

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 589 131**

51 Int. Cl.:

A61K 47/26 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61P 1/00 (2006.01)

A61K 36/53 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.06.2013 PCT/EP2013/061917**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.12.2013 WO13182709**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.06.2013 E 13730152 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.06.2016 EP 2858655**

54 Título: **Extractos de tomillo y su uso**

30 Prioridad:

08.06.2012 EP 12171273

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

10.11.2016

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**WALBROEL, BERND;
PISCHEL, IVO y
FEISTEL, BJÖRN**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 589 131 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Extractos de tomillo y su uso

La presente invención se refiere a extractos de serpol o tomillo sanjuanero (*Thymus serpyllum*), su preparación y uso.

5 Un uso de tomillo (*Thymus spp.*) se describe en particular con fines culinarios, pero también para las enfermedades médicas respiratorias.

El tomillo es una planta culinaria y medicinal del género *Thymus*. El tomillo es conocido por su fuerte sabor y se cultiva por su contenido de timol, el mejor se cosecha en lugares soleados, cálidos con suelo bien drenado. En la primavera se siembra y crece como una planta perenne y se puede propagar por semillas, esquejes o división de la raíz. A menudo también se recoge en la naturaleza.

10 El tomillo es común en todo el mundo y se usa culinariamente en las cocinas de Europa, Oriente Próximo, Asia, India, África y América. Especialmente, el tomillo se usa para dar sabor a carnes, sopas y guisos; así como una especia individual o en mezclas de hierbas y especias. En los países del Mediterráneo oriental se considera el tomillo za'atar (en árabe, tomillo) como una especia que contiene tomillo como un ingrediente vital, así como parte del ramillete de hierbas de especias y hierbas de Provenza.

15 El tomillo se comercializa tanto fresco como seco. Los productos frescos están disponibles casi todo el año desde el invernadero y son muy aromáticos, pero no duran más de una semana cosechados. El tomillo fresco se vende en paquetes de ramitas y consta de un tallo leñoso, que está integrado por hojas o inflorescencia. Dependiendo de la receta, se usan ramas u hojas enteras exentas del tallo. El tomillo seco conserva su sabor mejor que muchas otras hierbas.

20 Además del uso culinario, se ha encontrado que el aceite esencial que imparte sabor presenta diversas funciones médicas. Así, el aceite de tomillo del tomillo común (*Thymus vulgaris*) contiene del 20-54 % de timol, que está presente como antiséptico, por ejemplo, el principal ingrediente activo en diversos enjuagues bucales tales como Listerine. Antes, el aceite de tomillo también se usaba en la cicatrización de heridas en vendajes o de manera tópica frente a distintos hongos, así como desinfectante eficaz con efecto antibiótico. El aceite esencial de serpol (*Thymus serpyllum*), sin embargo, tiene un alto contenido de carvacrol, uno de los estereoisómeros del timol, el fenol terpeno, con espectro de acción análogo.

30 Las infusiones de té acuosas de hierbas de tomillo se usan para la tos y bronquitis. Otras aplicaciones médicas son las infecciones respiratorias, en donde el tomillo se usa además de en forma de té de hierbas, en forma de tinturas, ungüentos, jarabes, o por inhalación de vapor. Puesto que el tomillo es antiséptico, la decocción o infusión se pueden usar muy bien en el agua después de enfriamiento contra dolores de garganta haciendo gárgaras varias veces al día con él. A este respecto, el timol recolectado y otros componentes volátiles de la hierba tomillo, como se excreta a través de los pulmones (exhalado), debido a su lipofilia, genera una reducción en la viscosidad de la mucosa bronquial, mediante lo cual puede ser fácilmente expulsado. Además, ejerce su actividad antimicrobiana en el tracto respiratorio. Otras infecciones y heridas también se pueden tratar con los preparados de tomillo.

35 Casi todas las características y usos anteriores se pueden describir para los tipos de tomillo usados regionalmente. Estos incluyen principalmente especies que liberan fármacos *Thymus capitatus*, *Thymus citriodorus*, *Thymus mastichina*, *Thymus pulegioides*, *Thymus serpyllum*, *Thymus vulgaris* y *Thymus zygis*. Tradicionalmente, *T. zygis* se observa con *T. vulgaris* como equivalentes, pero económicamente solo desempeña un papel menor. De este grupo son económicamente accesibles en cantidades importantes principalmente *T. vulgaris* y *T. serpyllum* a partir de cultivo o recolección silvestre. En la Farmacopea Europea, el tomillo o serpol (*Thymus serpylli* L.) (monografía 1891) es considerado como la distorsión indeseable del tomillo (*Thymus vulgaris* L. + *Thymus zygis*) usado en medicina (monografía 865) en la lista, y viceversa. Esto es debido a la largamente conocida diversidad farmacológica de los tipos de plantas. El contenido mínimo de aceite esencial de serpol para los medicamentos monografiados asciende al menos a 3 ml/kg, para el tomillo al menos a 12 ml/kg.

45 El aceite esencial farmacológicamente valioso, que está bajo la monografía 1374 en la Farmacopea Europea, se obtiene en consecuencia únicamente de *T. vulgaris* o *T. zygis*.

50 En consecuencia, *T. vulgaris* y *T. serpyllum* se tratan por separado en la literatura general y el efecto se atribuye en gran medida al contenido de aceite esencial. Aquí, además de las mencionadas aplicaciones culinarias, también se mencionan las aplicaciones de perfume cosméticas, y en particular en el tratamiento de las enfermedades respiratorias y tos mencionadas, pero también las aplicaciones más populares, clínicamente no usadas, como aplicaciones externas para afecciones y modificaciones de la piel tales como heridas, abscesos y quemaduras, e internamente como antiséptico en enfermedades inflamatorias del tracto urinario e intestinal, etc. (HagerROM2010).

Además de estas aplicaciones clínicamente no comprobadas de preparaciones de tomillo en términos de malestar gastrointestinal, existe una solicitud de patente europea EP1080727 (A1) - "Use of the extract of *Thymus vulgaris* for the preparation of a medicament for the treatment of Ulcerative Colitis and Crohn's disease" de ANASTASIOS EMMANOUILIDIS, que menciona la aplicación de *Thymus vulgaris* y sus componentes, en particular, los aceites esenciales, en combinación con los medicamentos estándar para estas enfermedades y se basa en estudios de casos clínicos.

La solicitud de patente DE4213167 (A1) - "Arzneimittel gegen Magenschleimhautentzündungen (Gastritis), Magen- und Duodenalulzera sowie Dyspepsie" de SUEKRETTIN GUELDUETUNA describe el uso exitoso del aceite de tomillo. En esto se da a conocer el modo de acción de los componentes de aceite etérico de timol / carvacrol / cimeno y cineol y su actividad contra *Helicobacter pylori*.

Ya en la patente EP0577481 (B1) - "Neue therapeutische Anwendungsform eines Thymianextraktes und in-vitro-Verfahren zur Inhibierung des Wachstums und der Ureaseaktivität von *Helicobacter pylori*" de Itzhak Neeman se encuentra una descripción de actividad antibacteriana de los extractos acuosos de *Thymus vulgaris*, *Thymus citriodorus* y *Coridothymus capitatus*.

El documento de patente UA 64193 A describe preparaciones de varias plantas medicinales incluido el tomillo silvestre para el tratamiento y prevención de úlceras gástricas y duodenales así como de enfermedades catarrales crónicas del tracto gastrointestinal.

Pavel M. y col. - "Phytochemical and pharmacological research on some extracts obtained from *Serpylli herba*", Farmacia 2011 Romanian Society for Pharmaceutical Sciences Rou, tomo 59, N.º 1, 2011, p. 77-84 – describe el efecto antiinflamatorio de un extracto líquido hidroalcohólico 1:2 de otro tipo de tomillo, a saber, de *Thymus Pulegioides L.*

Basant Ballabh y col. - "Medicinal plants of cold desert ladakh used in the treatment of stomach disorders", Indian Journal of Traditional Knowledge, Resources, New Delhi, New Delhi - India, tomo 8, N.º 2, 2009, p. 185-190 – describe el uso de una infusión de toda la planta de *Thymus serpyllum L.* en dolores de estómago y problemas gastrointestinales.

El documento de patente JP 2009276245 describe un procedimiento de cribado tras el que se obtienen extractos de *Thymus serpyllum*; sin embargo, estos se usan para mejorar inflamaciones de la piel, no enfermedades intestinales inflamatorias.

Además, Raal, Ain y col. - "Content and composition of the essential oil of *Thymus serpyllum L.* growing wild in Estonia", Medicina (Kaunas, Lituania) 2004, tomo 40, N.º 8, 2004, p. 795-800 – se ocupa del análisis del contenido y composición del aceite esencial de tomillo silvestre. Sin embargo, no se revela ningún uso.

El objetivo de la presente invención era proporcionar preparaciones eficaces de tomillo e identificar otras posibilidades de uso.

El objetivo se consigue mediante nuevos extractos y nuevos usos de estos extractos.

En el marco de la investigación se encontraron de manera sorprendente nuevas aplicaciones sistemáticas de determinados tipos de tomillo. Así, de acuerdo con la invención, en particular como se describe por el procedimiento descrito aquí, pueden obtenerse preparaciones de tomillo eficaces que se usan para la inflamación, por ejemplo, de afecciones del tracto alimentario y del intestino irritable crónicamente inflamatorias.

Por consiguiente, el objeto de la invención es el uso de extractos de *Thymus serpyllum L.* que contienen adicionalmente un prebiótico seleccionado del grupo de los hidratos de carbono solubles en agua para el tratamiento de enfermedades inflamatorias del área intestinal seleccionadas del síndrome del intestino irritable (IBS, por sus siglas en inglés), enfermedad inflamatoria intestinal (IBD, por sus siglas en inglés), colitis linfocítica, colitis ulcerosa, diverticulitis, duodenitis y enfermedad de Crohn.

El tracto digestivo incluye la cavidad oral, la faringe, el esófago y el tracto gastrointestinal.

En una forma de realización, la enfermedad inflamatoria es un síndrome del intestino irritable (IBS) o una enfermedad inflamatoria intestinal (IBD).

En otra forma de realización, las enfermedades inflamatorias están seleccionadas del grupo colitis linfocítica, colitis ulcerosa, diverticulitis, duodenitis y enfermedad de Crohn.

El objeto de la invención se refiere además a un procedimiento de extracción con el cual se pueden obtener, en particular, extractos eficaces que comprende las etapas de:

- a. Proporcionar un fármaco a partir de las partes aéreas de *Thymus serpyllum L.*
- b. Secado opcional del fármaco
- c. Trituración opcional del fármaco
- d. Despalillado opcional de las hojas y reducción de la parte leñosa a menos del 2 % en peso
- 5 e. Amortiguación opcional del fármaco y reducción del aceite esencial a menos de 0,5 ml/kg respecto al fármaco seco
- f. Extracción del fármaco con medio de extracción
- g. Eliminación al menos parcial del medio de extracción para obtener un extracto viscoso
- h. Desengrasado opcional con disolventes líquidos
- i. Desinfección térmica opcional
- 10 j. Adición de un excipiente de secado, seleccionándose el excipiente de secado del grupo de los hidratos de carbono solubles en agua prebióticos, más preferentemente del grupo de los fructooligosacáridos
- k. Secado para dar un extracto.

A este respecto, se lleva a cabo preferentemente al menos una de las etapas e, h o i.

15 Sorprendentemente, se ha encontrado que los extractos preparados de acuerdo con la invención se pueden usar eficazmente contra las enfermedades inflamatorias, incluso si los componentes del aceite esencial se eliminan en gran parte durante la preparación del extracto. Esto se puede llevar a cabo preferiblemente ya sea por una amortiguación del fármaco antes de la extracción, o por un desengrasado mediante un disolvente orgánico, o en el curso de la desinfección térmica.

20 Los agentes de extracción adecuados están seleccionados especialmente del grupo de agua, alcohol, cetona, éster, éter o gases supercríticos o mezclas de los mismos.

25 Preferentemente, como agente de extracción se usa agua o una mezcla de agua y alcohol. Preferentemente, en el caso de agentes de extracción acuosos, el contenido de alcohol en el intervalo del 0 % en peso al 70 % en peso, más preferentemente del 0 % en peso al 40 % en peso o del 5 % en peso al 40 % en peso. Como alcoholes son particularmente adecuados etanol, pero también metanol, n-propanol o isopropanol. También se prefiere el uso de CO₂ como agente de extracción.

Extracciones a una temperatura de 20 °C hasta 100 °C, preferentemente a 50 °C–90 °C, más preferiblemente de 60 °C a 80 °C son particularmente adecuados, pero dependerá del agente de extracción seleccionado.

El fármaco usado corresponde preferentemente a la monografía “Serpylli herba” de la Farmacopea Europea.

Se prefiere un secado mediante secado por pulverización o secado al vacío.

30 El objeto de la invención también es un extracto de las partes aéreas de *Thymus serpyllum L* así como en particular del extracto que se puede obtener por el procedimiento descrito anteriormente o una preparación de extracto correspondiente.

El objeto de la invención también se refiere a una preparación farmacéutica, un producto medicinal o alimentos que contienen un extracto de *Thymus serpyllum L.*

35 Preferentemente, este extracto o esta preparación de extracto contiene un contenido de aceite esencial de como máximo el 0,5 % en peso con respecto al extracto seco en peso, preferentemente como máximo del 0,1 % en peso, más preferentemente como máximo del 0,01 % en peso. El contenido de aceite esencial en la preparación del extracto se determina de acuerdo con el procedimiento de la Farmacopea Europea (Ph. Eur. 2.8.12) análogamente a la metodología para la determinación de aceite esencial en fármacos vegetales.

40 De acuerdo con la buena tolerabilidad de las preparaciones de tomillo previamente conocidas, la finalidad de la presente invención era proporcionar un nuevo extracto que es adecuado para un uso en toda la gama de enfermedades inflamatorias. Por los efectos antiinflamatorios locales pueden opcionalmente ser útiles en el tratamiento o profilaxis de enfermedades inflamatorias a lo largo de todo el tracto digestivo. La gingivitis, periodontitis, faringitis, esofagitis y gastritis describen las enfermedades inflamatorias de la parte superior del tracto digestivo. La colitis linfocítica, colitis ulcerosa,

diverticulitis, duodenitis y enfermedad de Crohn - además de la IBD y el IBS – son los representantes más conocidos de las enfermedades inflamatorias del área intestinal. Las enfermedades del área intestinal son enfermedades que pertenecen al tubo digestivo.

5 Para las investigaciones analíticas de preparaciones de tomillo también se recurre a otros grupos de materiales debido a la alta volatilidad de los componentes de aceite esencial. El nombre del representante más destacado es el tanino ácido rosmarínico que se presenta de manera ubicua en *Lamiaceae*. Este debería contener preferentemente, para una comparación analítica lo más simple posible de las cualidades de extracto, al menos un contenido de ácido rosmarínico del 0,5 % en peso. Más, por supuesto, es más fácilmente detectable, por lo que una concentración umbral mínima de ácido rosmarínico del 1,5 % en peso – respecto al extracto nativo seco – parece factible.

10 Por lo tanto, se prefieren especialmente extractos que contienen al menos el 0,5 % en peso de ácido rosmarínico, preferentemente al menos el 1 % en peso de ácido rosmarínico e incluso más preferentemente el 1,5 % en peso de ácido rosmarínico.

15 En una forma de realización preferente de la invención, el contenido de timol más carvacrol es del < 0,01 % en peso respecto al extracto nativo seco. Todos los datos se refieren al extracto seco nativo, es decir, al extracto sin la adición de adyuvantes.

El extracto de acuerdo con la invención se proporciona y se usa junto con un prebiótico, seleccionándose el prebiótico del grupo de los hidratos de carbono solubles en agua.

Entre los otros componentes activos en afecciones del tracto alimentario y del intestino irritable crónicamente inflamados se nombran a menudo sustancias prebióticas.

20 Los prebióticos son ingredientes alimentarios no digeribles por el ser humano que promueven el crecimiento y el aumento de la actividad de bacterias que promueven la salud en el sistema digestivo.

Son alimentos funcionales y como tales fueron descritos en 1995 por Marcel Roberfroid. Normalmente, los prebióticos son carbohidratos (tales como oligosacáridos) y se clasifican como fibras dietéticas solubles en agua que, por lo general, pertenecen al grupo de los fructooligosacáridos (por ejemplo, oligofruktosa e inulina).

25 Los prebióticos se distinguen por su longitud de cadena entre cadena corta con 2-8 unidades de azúcar y cadena larga como, por ejemplo, inulina con 9-64 unidades de sacárido. Dependiendo del tamaño molecular, se fermentan más rápido o más lentamente por las diferentes especies bacterianas en diferentes partes del intestino como sustratos.

30 Se acepta generalmente que los prebióticos mejoran la salud intestinal de los seres humanos y animales como un organismo huésped, aumentando el número y actividad de las bifidobacterias y bacterias de ácido láctico. Estos son algunos de los efectos positivos de las bifidobacterias y bacterias de ácido láctico (lactobacilos) en el intestino del huésped, especialmente mejorando la digestión, incluyendo una absorción mejorada de nutrientes y minerales así como la eficacia y el fortalecimiento intrínseco del sistema inmunológico. Los productos estimulantes de las Bifidobacterias se denominan factores bifidogénicos.

35 Las fuentes de alimentos típicas para los prebióticos son plantas que almacenan hidratos de carbono como la soja y muchos tipos de cereales, las raíces de patata y de achicoria son, por ejemplo, fuentes ricas en inulina.

Con respecto a la dosis diaria ideal de prebióticos, hay diferentes recomendaciones. Normalmente, estos van desde 4-8 g para el apoyo de la salud general del sistema digestivo. Se recomiendan hasta 15 g o más para indigestiones fuertes.

40 Debido a sus beneficios para la salud, los oligosacáridos prebióticos están asociados cada vez más a los alimentos. Estos son particularmente fructooligosacáridos (FOS), xilooligosacáridos (XOS), polidextrosa y galactooligosacáridos (GOS). Los mannoooligosacáridos se usan a menudo en los alimentos para mascotas para estos efectos prebióticos.

45 En la patente WO2010023422 (A1) - "Use of prebiotic Galacto-Oligosaccharides in the treatment of intestinal inflammation" de TZORTZIS Y COL., ya se presentaron los datos *in vivo* en el modelo de ratón DSS para los prebióticos. También en la patente WO2006111624 (A1) - "Anti-inflammatory and/or analgesic composition for the intestine comprising branched maltodextrine" de WILS Y COL. se estudian con éxito fructooligosacáridos por su efecto antiinflamatorio en un modelo de ratón. Estos están disponibles hoy en día bajo las denominaciones ACTILIGHT, FIBERSOL, NUTRIOSE o RAFTILOSE en el mercado de materias primas.

50 Muchos de estos prebióticos se producen como carbohidratos vegetales naturales, algunos se modifican técnicamente para adaptar las propiedades a uso dietético. Para esto, por ejemplo, se convierten los almidones de cereales a través de procesos tecnológicos alimentarios, tales como calentamiento, tratamiento ácido o enzimáticamente en homoglucano o dextrina más o menos resistentes a la digestión, que son muy adecuados para su uso como fibras dietéticas prebióticas.

Recientemente, también se ha establecido el proceso producción de ingeniería genética para la inulina.

Los estudios preclínicos y clínicos muestran efectos positivos en la absorción de minerales, especialmente del calcio, hipertensión (presión arterial alta), enfermedad inflamatoria intestinal crónica (enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa), reducción del riesgo de cáncer colorrectal, ayudas digestivas generales y regulación intestinal del pH intestinal así como una fuerte actividad en el sistema inmune y su estimulación.

Estos versátiles efectos sobre la salud se explican debido a la mayor producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC, ácidos grasos de cadena corta) de los oligosacáridos prebióticos por las bacterias intestinales beneficiosas estimuladas.

Puesto que una toma de grandes cantidades de prebióticos en la dieta puede llevar temporalmente a un aumento de gases, hinchazón o defecación, la ingesta de alimentos que contienen prebióticos debería aumentarse correspondientemente de manera lenta para permitir establecer gradualmente una flora bacteriana sana.

Los prebióticos usados se seleccionan de acuerdo con la invención del grupo de los hidratos de carbono solubles en agua. Estos se pueden usar preferentemente como excipiente de secado y por lo tanto compatibles con el secado y la eficacia. Se prefiere particularmente el uso de ACTILIGHT®, FIBERSOL®, NUTRIOSE® o RAFTILOSE®.

En la medicina, la enfermedad inflamatoria crónica del intestino (IBD) se define como un grupo de enfermedades inflamatorias del intestino grueso y del intestino delgado. Las principales formas de IBD son la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa (CU).

Especies más raras, que incluyen también las enfermedades intestinales crónicamente inflamatorias, son la colitis por colágeno, la colitis linfocítica, la colitis isquémica, la colitis por derivación, la enfermedad de Behçet y la colitis no clasificable.

La enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa se diferencian principalmente por su ubicación y la naturaleza de los cambios inflamatorios. La enfermedad de Crohn puede afectar a cualquier parte del tracto gastrointestinal, desde la boca hasta el ano, pero por lo general comienza en el íleon terminal. La colitis ulcerosa, sin embargo, está limitada al colon y el recto.

Histológicamente, la colitis ulcerosa está limitada a la mucosa (epitelio intestinal), mientras que la enfermedad de Crohn afecta a toda la pared del intestino debido a lesiones transmurales.

A menudo, la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa están asociadas con síntomas no intestinales tales como enfermedades hepáticas, artritis, manifestaciones cutáneas y problemas oculares. También puede ser inicialmente difícil un diagnóstico claro de la enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa, de modo que se denomina colitis no clasificable.

Además, estas enfermedades se presentan con los siguientes síntomas muy diferentes: dolor abdominal, vómitos, diarrea, sangrado rectal, calambres internos graves y espasmos musculares en el área pélvica, pérdida de peso y los diversos trastornos o enfermedades asociados mencionados como artritis, pioderma gangrenosa y colangitis esclerosante primaria. El diagnóstico final se realiza por una colonoscopia con biopsia de las áreas intestinales alteradas patológicamente.

El tratamiento óptimo de la enfermedad intestinal crónicamente inflamatoria depende generalmente del tipo de enfermedad IBD presente. Sin embargo, por ejemplo, se administra mesalazina (5-ASA) o el correspondiente profármaco sulfasalazina en la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn. Básicamente, dependiendo de la severidad de los síntomas de IBD se usan fármacos inmunosupresores tales como prednisona, inhibidores de TNF así como los fármacos citotóxicos azatioprina, metotrexato o 6-mercaptopurina. En casos graves puede ser necesaria una operación, tales como una resección parcial del intestino, estricturoplastia o una colostomía o ileostomía temporal o permanente.

Como regla general, el tratamiento se inicia mediante la administración de medicamentos con un efecto antiinflamatorio alto, tales como la prednisona. En cuanto la disminución de la inflamación ha sido exitosa, el paciente se trata con un fármaco más ligero, tales como mesalazina, para lograr la remisión de la enfermedad. Si esto no tiene éxito, se puede administrar una combinación con los inmunosupresores anteriormente mencionados con mesalazina, que también ejerce un efecto antiinflamatorio.

Aunque la IBD, debido al dolor, vómitos, diarrea y otros síntomas socialmente inaceptables, limita severamente la calidad de vida, la enfermedad por sí sola es raramente mortal. Las muertes debidas a complicaciones como megacolon tóxico, perforación intestinal y complicaciones quirúrgicas también son raras. Aunque los pacientes con IBD tienen un mayor riesgo de cáncer colorrectal, debido a la vigilancia de rutina del intestino grueso se detecta y trata un cáncer mucho antes que en la población general por una colonoscopia.

La finalidad del tratamiento después de alcanzar la remisión es usar medicamentos más ligeros con menos efectos

secundarios potenciales. Entre estas fases de remisión que duran meses o años pueden surgir brotes en cualquier momento, es decir, recurrencias agudas de los síntomas originales, que por lo general puede prevalecer varias semanas.

5 Desde hace algún tiempo, hay informes sobre nuevas estrategias terapéuticas que parecen ser prometedoras en muchas formas de enfermedad intestinal crónicamente inflamatoria.

Los informes iniciales sugieren que una “terapia con helmintos” en la que se administran los parásitos intestinales tales como *Trichuris suis*, o anquilostoma *Necator americanus*, son un efecto muy positivo sobre los síntomas de la IBD, especulándose que, además de la estimulación del sistema inmune, un efecto de “inmunización” prolongado es responsable del efecto curativo.

10 Especialmente a través del uso de prebióticos y probióticos se espera llegar a tratamientos efectivos para la IBD y en algunos estudios se ha demostrado ser tan eficaz como los medicamentos recetados.

Se describe también una influencia igualmente positiva de los preparados de cannabis sobre los síntomas de IBD. La planta de cannabis contiene más de 50 llamados cannabinoides específicos de la planta, de los cuales Δ9-tetrahidrocannabinol (THC) y cannabidiol (CBD) parecen ser los más conocidos y más activos. Los cannabinoides tienen un fuerte efecto antiinflamatorio, especialmente por el receptor CB2. Esto también pudo observarse en los estudios preclínicos en roedores. Además, se observó que la inmunidad mediada por células está deteriorada en los consumidores crónicos de cannabis. El estudio del papel funcional del sistema endocannabinoide en la inmunomodulación muestra que está involucrado en casi todas las actividades inmunológicas. Los cannabinoides difieren el equilibrio de las citocinas proinflamatorias y citocinas antiinflamatorias a los linfocitos T colaboradores del perfil tipo 2 (fenotipo Th2) y la inmunidad de supresión mediada por células, mientras que la inmunidad humoral es mayor.

20 El síndrome del intestino irritable (IBS) es una enfermedad de todo el tracto digestivo, que causa dolor y distensión abdominal así como estreñimiento o diarrea, en donde varias sustancias y de factores emocionales pueden desencadenar los síntomas del IBS.

25 Por lo general, un médico diagnostica el IBS debido a los síntomas después de haber excluido otros problemas intestinales, por ejemplo, por pruebas de sangre, pruebas de heces y una sigmoidoscopia para el diagnóstico diferencial con la IBD (enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa), el cáncer y otras inflamaciones intestinales crónicas.

Los síntomas incluyen dolor abdominal asociado con los movimientos intestinales (defecación) y por lo general mejoran a continuación. El cambio en la frecuencia de las deposiciones (por ejemplo, estreñimiento o diarrea) o la consistencia de las deposiciones, la expansión abdominal (extensión), moco en las heces, y la sensación de vaciado incompleto después de la deposición son otros de los problemas.

30 Una alimentación sana y regular se encuentra en primer plano en el síndrome del intestino irritable, y adicionalmente los medicamentos pueden aliviar los síntomas específicos.

El IBS afecta a alrededor del 10 al 20 % de la población general en los países industrializados (por ejemplo, en México hasta el 50 %), siendo las mujeres más propensas a buscar atención médica debido al IBS. Solo en Alemania habrá 7 millones de enfermos. El IBS es, pues, la enfermedad más común que se diagnostica por gastroenterólogos. El IBS, con el estómago irritable (dispepsia funcional), forma parte de los trastornos gastrointestinales funcionales.

La causa del síndrome del intestino irritable no está clara. En muchas personas con IBS, el tracto digestivo es especialmente sensible a muchos estímulos. Aquí, se supone la relación de los trastornos en el neuroplexo abdominal o su comunicación con el SNC. Por otra parte, los factores emocionales (por ejemplo, el estrés, la depresión y la ansiedad) así como la alimentación, los medicamentos, las fluctuaciones hormonales, o solo irritaciones menores desempeñan un papel importante y pueden provocar o empeorar los síntomas del IBS.

Como la mayoría de las personas con IBS parecen físicamente saludables, se ha fracasado en el pasado para el establecimiento de una causa psicosomática del IBS, pero nuevos estudios recientemente en la Universidad Técnica de Munich (TUM) han descubierto “miniinflamaciones” y, por lo tanto, trastornos de comunicación relacionados con la comunicación neuronal en el complejo nervioso del intestino se han discutido como la causa. Estos focos inflamatorios relacionan estrechamente el IBS con la IBD, que opcionalmente también abrió un nuevo tratamiento antiinflamatorio del síndrome del intestino irritable similar a la IBD.

(1. Bercik P, Verdu EF, Collins SM. Is irritable syndrome a low-grade inflammatory bowel disease? *Gastroenterol Clin North Am.* (2005) Vol. 34, Número: 2: 235-45 // 2. Mearin F, Perello A, Balboa A; Irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease: Is there a connection? *Gastroenterología y Hepatología* (2009) Volumen: 32, Número: 5, Páginas: 364-372 // 3. Quigley EMM, Shanahan F; Irritable Bowel Syndrome and Inflammatory Bowel Disease: Is There

an Overlap? Practical Gastroenterology, noviembre de 2010, 31-37).

El tratamiento es específico a la persona y consiste primero en la prevención o eliminación de la causa, por ejemplo, cuando ciertos alimentos o tipos de estrés desencadenan el problema. Si hay un estreñimiento adicional, a menudo ayuda la actividad física regular para restaurar la digestión normal. Básicamente, un IBS puede influenciarse de manera positiva relativamente bien por un cambio de alimentación correspondiente o dieta correspondiente.

En general prevalecen los bloqueos, por lo que a menudo ayuda suministrar más materiales de fibra dietética y fibra u otros agentes digestivos tales como el salvado, el psyllium indio (*Psyllium*, Metamucil), metilcelulosas, sorbitoles, lactulosa, constulosa, polietilenglicoles, glicerina y bisacodilo (DULCOLAX) o lubiproston (AMITIZA). Además, se ha postulado para *Psyllium* una eficacia directa en la IBD y el IBS (Baljit Singh: Review - Psyllium as therapeutic and drug delivery agent; International Journal of Pharmaceutics 334 (2007) 1-14).

Relajantes del músculo liso del intestino, como dicyclomina (BENTYL) o butilscolamina (BUSCOPAN) pueden aliviar los dolores y calambres abdominales. En contraste, si prevalece la diarrea, deberían usarse antidiarreicos, como el análogo de opiáceo Loperamida (IMODIUM) o el UZARA vegetal –un extracto de *Xysmalobium undulatum*. Cuando se asocia la diarrea con náuseas, se puede usar Alosetron (nombre comercial estadounidense: LOTRONEX), un inhibidor selectivo de los receptores 5-HT₃. Recientemente se han atribuido efectos antiserotérgicos comparables al jengibre.

Para el tratamiento de los síntomas del IBS se aplican también antidepresivos, así como técnicas para la modificación del comportamiento (por ejemplo, terapia cognitivo-conductual), psicoterapia e hipnosis y a menudo muestran una buena eficacia. Un uso a largo plazo de los antidepresivos es relativamente seguro y los antidepresivos pueden reducir no solo los dolores y otros síntomas, sino también aliviar el insomnio, la depresión o la ansiedad.

Además de estas terapias con productos farmacéuticos químicos también se usan cada vez más preparaciones fitoterapéuticas. En particular, los aceites aromáticos tales como aceite de menta, que son muy eficaces en los síntomas del IBS, tales como hinchazón y calambres abdominales.

Además, los probióticos y prebióticos se han convertido en un componente importante de tratamiento de IBS, así como en la IBD (Damasco y Kolios: Probiotics and prebiotics in inflammatory bowel disease: microflora on the scope"; 2008 Br J Clin Pharmacol / 65:4 / 453-467). En el área de los prebióticos se incluyen también muchos extractos de plantas que contienen las llamadas "fibras solubles", tales como extractos de cladodios con alto contenido de fibra dietética de *Opuntia ficus indica* L. Estos hidratos de carbono solubles en agua alivian el tracto gastrointestinal, por ejemplo, se emulsionan en los lípidos y por lo tanto se liberan lentamente, pero también en estos hidratos de carbono pueden ser metabolizados a sí mismos solo por algunas especies bacterianas deseadas de la flora intestinal y contribuyen así a un cambio en la frecuencia de porcentaje de especies bacterianas individuales.

La invención se ilustra con más detalle mediante los siguientes ejemplos no limitativos.

Ejemplos

Procedimientos

Determinación de ácido rosmarínico

La determinación cuantitativa del ácido rosmarínico se lleva a cabo por medio de HPLC en un gradiente de fase RP18 (preferentemente LiChrospher 100, RP 18, 5 µm, 250 x 4 mm), con detección a 320 nm. El eluyente binario consta de A (15 % en vol. de acetonitrilo + 0,425 % de ácido fosfórico + 84,575 % de agua) y B (80 % en vol. de acetonitrilo + 0,425 % de ácido fosfórico + 19,575 % de agua) y se ejecuta en el perfil de rampa con 1 ml/min del 100 % de A en 40 minutos en el 30 % de A + 70 % de B. El volumen de inyección es de 10 µl.

Como referencia se pesan 25 mg de ácido rosmarínico y se disuelven en 100 ml de metanol; de los mismos se diluyen 100 ml a 10 ml.

Para la solución de prueba se disuelven 400 mg de extracto de tomillo en un matraz volumétrico de 100 ml con 25 ml de agua y 25 ml de metanol en un baño de ultrasonidos. El matraz aforado se llena después del equilibrio térmico a TA con metanol al 50 % hasta la marca y se mezcla bien. 10 ml de la solución se diluyen a 100 ml con metanol al 50 %.

Determinación de timol carvacrol

La determinación cuantitativa de las sustancias del aceite esencial timol y carvacrol se lleva a cabo por cromatografía de gases. Para este propósito, se usa una columna capilar de sílice fundida (por ejemplo, de la empresa Zberon ZB-FFAP, código 7JM-G009-17) con una longitud de 50 metros y un diámetro interior de 0,32 mm. El gas portador que se usa es hidrógeno 5.0 con un flujo de 2,5 ml/min. Un detector FID (250 °C) es adecuado para la detección. Las condiciones de

operación GC son: 140 °C (1 min isotérmico), calefacción de 140 °C hasta 190 °C con 5 °C/min, a continuación 190 °C (5 min isotérmico), un calentamiento adicional de 190 °C hasta 220 °C con 20 °C/min, a continuación 220 °C (9 min isotérmico).

5 Como sustancias de referencia se añadieron timol puro (Merck 108167) o carvacrol (Fluka 22051) – cada 50,0 mg - junto con una sustancia patrón interna (50,0 mg de 4-isopropilfenol) a un matraz aforado de 50 ml y se llenó con n-hexano hasta la marca.

Una solución separada de 250,0 mg de 4-isopropil como sustancia patrón interna se disolvió con n-hexano y se llenó en un matraz aforado de 250 ml.

10 Extractos de tomillo se pesan con aproximadamente 1 g y se disuelven en 40 ml de metanol con el 30 % v/v. Después de ser transferido a un embudo de separación de 250 ml se añadieron 5 ml de la solución patrón interna. Toda la solución se extrajo tres veces con respectivamente 40 ml de éter dietílico. Las fases de éter de dietilo combinadas se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron hasta un filtrado claro y se sometieron a tratamiento con vapor ligero en evaporador rotatorio a 40 °C. El residuo se recoge en 5,0 ml de etanol al 96 %. De esta cantidad, se inyecta 1 µl (temperatura del inyector 230 °C).

15 El cromatograma GC contiene carvacrol como pico dominante para el extracto de serpol (Rt aprox. 12,7 min), mientras que el timol presenta aproximadamente una superficie de pico alrededor de un tercio más pequeña (Rt aprox. 12,1 min). El patrón interno 4-isopropilfenol con Rt aproximadamente de 12,9 min se encuentra en este grupo de pico.

Ejemplo 1: extracto de tomillo acuoso (técnica anterior)

20 14,3 kg del fármaco secado y despalillado de Herba Thymi Ph. Eur. (*Thymus vulgaris*) se extraen con vapor en un percolador Holstein-Kappert durante 1,5 h con vapor de agua a alta presión de 134 °C, atenuada hasta que el tubo de escape ya no huele a los componentes esenciales (< 0,5 ml/kg de fármaco). Posteriormente, se extrae con 286 litros de agua por ósmosis a 60 °C al percolador. El eluato se descarga a través del fármaco y se libera a través de una bolsa de malla con tamaño de poro de 250 µm de residuos de fármacos. A través de un evaporador de placa, el eluato se concentra a un extracto de espesor con alrededor del 53 % de porcentaje de sustancia seca. Del *Spissum* obtenido se mezcla el 70 % de equivalente de extracto seco con el 30 % de maltodextrina, se somete a autoclave durante 15 minutos a 121 °C y se seca en un horno de vacío a 50 °C. El extracto obtenido se caracteriza por una DEV nativa de 4:1, un contenido de aceite esencial del < 0,1 %, de los cuales el < 0,01 % es timol/carvacrol y un contenido de ácido rosmarínico del 2,5 %.

Ejemplo 2: Extracto de serpol acuoso

30 17,8 kg del fármaco seco y despalillado de Herba Serpylli Ph. Eur. (*Thymus serpyllum*) se someten a extracción por vapor en un percolador Holstein-Kappert durante 1,5 h con vapor de agua a sobrepresión a 134 °C hasta que se establece que en los gases de escape ya no huele a los componentes esenciales. Posteriormente, se extrae con 356 litros de agua por ósmosis a 60 °C al percolador. El eluato se descarga a través del fármaco y se libera a través de una bolsa de malla con tamaño de poro de 250 µm de residuos de fármacos. A través de un evaporador de placa el eluato se concentra a un extracto de espesor con alrededor del 50 % de porcentaje de sustancia seca.

Ejemplo 3: Extracto de serpol acuoso 1

El *Spissum* obtenido según el ejemplo 2 se seca en el horno de vacío a 50 °C. El extracto obtenido se caracteriza por una DEV nativa de 6:1, un contenido de aceite esencial del < 0,1 %, de los cuales el < 0,01 % es timol/carvacrol y un contenido de ácido rosmarínico del 2,6 %.

Ejemplo 4: Extracto de serpol acuoso 2

A partir del *Spissum* obtenido en el ejemplo 2 se mezclan el 70 % de equivalente de extracto seco con el 30 % de NUTRIOSE FB 06, se somete a autoclave durante 15 minutos a 121 °C y se seca en un horno de vacío a 50 °C. El extracto obtenido se caracteriza por una DEV nativa de 6:1, un contenido de aceite esencial del < 0,1 %, de los cuales el < 0,01 % es timol/carvacrol y un contenido de ácido rosmarínico del 1,8 %.

Ejemplo 5: Extracto de serpol etanólico al 20 %

45 500 g de fármaco seco y despalillado de Herba Serpylli Ph. Eur. (*Thymus serpyllum*) se lavan dos veces con 5 litros de etanol al 20% V/V a 50 °C y se extraen al percolador. El eluato se descarga a través del fármaco y se libera a través de un filtro plegado (32-WE) de residuos de fármacos. En el evaporador rotativo bajo vacío agudo de <50 mbar, el eluato se extrae a un extracto de espesor con alrededor del 50 % de porcentaje de sustancia seca. El *Spissum* así obtenido se mezcla con el 30 % de NUTRIOSE FB 06, se somete a autoclave durante 15 minutos a 121 °C y se seca en un horno de

secado al vacío a 50 °C. El extracto resultante se caracteriza por una DEV nativa de 6:1, un contenido de aceite esencial del < 0,1 %.

Ejemplo 6: Extracto de serpol etanólico al 40 %

500 g del fármaco seco y despalillado de Herba Serpylli Ph. Eur. (*Thymus serpyllum*) se extrae dos veces con respectivamente 5 litros de etanol al 40 % V/V a 50 °C al percolador. El eluato se descarga a través del fármaco y se libera de residuos de fármacos a través de un filtro plegado (32-WE). En el evaporador rotativo bajo fuerte vacío de <50 mbar, el eluato se concentra a un extracto de espesor con alrededor del 50 % de porcentaje de sustancia seca. El *Spissum* así obtenido se mezcla con el 30 % de NUTRIOSE FB 06, se somete a tratamiento en autoclave durante 15 minutos a 121 °C y se seca en un homo de vacío a 50 °C. El extracto obtenido se caracteriza por una DEV nativa de 6:1, un contenido de aceite esencial del < 0,1 %.

Ejemplo 7: Extracto de serpol etanólico al 70%

500 g del fármaco seco y despalillado de Herba Serpylli Ph. Eur. (*Thymus serpyllum*) se extraen dos veces con respectivamente 5 litros de etanol al 70% V/V a 50 °C en el percolador. El eluato se descarga a través del fármaco y se libera de residuos de fármacos a través de un filtro plegado (32-WE). En el evaporador rotativo bajo fuerte vacío de <50 mbar, el eluato se concentra a un extracto de espesor con alrededor del 50 % de porcentaje de sustancia seca. El *Spissum* así obtenido se mezcla con el 30 % de NUTRIOSE FB 06, se somete a tratamiento en autoclave durante 15 minutos a 121 °C y se seca en un homo de vacío a 50 °C. El extracto obtenido se caracteriza por una DEV nativa de 6:1, un contenido de aceite esencial del < 0,1 %.

Ejemplo 8: Extracto de serpol-CO₂

500 g de fármaco despalillado de Herba Serpylli Ph. Eur. (*Thymus serpyllum*) se humedecen con el vapor de agua a alta presión y se libera en gran parte libre del aceite esencial. El fármaco se seca y se tritura para formar polvo y se transfiere a un sistema de gas comprimido y allí se extrae con el 95 % de dióxido de carbono supercrítico y el 5 % de etanol (como modificador) a 200 bar y 60 °C durante 60 minutos. Después de la reducción de presión en el recipiente que porta el producto, resultó un extracto de DEV nativa promedio de 18:1 y un contenido de flavonoides de alrededor del 2,3 %. El contenido de aceite esencial ascendió solo al 0,45 % con respecto al extracto nativo seco. El extracto así obtenido se procesó con el 30 % de FIBERSOL hasta dar un extracto homogéneo y se molió en Starmix.

Ejemplo 9: Modelo de ensayo *in vitro*

Liberación inducida del lipopolisacárido (LPS) del factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) en monocitos humanos periféricos.

Los monocitos primarios humanos se obtienen en un procedimiento normalizado a partir de la capa leucocitaria de donantes de sangre humanos sanos. Las células se siembran para las pruebas de ELISA en placas de 24 pozos.

Los monocitos se estimulan en la placa de cultivo celular de 24 pozos con 10 ng/ml de LPS a 37 °C y el 5 % de CO₂ durante 24 h. Se añaden los extractos 30 min antes de la administración de LPS para comprobar si se pueden prevenir los efectos de inducción de LPS. Después de 24 h, se recogen los sobrenadantes de las células, se centrifugan y se investigan las concentraciones de TNF α por ELISA de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Biotrend, Alemania; Immunotools, Alemania).

Tabla 1:

	Liberación de TNF α a 50 μ g/ml
<i>Thymus vulgaris</i> acuoso (Ejemplo 1)	85 %
<i>Thymus serpylli</i> acuoso (Ejemplo 4)	58 %
<i>Thymus serpylli</i> con el 20 % de EtOH (Ejemplo 5)	90 %
<i>Thymus serpylli</i> con el 40 % de EtOH (Ejemplo 6)	62 %
<i>Thymus serpylli</i> con el 70 % de ETOH (Ejemplo 7)	53 %

Muestra tanto que el extracto acuoso de *Thymus serpyllum* es claramente superior a un extracto acuoso de *Thymus*

vulgaris como que además del extracto puramente acuoso, los extractos etanólicos más altos del 40 % al 70 % muestran una buena inhibición comparable.

El TNF-alfa está asociado con las enfermedades reivindicadas, como lo ilustra la bibliografía (Reinecker y col.: Enhanced secretion of tumour necrosis factor-alpha, IL-6, and IL-1fi by isolated lamina propria mononuclear cells from patients with ulcerative colitis and Crohn's disease; Clin Exp Immunol 1993; 94:174-181).

Ejemplo 10: Modelo de prueba DSS en vivo

Este estudio se realizó de conformidad con la línea de dirección relativa a la protección de los animales usados para fines científicos y experimentales de la Unión Europea (86/609/CEE).

El sistema de prueba usando DSS (= sulfato sódico de dextrano) en ratones para inducir colitis es ampliamente usado y reconocido científicamente.

En la presente serie de pruebas, los ratones hembra de 7-9 semanas de edad (cepa C57/BL6J) se usan con un peso promedio de 20 g, que se mantienen en cuartos de animales con aire acondicionado con ciclo de luz-oscuridad de 12 horas en jaulas Makrolon, alimentados con comida para roedores estándar y agua *ad libitum* durante todo el experimento. Los ratones se asignan aleatoriamente a siete grupos (n = 8). Con exclusión del grupo de control sano, a todos los animales de día d(-4) hasta d(0) se les dio una concentración del 3 % de DSS en el agua potable para inducir la colitis. A continuación, se convierte de nuevo a agua potable normal y puede comenzar el enfoque curativo de la serie de ensayo. Dos grupos (grupo de control sano y grupo de control de enfermedad) recibieron el medio de dosificación únicamente de manera oral, los grupos de comparación contienen ya sea 100 mg/kg de peso corporal o 250 mg/kg de peso corporal de una preparación de extracto de tomillo del Ejemplo 1, o 100 mg/kg de peso corporal o 250 mg/kg de peso corporal de una preparación de extracto de serpol de acuerdo con el Ejemplo 4, o 50 mg/kg de peso corporal de la sustancia de referencia química sulfasalazina (SAZ). Las sustancias se administran respectivamente como una solución/suspensión por una sonda de alimentación por un período de 7 días. En d(7), los animales se sacrificaron con una sobredosis de halotano y se toman muestras del intestino para la evaluación del daño intestinal. Un parámetro sustituto que está estrechamente vinculado con las enfermedades gastrointestinales inflamatorias es IL 17 (1. Takanori Kanai y col.: Homeostatic (IL-7) and effector (IL-17) cytokines as distinct but complementary target for an optimal therapeutic strategy in inflammatory bowel disease, Current Opinion in Gastroenterology 2009, 25:306-313 // 2. Atsuhiko Ogawa y col.: Neutralization of interleukin-17 aggravates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice, Clinical Immunology 110(2004) 55-62), que se determina por RT-PCR y se relaciona con la expresión β -actina como patrón interno. Asimismo, se determinó la molécula de adhesión intercelular ICAM-1 mediante RT-PCT (1. RC Burns y col.; Antibody blockade of ICAM-1 and VCAM-1 ameliorates inflammation in the SAMP-1/Yit adoptive transfer model of Crohn's disease in mice; Gastroenterology, volumen 121, número 6, páginas 1428 a 1436, diciembre de 2001 // 2 E. Rijcken y col.; ICAM-1 and VCAM-1 antisense oligonucleotides attenuate in vivo leucocyte adherence and inflammation in rat inflammatory bowel disease; Gut 2002; 51:529-535).

Tabla 2.^α

^α	Grupo de control sano ^α	Grupo de control con colitis ^α	<i>Thymi-serpylli</i> -100- mg/kg de peso corporal ^α	<i>Thymi-serpylli</i> -250- mg/kg de peso corporal ^α	<i>Thymi-vulgans</i> -100- mg/kg de peso corporal ^α	<i>Thymi-vulgans</i> -250- mg/kg de peso corporal ^α	Sulfasalazina 50 mg/kg de peso corporal ^α
IL-17 ^α	0,34 ± 0,04 ^α	0,69 ± 0,04 ^α	0,56 [*] ± 0,04 ^α	0,50 [*] ± 0,03 ^α	0,61 ± 0,02 ^α	0,75 ± 0,03 ^α	0,59 [*] ± 0,04 ^α
ICAM-1 ^α	0,27 ± 0,05 ^α	0,54 ± 0,04 ^α	0,41 [*] ± 0,05 ^α	0,41 [*] ± 0,03 ^α	0,57 ± 0,04 ^α	0,60 ± 0,05 ^α	0,37 [*] ± 0,04 ^α
P < 0,05 vs. CONTROL ^α							

Aquí se puede ver que tanto la citocina IL-17 asociada con IBD como la integrina ICAM-1 disminuye significativamente por el extracto de serpol de acuerdo con la invención, sin embargo, un extracto de *Thymus vulgaris* no confirma este efecto.

Ejemplo 11: Modelo de prueba TNBS in vivo

5 Este estudio se realizó de conformidad con la Directiva relativa a la protección de los animales usados para fines científicos y experimentales de la Unión Europea (86/609/CEE).

Ratas Wistar hembra (200-210 g) se mantienen en jaulas Makrolon, alojamiento de animales con aire acondicionado y un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas, alimentadas con comida para roedores estándar y agua *ad libitum* durante todo el experimento. Las ratas se asignan aleatoriamente a 6 grupos (n = 10). Dos grupos (grupo de control sano y grupo de control de enfermedad) recibieron 1 ml del medio de dosificación oralmente, los grupos experimentales recibieron o bien 100 mg/kg de peso corporal de una preparación de extracto de serpol de acuerdo con el Ejemplo 4, o 70 mg/kg de peso corporal de una preparación de extracto de serpol de acuerdo con el Ejemplo 3, o 30 mg/kg de peso corporal del prebiótico NUTRIOSE o en el grupo de referencia, 100 mg/kg de peso corporal de sulfasalazina (SAZ). Todas las sustancias de ensayo se administran como solución, suspensión respectiva por una sonda de alimentación durante un período de 7 días una vez al día. La administración de las sustancias de prueba se inicia el mismo día de la inducción de la colitis. Para este propósito, las ratas se ponen en ayuno durante la noche y al grupo de control de enfermedad así como a los grupos de tratamiento se les provoca entonces colitis con TNBS como sigue: durante una anestesia con halotano, se inyecta una solución (10 mg de TNBS disuelto en 0,25 ml de etanol al 50 % V/V) a través de una cánula de teflón a 8 cm de profundidad a través del ano en el colon. Las ratas del grupo de control sano reciben 0,25 ml de una solución de PBS en lugar de la solución de TNBS. El peso corporal, el consumo de agua y alimentos, así como la consistencia de las heces se registran diariamente durante el período experimental. Todas las ratas se sacrifican por una sobredosis de halotano una semana después del inicio de la inducción de la colitis y se toman muestras del intestino para la evaluación del daño intestinal. La porción del intestino se limpia de grasa y mesenterio y se transfiere a un papel de filtro. Cada muestra se pesa y su longitud se mide bajo carga constante (2 g) medir, y se determina la relación de peso a longitud. El intestino se evalúa - independientemente del tratamiento usado - macroscópicamente para observar los daños visibles en una escala de 0 a 10 por dos observadores con base en criterios predeterminados, que tienen en cuenta el alcance y la gravedad del daño. Una sección transversal del tejido adyacente cerca del área enferma distal se fija inmediatamente con formaldehído al 4 % y se incrusta en parafina para investigaciones histológicas. Posteriormente, este preparado se divide en diferentes segmentos para determinaciones bioquímicas. Una parte se congela a -80 °C para determinar la mieloperoxidasa (MPO), otra parte se sumergió en ácido tricloroacético al 5 % para la determinación de glutatión (GSH), y otra parte se procesa inmediatamente para la medición del nivel de citosina de IL-6 y de la expresión iNOS. Finalmente, se usa el segmento restante para la extracción de ARN y posterior análisis de la expresión de diferentes marcadores por medio de qPCR.

Tabla 3:

	Puntuación macroscópica	Puntuación microscópica	MPO [mU/g]	GSH [nmol/g]	IL-6 [ng/g]
Control saludable	0 ± 0	0 ± 0	155,0 ± 74,8	1872,8 ± 149,3	180,5 ± 13,1
Control con colitis	7,8 ± 0,2	28,1 ± 2,5	8969,6 ± 1402,0	877,4 ± 107,6	281,8 ± 26,8
Extracto de <i>Thymi serpylli</i> según el Ejemplo 3 (70 mg/kg)	7,3 ± 0,3	12,1 * ± 2,2	4629,3* ± 705,5	1066,1 ± 152,2	253,2 ± 10,7
Nutriosa (30 mg/kg)	7,6 ± 0,4	23,6 ± 3,6	8468,4 ± 1461,5	977,6 ± 116,4	246,5 ± 19,9
Extracto de <i>Thymi serpylli</i> según el Ejemplo 4 (100 mg/kg) de extracto + Nutriosa	6,6 * ± 0,4	9,6* ± 3,9	4099,7 * ± 995,9	1490,8* ± 176,2	207,5 *± 18,1
Sulfasalazina (100 mg/kg)	6,9* ± 0,4	13,5* ± 3,2	5591,5 ± 537,0	1297,4 * ± 184,3	222,0 ± 16,1

*= p < 0,05 vs. control de colitis

35

De esta tabla se puede observar que Nutriose no podría tener un efecto significativo en ninguno de los parámetros. Por el contrario, el extracto nativo podría reforzarse por la adición de Nutriose no solo potencialmente (evaluación microscópica, actividad MPO), sino también en sí misma en los parámetros de evaluación macroscópica, así como el contenido de GSH y la secreción de IL-6 solo a través de la combinación con Nutriose de manera significativamente

eficaz. Incluso el preparado de referencia químico sulfasalazina no pudo mostrar mejoras significativas en todos los parámetros.

La mieloperoxidasa se asocia específicamente con enfermedades crónicamente inflamatorias (Tomohisa Saiki: Myeloperoxidase concentration in the stool as a new parameter of IBD; Kurume Medical Journal, 45:69-73,1998). El glutati6n también se evalúa en la bibliografía en relación con IBD (Sido y col.: Impairment of intestinal glutathione synthesis in patients with inflammatory bowel disease, Gut 1998 42:485-492). Además, la interleucina 6 ya está relacionada en la bibliografía en conjunción con la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa (Reinecker y col.: Enhanced secretion of tumour necrosis factor-alpha, IL-6, and IL-1fi by isolated lamina propria mononuclear cells from patients with ulcerative colitis and Crohn's disease; Clin Exp Immunol 1993; 94: 174-181).

10 **Ejemplo 12 - Medición para influir en el síndrome del intestino irritable = *Irritable Bowel Syndrome (IBS)* en el modelo animal**

Este estudio se realizó de conformidad con la Directiva relativa a la protección de los animales usados para fines científicos y experimentales de la Unión Europea (86/609/EWG). Ratas macho Sprague Dawley (240-320 g; Proveedor Janvier, St Berthevin Cedex) se colocan en jaulas Makrolon con 3-4 animales/jaula, en ambiente con aire acondicionado con ciclo 12 horas de luz-oscuridad, alimentados con alimento estándar para roedores y agua *ad libitum* durante todo el experimento. Las ratas se asignan aleatoriamente a cuatro grupos (n = 10). Todas las sustancias de ensayo se administran como solución, suspensión respectiva por una sonda de alimentación una vez al día.

Dos grupos (de salud y de control de enfermedad) reciben oralmente 1 ml del medio de administración; los grupos experimentales obtienen 100 mg/kg de peso corporal de una preparación de extracto de serpol acuerdo con el Ejemplo 4 o 70 mg/kg de peso corporal de gabapentina como control positivo. La gabapentina ya ha sido descrita en la bibliografía para este propósito en ratones (Stepanovic-Petrovic RM, y col. The antinociceptive effects of anticonvulsants in a mouse visceral pain model. Anesth Analg. 2008; 106:1897-903), así como en ratas (O'Mahony SM, Coelho AM, Fitzgerald P, Lee K, Winchester, Dinan TG, Cryan JF. The effects of gabapentin in two animal models of co-morbid anxiety and visceral hypersensitivity. Eur J Pharmacol.2011; 667:169-74).

Las ratas fueron anestesiadas con isoflurano y se insertó una cánula a través del ano a 6 cm de profundidad en el intestino grueso. Posteriormente, se infundió 1 ml de 4 mM de ácido desoxicólico (DCA) disuelto en solución de Krebs a pH 7,4 mientras se retira lentamente la cánula. Los animales se dejaron en una "posición cabeza abajo" para evitar fugas de DCA. A las ratas se les administró DCA una vez al día durante 3 días consecutivos. La primera inyección se contó como día 1. Los ratones en el grupo de control recibieron 1 ml de solución salina al 0,9 % en lugar de DCA.

La determinación de la distensión colorrectal (CRD) se llevó a cabo según el procedimiento de La y col. (La JH, Sung TS, Kim HJ, Kim TW, TM Kang, Yang IS. Peripheral corticotropin releasing hormone mediates post-inflammatory visceral hypersensitivity in rats. World J Gastroenterol. 2008; 14:731-6). La administración de las sustancias de ensayo se inició 24 horas después de la última administración de DCA y se llevó a cabo durante 1 semana. A continuación, se investigaron los distintos grupos para la hipersensibilidad visceral frente a la distensión colorrectal. Para este propósito, las ratas se dejaron sin alimentos durante la noche (con acceso libre al agua) para facilitar la colocación del balón. En el día del experimento, las ratas se anestesiaron brevemente con isoflurano y se insertó un globo de 5-6 cm que cuelga de un tubo por el ano en el recto y el colon descendente, el extremo distal 1 cm proximalmente al esfínter externo. El catéter se adhiere después a la base de la cola con el fin de prevenir un desplazamiento. Después de este procedimiento, las ratas se colocan en una cabina transparente (20 cm x 8 cm x 8 cm) y se les permite recuperarse. Después de que los animales están totalmente despiertos y aclimatados, se produjo el CRD al inflar el globo con aire. Cada experimento consistió en cinco golpes definidos (60 mmHg) de más de 20 segundos de duración, intervalo de interestímulos de 3 minutos. En general, los cuatro experimentos se llevaron a cabo a fin de lograr una reacción estable (menos del 20 % de variabilidad entre los dos últimos experimentos).

En este experimento, el reflejo de retirada abdominal (CRD) se evaluó como sigue:

- 0 = sin respuesta conductual a la hinchazón,
- 1 = movimientos cortos de la cabeza por la inmovilidad,
- 2 = contracción de los músculos abdominales sin levantar el abdomen,
- 3 = levantamiento del abdomen,
- 4 = arqueado del cuerpo y levantamiento de la estructura pélvica.

Sobre la base de esta puntuación, los siguientes resultados reciben tratamiento después de 1 semana:

Grupo de animales (n=10)	Grupo sano (sin IBS) (A)	Grupo enfermo (control con IBS) (B)	Extracto según Ej. 4 (<i>T. serpylli</i>) (C)	Control positivo (gabapentina) (D)
Promedio (desviación estándar)	0,25 (+ 0,125)	2,875 (+ 0,25)	0,375 (+ 0,06)	0,06 (+ 0,03)

La evaluación mostró que las ratas tratadas con DCA (B = grupo de control enfermo) proporcionaron una diferencia estadísticamente significativa respecto a los animales no tratados (A = grupo de control sano). Así, el modelo era adecuado en principio. El control positivo gabapentina (D) pudo confirmar la bibliografía y fue importante en su efecto ($p < 0,05$) en comparación con el control IBS (B). La sustancia de ensayo (C), el extracto de acuerdo con la invención según el Ej. 4, también pudo confirmar su idoneidad para el tratamiento del IBS. El extracto de *Thymi serpylli* fue significativamente menor en comparación con el grupo de control de IBS (B) ($p < 0,05$) y al mismo nivel que los animales del grupo sano (A).

10 Ejemplo 13: preparación de extracto instantáneo

Para extender en la medida de lo posible en el contexto de una terapia de mantenimiento el tiempo hasta la próxima recaída, se requiere una forma de aplicación que dé como resultado un alto cumplimiento terapéutico. Esto se garantiza, por ejemplo, con ayuda de una preparación para beber instantánea de preparación rápida. Para este propósito, se mezclan el 50 % de equivalente de extracto seco de un *Spissum* de acuerdo con el Ejemplo 3 con el 43 % de Nutriose FB 06, el 5 % de sacarosa y el 2 % de aroma, y se seca en una torre de pulverización para dar lugar a un polvo instantáneo usando dióxido de carbono supercrítico. Esta preparación se puede llenar en sobres y es fácilmente soluble en agua fría. La aromatización se puede adaptar fácilmente a las necesidades del mercado.

20 Ejemplo 14: Preparación del extracto como “alimento para astronauta”

Desafortunadamente, los pacientes de enfermedad de colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn a menudo están en mal estado de salud, y solo pueden recibir algo de comida clásica. Para esta clientela, se proporciona una preparación de extracto, conocido coloquialmente como alimento de astronauta, detrás de la cual por lo general se esconde una dieta nutracéuticamente equilibrada alta en calorías en forma de una preparación de bebida de 200 ml o un tubo de gel. Para la producción de un tal gel, se disuelve una preparación del extracto de acuerdo con el Ejemplo 4 con los otros ingredientes (vitaminas, minerales, proteínas y aminoácidos libres), se homogeneizan y se llenan respectivamente hasta 25 80 ml en tubos desechables.

Un tubo (1 porción) contiene entonces:

30 1000 mg de extracto de serpol, 6 g de proteína, 30 g de carbohidratos, de los cuales 15 g son azúcar (sacarosa), 9 g de grasa, de los cuales 1 g son grasas saturadas, 44 g de agua, minerales (96 mg de sodio, 91 mg de cloro, 236 mg de potasio, 174 mg de calcio, 174 mg de fósforo (tasa Ca/P 1,0), 33 mg de magnesio), oligoelementos (3,8 mg de hierro, 2,9 mg de zinc, 430 µg de cobre, 32 µg de yodo, 16 µg de cromo, 200 µm de flúor, 800 µg de manganeso, 24 µg de molibdeno, 14 µg de selenio), vitaminas (240 µg de vitamina A, 400 µg de vitamina B1, 400 µg de vitamina B2, 4,3 mg de niacina, 400 µg de vitamina B6, 64 µg de ácido fólico, 1300 µg de ácido pantoténico, 700 µg de vitamina B12, 9,6 µg de biotina, 24 mg de vitamina C, 1,8 µg de vitamina D, 13 µg de vitamina K), 88 mg de colina.

REIVINDICACIONES

1. Extracto de *Thymus serpyllum* L. que contiene adicionalmente un prebiótico para el uso en enfermedades inflamatorias del área intestinal, seleccionadas a partir de síndrome del intestino irritable (IBS), enfermedad inflamatoria intestinal (IBD), colitis linfocítica, colitis ulcerosa, diverticulitis, duodenitis y enfermedad de Crohn, seleccionándose el prebiótico del grupo de los hidratos de carbono solubles en agua.
2. Extracto para el uso de conformidad con la reivindicación 1, ascendiendo el contenido de ácido rosmarínico a al menos el 0,5 % en peso, con respecto al extracto nativo seco.
3. Extracto para el uso de conformidad con las reivindicaciones 1 o 2, ascendiendo el contenido de timol más carvacrol a <0,01 % en peso, con respecto al extracto nativo seco.
4. Extracto para el uso de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, seleccionándose el prebiótico del grupo de los fructooligosacáridos.
5. Procedimiento para la preparación de un extracto con las siguientes etapas:
 - a. proporcionar un fármaco de partes aéreas de *Thymus serpyllum* L.
 - b. secado opcional del fármaco
 - c. trituración opcional del fármaco
 - d. despalillado Opcional de las hojas y reducción de la proporción del tallo a menos del 2 % en peso
 - e. evaporación opcional del fármaco y reducción del aceite esencial a menos del 0,5 ml/kg con respecto al fármaco seco
 - f. extracción del fármaco con agente de extracción
 - g. eliminación al menos parcial del agente de extracción con obtención de un extracto viscoso
 - h. desengrasado opcional con disolventes líquidos
 - i. desinfección térmica opcional
 - j. adición de un excipiente de secado, seleccionándose el excipiente de secado del grupo de hidratos de carbono solubles en agua prebióticos, particularmente de manera preferente del grupo de los fructooligosacáridos
 - k. secado con obtención de un extracto,
 llevándose a cabo preferentemente al menos una de las etapas e, h o i.
6. Procedimiento de conformidad con la reivindicación 5, **caracterizado porque** el agente de extracción está seleccionado del grupo de agua, alcohol, cetona, éster, éter o gases supercríticos o mezclas de los mismos.
7. Procedimiento de conformidad con las reivindicaciones 5 o 6, **caracterizado porque** la extracción se realiza a una temperatura de 20 °C hasta 100 °C, preferentemente a 50 °C – 90 °C, más preferentemente de 60 °C a 80 °C.
8. Procedimiento de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, **caracterizado porque** el fármaco usado corresponde a la monografía “Serpilli herba” de la Farmacopea Europea.
9. Procedimiento de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, **caracterizado porque** el secado es un secado por pulverización o un secado al vacío.
10. Extracto o preparación de extracto obtenible por el procedimiento de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 9.
11. Extracto o preparación de extracto de conformidad con la reivindicación 10, **caracterizado porque** el extracto presenta un contenido de ácido rosmarínico de al menos el 0,5 % en peso, con respecto al extracto seco, preferentemente al menos el 1,5 % en peso.
12. Extracto o preparación de extracto de acuerdo con una de las reivindicaciones 10 a 11, **caracterizado porque** el extracto presenta un contenido de aceite esencial de no más del 0,5 % en peso, con respecto al extracto seco, preferentemente como máximo del 0,1 % en peso, más preferentemente como máximo del 0,01 % en peso.
13. Preparación de extracto de conformidad con la reivindicación 10, **caracterizada porque** el excipiente de secado está seleccionado del grupo de ACTILIGHT®, FIBERSOL®, NUTRIOSE® o RAFTILOSE®.
14. Preparación farmacéutica, producto médico o alimento que contiene un extracto o una preparación de extracto de conformidad con una las reivindicaciones 10 a 13.