlomidis Radix*, y 31,1 g de *Ledebouriellae Radix*, respectivamente, y cada mezcla se extrajo a temperatura ambiente durante 3 días mientras se agita. Cada extracto se concentra a presión reducida a 55~65 °C, se liofiliza, y se mezcla para obtener un polvo de extracto (PG201).

Ejemplo experimental 2: Efecto de inhibición del dolor de PG201 en el ensayo de contorsión inducido por PBQ

60 Con el fin de medir el efecto de inhibición del dolor de PG201, se llevó a cabo el ensayo de contorsión inducida por PBQ (para-benzoquinona). A ratas SD macho de 6 semanas de edad se les administró por vía oral agua esterilizada (grupo de control negativo), 400 mg/kg de PG201 (grupo PG201), 30 mg/kg de diclofenaco de sodio (Sigma, EE.UU.), un fármaco antiinflamatorio no esteroideo, como grupo de control positivo (grupo de diclofenaco), y 400 mg/kg de JOINS TAB (SK chemicals, Corea), un fármaco antiinflamatorio disponible en el mercado derivado de sustancias naturales (grupo JOINS TAB), respectivamente. Dos horas después de la administración de las muestras

de ensayo, se indujo el estímulo de dolor en ratas por inyección intraperitoneal de 1 mg/kg de PBQ. Se contó el número de contorsiones para cada rata durante 30 minutos a partir de los 10 minutos después de la inyección de PBQ. La inhibición del dolor (%) se calculó a partir del número total de contorsiones usando la siguiente ecuación 1 (Thuy, T. C. et al., J. Pharmacol Exp Ther. 248(3): pp. 907-915, 1989).

<Ecuación 1>

Inhibición del dolor (%) = [(número de contorsiones para el grupo de control negativo - número de contorsiones para el grupo tratado con fármacos)/número de contorsiones por grupo de control negativo] × 100

Como se muestra en la Tabla 1, el grupo de diclofenaco (grupo de control positivo) presentaba el 92 % de inhibición del dolor, y el grupo JOINS TAB no mostraba inhibición del dolor. Por el contrario, PG201 mostraba el 23 % de inhibición del dolor, lo que indica que los extractos de la invención son más eficaces en la inhibición del dolor que los agentes terapéuticos naturales anteriores para la artritis.

<Tabla 1>

Grupo experimental	Grupo de diclofenaco	Grupo JOINS TAB	Grupo PG201
Cantidad (mg/kg)	30	400	400
Porcentaje de inhibición del dolor (%)	92	-	23

Ejemplo experimental 3: Efecto de inhibición del edema de PG201 en el ensayo de edema en la pata inducido por carragenina

Con el fin de evaluar el efecto de PG201 sobre la inhibición de edema, se llevó a cabo el ensayo de edema en la pata inducido por carragenina. A ratas SD macho de 6 semanas de edad se les administró por vía oral agua esterilizada (grupo de control negativo), 400 mg/kg de PG201 (grupo PG201), 30 mg/kg de diclofenaco como grupo de control positivo (grupo de diclofenaco), y 400 mg/kg de JOINS TAB (SK chemicals, Corea) (grupo JOINS TAB), respectivamente. Dos horas después de la administración oral, se inyectó por vía intradérmica 50 µl de solución de carragenina al 1 % en la pata trasera derecha. Inmediatamente después de la inyección y tres horas después de la inyección, se midieron los volúmenes de las patas traseras usando un método de desplazamiento de mercurio. Se calculó la inhibición del edema (%) comparando el edema promedio del grupo tratado con el fármaco con el del grupo de control negativo (PF Moore et al., Inflamm. Res. (45) pp. 54-61, 1996).

Como se muestra en la Tabla 2, el grupo de diclofenaco (grupo control positivo) presentaba el 92 % de inhibición del edema, y el grupo JOINS TAB no mostraba inhibición de edema. Por el contrario, PG201 mostraba el 12 % de inhibición del edema, lo que indica que los extractos de la invención son más eficaces en la inhibición de edema que los agentes terapéuticos naturales anteriores para la artritis.

<Tabla 2>

Grupo experimental	Grupo de diclofenaco	Grupo JOINS TAB	Grupo PG201
Cantidad (mg/kg)	30	400	400
Porcentaje de inhibición del dolor (%)	38	-	12

Ejemplo experimental 4: Análisis de la cantidad de acantósido D en PG201

Se añadieron 1,0 g de PG201 y 20 ml de metanol al 50 % a un matraz Mass de 50 ml, se sonicó durante 30 minutos, y se centrifugó a 3200 rpm, a temperatura ambiente, durante 30 minutos. El sobrenadante se filtró a través de un filtro de jeringuilla de 0,45 micrómetros, y el filtrado se usó como solución de ensayo. Se disolvieron 10 mg de patrón acantósido D en metanol para preparar 100 ml, se filtró a través de un filtro de jeringuilla de 0,45 micrómetros, y esta solución se usa como solución patrón. Sometiendo 20 µl de la solución patrón y 20 µl de la solución de ensayo a cromatografía líquida en las siguientes condiciones, se midieron las áreas de los picos de acantósido D, AS y AT, respectivamente. La cantidad de acantósido D se calculó mediante el uso de AS y AT de la siguiente ecuación.

Ecuación : Cantidad de acantósido D (C<sub>35</sub>H<sub>60</sub>O<sub>6</sub>: 742,73) (mg) = cantidad de acantósido D patrón (mg) × (AT/AS) × pureza del patrón

Condiciones:

Detector: espectrofotómetro UV (longitud de onda de medición 210 nm)

Columna: Capcell Pak C18 UG80 4,6 \* 150 (5 µM)

Temperatura: 40 °C

Fase móvil: A = 10 % de acetonitrilo, B = 60 % de acetonitrilo

Volumen de inyección: 20 µl

Caudal: 1 ml/min

<Tabla 3>

Tiempo (min)	A (%)	B (%)
0	100	0
3	95	5
10	95	5
15	90	10
20	90	10
25	100	0
30	100	0

- 5 Las cantidades de acantósido D en muestras de PG201 medidas por cuantificación en HPLC se muestran en la Tabla 4.

<Tabla 4>

n.º de muestra de PG201	Cantidad de acantósido D (%)
1	n. d.
2	0,0139
3	0,0237
4	0,0360
5	0,0419

- 10 Los siguientes ejemplos de preparación están destinados a ilustrar adicionalmente dicha composición farmacéutica.

Ejemplo de Preparación 1: Preparación de líquido concentrado

Extracto de hierbas del Ejemplo 1	600 mg
Oligosacáridos	600 mg
Concentrado de pera	500 mg
Mezcla de vitaminas	30 mg
Sabor a fresa	cantidad apropiada

- 15 Se preparó una preparación líquida concentrada disolviendo los componentes anteriores en agua destilada para hacer 30 ml, llenando la mezcla en una muestra de polietileno y esterilizando.

Ejemplo de preparación 2: Preparación de comprimido

Extracto de hierbas del Ejemplo 1	300 mg
Lactosa	85 mg
Maicena	110 mg
Celulosa microcristalina	63 mg
CMC-Ca	cantidad apropiada
Glicolato sódico de almidón	cantidad apropiada
Dióxido de silicio	cantidad apropiada
Estearato de magnesio	cantidad apropiada
o	
Extracto de hierbas del Ejemplo 1	300 mg
Poliacrilato de potasio	80 mg
Hidroxipropilcelulosa	40 mg
Ácido silícico anhidro ligero	160 mg
Behenato de glicerilo	cantidad apropiada
Estearato de magnesio	cantidad apropiada



Se preparó la preparación de comprimido mezclando los componentes anteriores, comprimiendo y recubriendo, de acuerdo con el método de preparación convencional de comprimidos.

Ejemplo de Preparación 3: Preparación de cápsula blanda

Extracto de hierbas del Ejemplo 1	300 mg
Aceite de soja	480 mg
Aceite de palma	90 mg
Cera de abejas amarilla	30 mg

5 Se preparó la preparación de la cápsula blanda mezclando los componentes anteriores y llenando cápsulas de gelatina succinilada por el método de preparación convencional de cápsulas blandas.

Ejemplo de Preparación 4: Preparación de cápsula dura

Extracto de hierbas del Ejemplo 1	300 mg
Lactosa	85 mg
Maicena	110 mg
Celulosa microcristalina	63 mg
CMC-Ca	10 mg

10 Se preparó la preparación de cápsulas duras mezclando los componentes anteriores y llenando la cápsula de gelatina por el método de preparación convencional de cápsulas duras.

Ejemplo de Preparación 5: Preparación de parche

Composición de fármaco bruto del Ejemplo	150 mg
Salicilato de glicol	150 mg
L-mentol	100 mg
Parahidroxibenzoato de metilo	28 mg
Ácido glicirrícico	cantidad apropiada
Salicilato de difenhidramina	cantidad apropiada

15 Se preparó un parche (14 cm x 10 cm) mezclando los componentes anteriores de acuerdo con el método de preparación convencional de parches.

Ejemplo de Preparación 6: Preparación de la comida saludable

Extracto de hierbas del Ejemplo 1	150 mg
Lactosa	120 mg
Calcio de la leche	30 mg
Vitamina D3	30 mg
Vitamina C	20 mg
Extracto de té verde en polvo	cantidad apropiada
Pantotenato de calcio	cantidad apropiada
L-cistina	cantidad apropiada
Xilitol	cantidad apropiada
Estearato de magnesio	cantidad apropiada

20 Ejemplo de Preparación 7: Preparación de bebida saludable

Extracto de hierbas del Ejemplo 1	1000 mg
Ácido cítrico	1000 mg
Oligosacáridos	100 gramos
Concentrado de prunus mume	2 g
Taurina	1 g
Agua destilada	hasta 900 ml

25 Se preparó la preparación de bebidas saludables mezclando los componentes anteriores, agitando a 87 °C durante aproximadamente 1 hora, filtrando, y llenando en un envase de 1000 ml y esterilizando por el método de preparación convencional de bebidas saludables.

Ejemplo de Preparación 8: Preparación de aditivo alimentario

- 5 Se preparó la preparación del aditivo alimentario usando el extracto de hierbas del Ejemplo 1 por sí mismo, o mezclando el extracto de hierbas del Ejemplo 1 con cualquiera de lactosa, microcristalina, maicena y dextrina en 1:1, agitando, secando por calor a 40~70 °C durante 3~9 horas o secando al vacío a 40~60 °C y 760 mm de Hg o secando con el uso de un secador de lecho fluido o secando por pulverización.

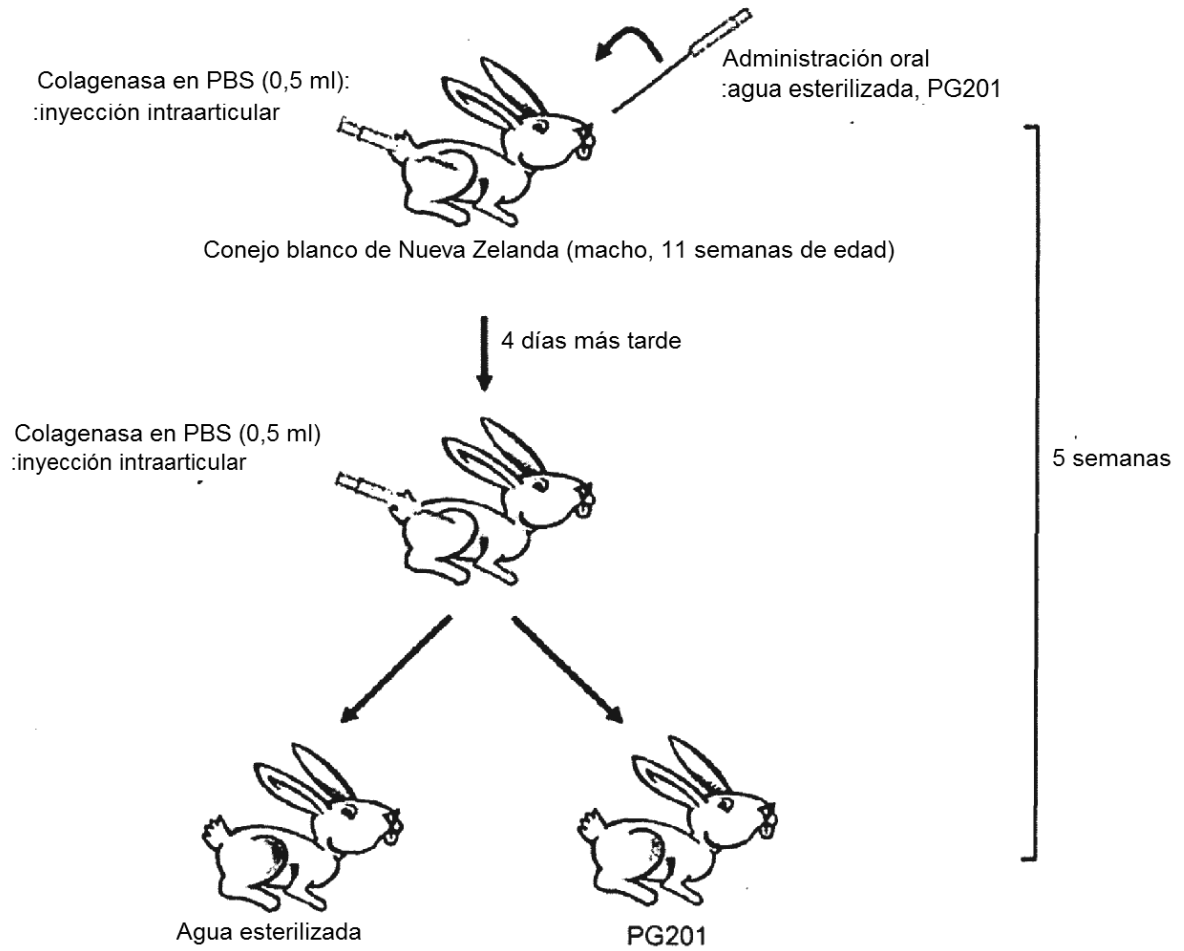
Ejemplo de Preparación 9 Preparación de aditivo para piensos

- 10 Se preparó preparación del aditivo para piensos según el Ejemplo de Preparación 8.

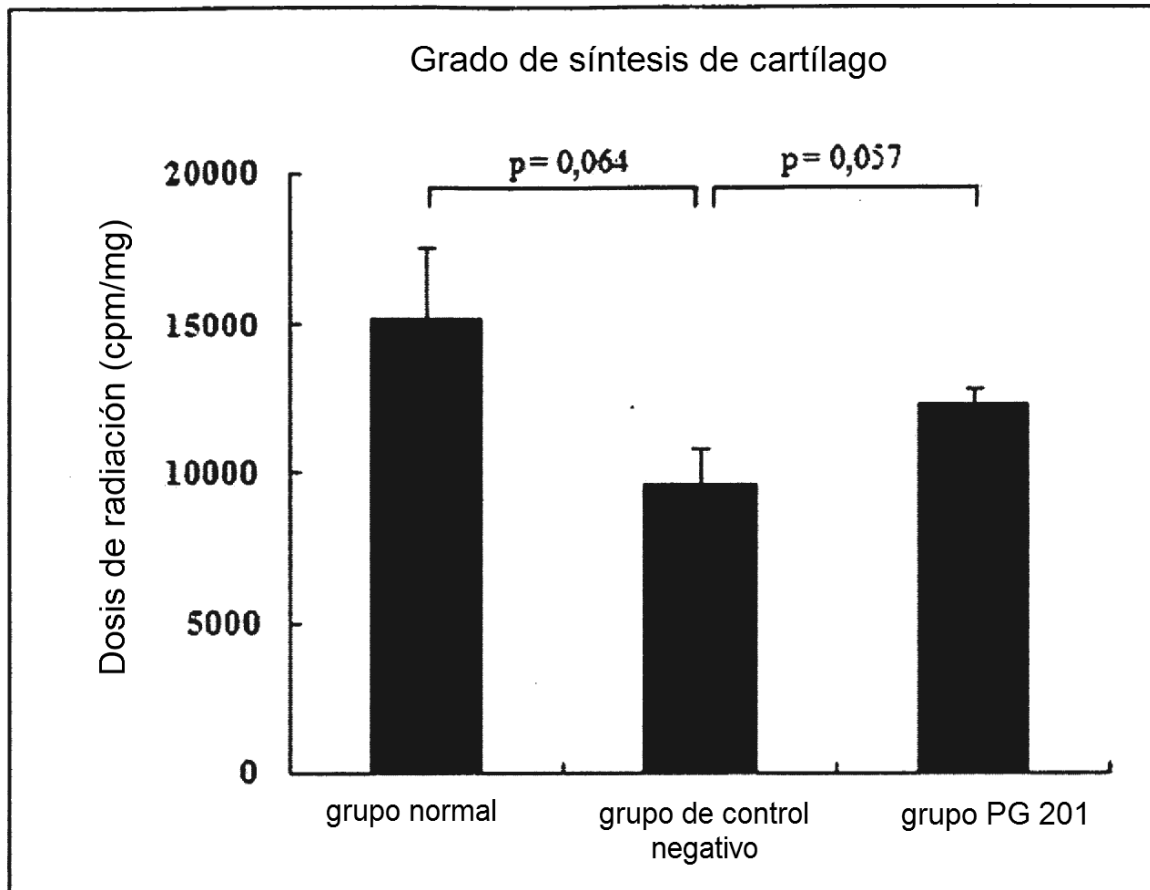
## REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición farmacéutica que comprende extractos de hierbas de *Chaenomeles Fructus*, *Achyranthis Radix*, *Acanthopanax*, *Cinnamomi Cortex*, *Gentianae Radix*, *Clematidis Radix*, *Angelicae Radix*, *Cnidii Rhizoma*, *Gastrodiae Rhizoma*, cártamo, *Phlomidis Radix*, y *Ledebouriellae Radix*, en la que los extractos contienen acantósido D como ingrediente activo, para su uso en la supresión del dolor o la supresión de edema.
- 10 2. La composición de la reivindicación 1 para su uso en la supresión del dolor o la supresión de edema, en forma de alimento saludable.
3. La composición de la reivindicación 1 para su uso en la supresión del dolor o la supresión de edema, en forma de aditivo alimentario o para piensos.
- 15 4. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para su uso en la supresión del dolor o la supresión de edema, en la que la cantidad total de los extractos es del 0,01 al 95 % en peso, en base a la cantidad total de la composición.
- 20 5. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para su uso en la supresión del dolor o la supresión de edema, en la que las relaciones en peso de los extractos de *Chaenomeles Fructus*, *Achyranthis Radix*, *Acanthopanax*, *Cinnamomi Cortex*, *Gentianae Radix*, *Clematidis Radix*, *Angelicae Radix*, *Cnidii Rhizoma*, *Gastrodiae Rhizoma*, cártamo, *Phlomidis Radix*, *Radix y Ledebouriellae* son 1,5~2,5: 1,5~2,5: 1,5~2,5: 1,5~2,5: 0,75~1,75: 0,75~1,75: 0,75~1,75: 0,75~1,75: 0,75~1,75: 0,5~1,5: 1.
- 25 6. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para su uso en la supresión del dolor o la supresión de edema, en la que la cantidad de acantósido D es del 0,01~0,05 % en peso, en base a la cantidad total de los extractos.
- 30 7. La composición de la reivindicación 1 que además comprende vehículos, adyuvantes, o diluyentes farmacéuticamente aceptables para su uso en el tratamiento de la artritis o para su uso en la supresión del dolor.
8. La composición de la reivindicación 1 para su uso en la supresión del dolor o la supresión de edema, en la que los extractos son extractos de disolventes o formas en polvo derivadas de los mismos.
- 35 9. La composición de la reivindicación 1 para su uso en la supresión del dolor o la supresión de edema, en la que la composición se formula en cualquier forma seleccionada del grupo que consiste en un polvo, gránulo, comprimido, píldora, cápsula, extracto, suspensión, emulsión, jarabe, medicina acuosa, aerosol, parche Trast®, parche transdérmico, medicina no acuosa, preparación liofilizada, y preparación inyectable estéril.
- 40 10. El alimento de la reivindicación 2 para su uso en la supresión del dolor o la supresión de edema, en el que el alimento está en forma de polvo, gránulo, comprimido, cápsula, o bebida.

**Fig. 1**



**Fig. 2**



**Fig. 3**

