

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 655 876**

51 Int. Cl.:

A61K 36/48 (2006.01)

A01N 65/20 (2009.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.04.2008** **PCT/DK2008/050086**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.10.2008** **WO08125120**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.04.2008** **E 08715639 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.11.2017** **EP 2155222**

54 Título: **Extracto de Trigonella foenum-graecum**

30 Prioridad:

13.04.2007 US 911653 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.02.2018

73 Titular/es:

V-BIOTEK HOLDING APS (100.0%)

VIMMELSKAFTET 43

1161 COPENHAGEN K, DK

72 Inventor/es:

OLSEN, JENS STEEN

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 655 876 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

Extracto de *Trigonella foenum-graecum*

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a un proceso para obtener un extracto de *Trigonella foenum-graecum* y composiciones que comprenden este extracto. Además, la invención se refiere a los usos del extracto y a los métodos que hacen uso del extracto. Notablemente, la invención se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden dicho extracto y el uso de las mismas en el tratamiento de afecciones inflamatorias e infecciosas. Otro aspecto de la presente invención se refiere al uso del extracto de *Trigonella foenum-graecum* para productos de limpieza o desinfectantes, o en la preparación de estos.

15 Antecedentes de la invención

Fenogreco (*Trigonella foenum-graecum*)

El fenogreco (*Trigonella foenum-graecum*) que se conoce comúnmente como pie de pájaro, semilla de heno griego, trigonela, alholva, Methi, y hu lu ba, es una hierba conocida en la técnica de la medicina integrativa.

El fenogreco se usa tanto como hierba (las hojas) y como las semillas. El fenogreco y los productos del mismo tradicionalmente se usan como demulcentes, laxantes y estimulantes de la lactación. El fenogreco es un constituyente común en la medicina ayurvédica. El fenogreco y los productos del mismo se han propuesto para el tratamiento de afecciones tan diversas como alopecia, artritis, cáncer, diabetes, desórdenes gastrointestinales, colesterol alto, inducción de parto, infecciones, inflamación, estimulación de la lactación, linfadenitis, dolor muscular, promoción de la micción, úlceras de la piel, cicatrización de heridas. Los extractos de fenogreco muestran actividad antimicrobiana y nematocida in vitro (*referencia*: Zia y otros(2001) *Phytotherapy Research* 15:538). El mecanismo de acción no está bien caracterizado. La mayoría de los usos tradicionales del fenogreco probablemente se atribuyan a su alto contenido en fibra.

La FDA lista el fenogreco como que "se considera generalmente seguro", aunque se han reportado efectos colaterales como sangrado, equimosis, flatulencia, diarrea, alteraciones gastrointestinales e hipoglicemia.

De acuerdo con referencias que se citaron en el sitio del Centro del Cáncer Memorial Sloan-Kettering en cuanto al uso de hierbas en la medicina integrativa, se identificaron las siguientes sustancias en el fenogreco: Alcaloides: La Trigonelina (produce ácido nicotínico cuando se tuesta), gentianina, carpaína, colina; Proteínas y aminoácidos: 4-Hydroxiisoleucina, histidina, lisina, arginina; Flavonoides: Apigenina, luteolina, orientina, vitexina, quercetina; Saponinas: Grecuninas, fenugrina B, fenugrequina, trigofenósidos A-G; Saponógenos esteroideos: Yamogenina, diosgenina, esmilagenina, sarsasapogenina, tigogenina, neotigogenina, gitogenina, neogitogenina, yuccagenina; Fibra: Goma, fibra detergente neutral; Otros: Cumarín, lípidos, vitaminas, minerales.

Uno de los constituyentes del fenogreco, la saponina, es un detergente suave que se usa en aplicaciones delicadas tales como en la limpieza de manuscritos y textiles antiguos. En investigaciones, las propiedades de permeabilidad de la membrana se usan en aplicaciones de tinción histoquímica intracelular para permitir el acceso de los anticuerpos a las proteínas intracelulares a través de la membrana.

Priyanjali Dixit y otros: "Antioxidant properties of germinated fenugreek seeds", *Phytotherapy*, vol. 19, núm. 11, 1 de Noviembre de 2005 (2205-11-01), páginas 977-983, describe un estudio de las propiedades antioxidantes de las semillas germinadas de fenogreco. Se preparó una muestra mediante el uso de semillas de fenogreco remojadas en agua durante 24 horas para la germinación de las semillas. Las semillas se mantuvieron a 4 °C durante 2 días, se secaron a la sombra y se pulverizaron. Para la preparación de un extracto, se añadió 1 g del polvo a 10 ml de agua destilada y se hirvió en un baño de agua durante 30 min.

El documento núm. US 2005/0153001 describe un método para reducir el colesterol sanguíneo al menos un 30 % en un paciente no diabético. El método implica la administración oral de una composición del extracto de la semilla de fenogreco, que puede prepararse mediante el remojo de 1/3 de taza de semillas de fenogreco en aproximadamente 15 tazas de agua durante 8-10 horas, llevar la mezcla a ebullición durante aproximadamente 5-7 minutos, enfriar, colar y refrigerar el extracto.

60 Resumen de la invención

Un aspecto de la presente invención se refiere a un proceso para obtener un extracto mediante un proceso que comprende las etapas de preparación de una mezcla de semillas que se obtienen de *Trigonella foenum-graecum* y agua, incubar dicha mezcla durante al menos 3 horas a una temperatura entre 10 y 45°C, hervir dicha mezcla durante 10 a 45 minutos para liberar el embrión de la semilla, y recuperar un extracto líquido a partir de la mezcla.

El extracto puede incluirse en varios tipos de composiciones, tales como composiciones farmacéuticas, agentes desinfectantes o preservantes.

- 5 Otro aspecto de la presente invención se refiere al uso de dicho extracto en la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una enfermedad inflamatoria o una afección infecciosa.

Descripción detallada de la invención

- 10 La presente invención se refiere a un proceso para obtener un extracto a partir del fenogreco y composiciones que comprenden dicho extracto para el tratamiento de infecciones ia. Las infecciones incluyen infección bacteriana, otras infecciones microbianas e infección viral. Preferentemente, las infecciones son infecciones cutáneas, de las membranas mucosas, infecciones del tracto gastrointestinal, e infecciones de la garganta y de la cavidad bucal. Los sujetos para el tratamiento con dicho extracto y las composiciones del mismo son seres humanos y mamíferos, preferentemente seres humanos y animales domésticos. La presente invención también se refiere al tratamiento de afecciones inflamatorias, las cuales pueden producirse por una infección o estar asociadas a una infección.

Método de preparación de un extracto de Trigonella foenum-graecum

- 20 Un aspecto de la descripción se refiere a la preparación de un extracto de material vegetal de al menos una planta del género Trigonella. De acuerdo con la invención, dicho material vegetal se obtiene a partir de semillas de Trigonella foenum-graecum. El material vegetal puede ser fresco, congelado, seco o sus combinaciones. De acuerdo con la invención, el material vegetal comprende semillas de Trigonella foenum-graecum, con la máxima preferencia semillas secas de dicha planta.

- 25 Para facilitar la extracción de los ingredientes activos del material vegetal, dicho material vegetal se remoja en un líquido, el cual, de acuerdo con la invención, comprende agua. La mezcla del líquido y el material vegetal se incuba durante al menos 3 horas, con mayor preferencia al menos 6 horas, preferentemente al menos 12 horas, tal como al menos 24 horas. De acuerdo con la invención, la incubación se lleva a cabo a temperaturas entre 10 y 45°C, adecuadamente a temperaturas entre 10 y 40°C.

Subsecuentemente, la mezcla que comprende el material vegetal remojado en un líquido se calienta a una temperatura por encima de la coagulación de proteínas. De acuerdo con la invención la mezcla se hierve.

- 35 La mezcla, de acuerdo con la invención, comprende material vegetal y un líquido. La relación en peso de dicho material vegetal y dicho líquido en dicha mezcla es 1 a 1, o preferentemente menos material vegetal por peso, tal como 1 a 2, o menos material vegetal por peso, tal como 1 a 3, o menos material vegetal por peso, tal como 1 a 4, o menos material vegetal por peso, tal como 1 a 5, o menos material vegetal por peso, tal como 1 a 6, o menos material vegetal por peso, tal como 1 a 7, o menos material vegetal por peso, tal como 1 a 8, o menos material vegetal por peso, tal como 1 a 9, o menos material vegetal por peso, tal como 1 a 10. En una modalidad preferida, la relación en peso de dicho material vegetal y dicho líquido es 1 a 6.

- 45 Durante el calentamiento de la mezcla, se puede añadir líquido adicional al menos una vez para compensar el líquido que se ha evaporado y el que se ha incorporado en el material vegetal. El líquido se hierve durante 10 a 45 minutos, con mayor preferencia durante 20 a 30 minutos, tal como 20 minutos. El calentamiento puede terminarse cuando se libera el embrión de las semillas, lo cual se asocia con un aumento de la viscosidad de la mezcla.

- 50 En una modalidad, la mezcla se congela (preferentemente a -18 °C) antes o después de la etapa de calentamiento durante al menos 3 horas, preferentemente más de 6 horas, tal como 12 horas, o más de 12 horas. Subsecuentemente, la mezcla se puede someter a una segunda ronda de calentamiento antes de recuperar el extracto, por ejemplo, al retirar el material vegetal remanente. La etapa de congelación se anticipa además para incrementar la liberación de los ingredientes activos del material vegetal.

El volumen del extracto final concentrado que se origina a partir de ½ kg de semillas es aproximadamente 2 litros.

- 55 Para la conservación a largo plazo, el extracto debe refrigerarse. En dependencia de la aplicación, el extracto puede disolverse en agua o usarse como tal. El extracto puede concentrarse más mediante la eliminación del solvente. El solvente puede eliminarse mediante cualquier medio apropiado, tal como filtración a través de membrana, evaporación, precipitación, extracción, destilación azeotrópica, liofilización, secado por aspersión y sus combinaciones.

- 60 Sin atarse a la teoría, se cree que el método que se describe en la presente descripción resulta en la liberación eficiente de uno o más ingredientes activos a partir del material vegetal. Como se describe en la sección de antecedentes, las plantas y los materiales vegetales, tales como el material vegetal a partir de Trigonella foenum-graecum, comprenden ingredientes activos que muestran diversos efectos.

- 65 El extracto de la invención puede estar purificado para aislar el o los ingredientes activos por cualquier método

apropiado. Por tanto, el extracto puede fraccionarse mediante el uso de filtración a través de gel, HPLC, extracción, precipitación, etc. En un método actualmente útil, el extracto se fracciona mediante el uso de HPLC. En un método específico, el o los ingredientes activos se incluyen en una fracción del extracto que se puede obtener del extracto base mediante la realización de cromatografía de fase reversa en un Lichroprep RP-18 tamaño B (40-63µm) (Merck), mediante el uso del siguiente gradiente: 0-1 min H₂O/AcN 98:2, después usar un gradiente estable de 1-40 min hasta llegar a 100 % y recoger la fracción en el intervalo de tiempo entre 5 y 10 min.

El extracto que se obtiene mediante el método de acuerdo con la invención es particularmente útil para las indicaciones que se describen en la presente descripción, las cuales se cree que reflejan el perfil del uno o más ingredientes activos que se liberan del material vegetal al extracto, en términos de calidad y cantidad.

Con objeto de comparar, se preparó un extracto sin la etapa de incubación. El análisis por HPLC del extracto de acuerdo con la invención, y el extracto que se preparó para la comparación, muestra una diferencia considerable en la composición. El análisis se reporta en el ejemplo 13.

Condiciones dentro del alcance del tratamiento

Infecciones

El término "infección" se refiere a la colonización, en detrimento de un organismo huésped, por una especie infecciosa ajena. La respuesta del huésped a la infección es la inflamación. Las especies infecciosas incluyen bacterias, parásitos, hongos y virus.

Un aspecto de acuerdo con la invención se refiere al uso de una composición que comprende el extracto de fenogreco como se describe en la presente descripción, para el tratamiento de afecciones infecciosas.

Infección bacteriana

Por "infección bacteriana" en este contexto se entiende la invasión por bacterias al tejido normalmente estéril del huésped. La infección bacteriana de la invención puede deberse a la invasión de bacterias Gram negativas o Gram positivas, o a una combinación de estas o de otros agentes infecciosos que incluyen hongos y virus.

Una modalidad preferida de acuerdo con la invención se refiere al uso de una composición que comprende el extracto de fenogreco como se describe en la presente descripción, para el tratamiento de infecciones bacterianas. En otra modalidad de acuerdo con la invención, la infección es una combinación de infección bacteriana e infección por otras especies tales como hongos y virus.

Impétigo

El término "impétigo" se refiere a varias enfermedades infecciosas diferentes de la piel. El impétigo contagioso es una infección superficial, intraepidérmica, unilocular, vesiculopustular. El impétigo contagioso es la infección de la piel más común en los niños. El impétigo bulloso es una eritrodermia mediada por una toxina, en la cual la capa epidérmica de la piel se pierde, lo cual resulta en grandes áreas de pérdida de piel. El impétigo común es el término que se aplica cuando la infección ocurre en heridas preexistentes. El impétigo también puede estar presente como foliculitis, el cual se considera que es el impétigo de los folículos pilosos causado por *Staphylococcus aureus*. Ectima es una infección ulcerada del impétigo, más profunda, la cual ocurre a menudo con linfadenitis. Son dos los tipos fundamentales de bacterias que causan impétigo: los organismos estreptocócicos y los estafilocócicos. Ambos se encuentran comúnmente en el ambiente y en la superficie de la piel de la mayoría de las personas.

Una modalidad de acuerdo con la presente invención, se refiere al uso de una composición que comprende el extracto de fenogreco como se describe en la presente descripción, para el tratamiento del impétigo.

En una modalidad de acuerdo con la invención, las afecciones se deben a infecciones por *Estreptococos* y *Estafilococos*, tales como el *Estafilococo* áureo.

Enfermedades periodontales

La periodontitis (periodontosis, paradentosis, piorrea) es una alteración que resulta de la progresión de la gingivitis, e involucra la inflamación e infección de los ligamentos y huesos que soportan los dientes.

Si se deja sin tratar durante años, puede resultar en la pérdida del hueso que soporta los dientes, y finalmente en la pérdida de los dientes. Las afecciones pueden involucrar uno o más dientes.

La gingivitis se asocia a una incomodidad leve, o ninguna molestia, aparte del enrojecimiento, hinchazón y fácil sangrado de las encías. La gingivitis a menudo es producto de una higiene bucal inadecuada, que deja bacterias en la placa dental, lo que produce inflamación de las encías. La gingivitis es reversible con tratamiento profesional y con un

- buen cuidado oral en la casa. Si la gingivitis se deja sin tratar, la placa se puede dispersar y crecer más abajo del revestimiento de la encía, y la afección puede avanzar hacia periodontitis. La toxina que liberan las bacterias en la placa inicia una respuesta inflamatoria en las encías, la cual puede devenir crónica y destruir el soporte óseo de los dientes. Las encías se separan de los dientes, y se forman bolsas (espacios entre los dientes y las encías) que se infectan. Con el progreso de la enfermedad, las bolsas se hacen más profundas y se destruye más tejido de encía y del hueso. A menudo este proceso destructivo tiene síntomas muy leves. Con el tiempo, los dientes se aflojan y posiblemente hasta haya que extraerlos.
- La periodontitis crónica se reconoce como la forma más frecuente de periodontitis. La periodontitis crónica resulta en inflamación dentro de los tejidos de soporte de los dientes, pérdida progresiva de la fijación y pérdida ósea progresiva, y se caracteriza por la formación de bolsas y/o por la retracción de las encías. Es prevalente en adultos y es una causa principal de pérdida de dientes en adultos, pero la enfermedad puede ocurrir a cualquier edad. La progresión de la pérdida de la fijación usualmente ocurre lentamente, pero pueden ocurrir períodos de progresión rápida.
- La periodontitis agresiva es una afección que afecta pacientes que, aparte de eso, están clínicamente sanos. Entre las características comunes están la pérdida rápida de la fijación y la destrucción ósea y la agregación familiar. La periodontitis, que a menudo debuta a edades tempranas, se asocia a una o a varias enfermedades sistémicas tales como la diabetes o la osteoporosis (Periodontitis como una manifestación de enfermedades sistémicas). Las enfermedades periodontales necrotizantes son otra forma de infección que se caracteriza por necrosis de los tejidos gingivales, de los ligamentos periodontales y del alvéolo óseo. Esta afección se asocia más a menudo con afecciones sistémicas, que incluyen, pero no se limitan a la infección por HIV, malnutrición e inmunosupresión.
- Además de la placa bacteriana, otros factores que afectan la salud de las encías incluyen: Hábito de fumar, genética, embarazo, pubertad, stress, medicamentos, rechinamiento de los dientes, mala nutrición, diabetes y otras enfermedades sistémicas.
- La gingivitis usualmente desaparece con un buen cuidado personal. Por el contrario, la periodontitis requiere un cuidado profesional repetitivo. Una persona que practique una buena higiene oral puede limpiar solamente 2 o 3 milímetros (1/12 pulgada) más abajo de la línea de la encía. Un dentista puede limpiar las bolsas hasta 4 a 6 milímetros de profundidad (1/5 pulgada) mediante la descamación y el alisado radicular, lo cual elimina completamente el sarro dental y la superficie enferma de la raíz. Las bolsas de 5 milímetros (1/4 pulgada) o más, a menudo requieren cirugía. Un dentista o periodontólogo puede acceder quirúrgicamente al diente más abajo de la línea de la encía (cirugía de colgajo periodontal) para limpiar minuciosamente el diente y corregir los defectos óseos producto de la infección. Un dentista o periodontólogo también puede eliminar parte de la encía infectada y separada (gingivectomía), de manera que el resto de la encía se vuelva a fijar apretadamente al diente y la persona pueda eliminar la placa en su casa. Un dentista puede prescribir antibióticos (tales como tetraciclinas o metronidazol), especialmente si se ha desarrollado un absceso. Un dentista también puede insertar materiales impregnados de antibióticos (filamentos o geles) en lo profundo de las bolsas gingivales, de manera que se alcancen altas concentraciones del fármaco en el área enferma. Los abscesos periodontales producen un estallido de destrucción ósea, pero el tratamiento inmediato con cirugía y antibióticos pueden permitir que el hueso dañado crezca bastante de nuevo. Si la boca duele después de la cirugía, el cepillado y la limpieza con seda dental se pueden sustituir temporalmente por un enjuague bucal de clorhexidina durante 1 minuto, dos veces al día.
- Si un paciente tiene bolsas de 5 milímetros (1/4 pulgada) o más profundas alrededor de la mayoría de sus dientes, entonces hay riesgo de pérdida de todos los dientes al cabo de los años. Si esto no se identifica y el paciente permanece sin conocimiento de la enfermedad periodontal progresiva, entonces, años más tarde, ellos se sorprenderán de que la mayoría de los dientes de pronto se aflojan y que la mayoría o todos ellos necesitan extracción.
- El tratamiento farmacológico sistémico de la gingivitis, periodontitis (agresiva y crónica), periodontitis como manifestación de enfermedades sistémicas, y de las enfermedades periodontales necrotizantes mediante el uso de tetraciclinas, se asocia con varias desventajas tales como la emergencia rápida de cepas bacterianas resistentes a la tetraciclina y la incidencia de crecimiento excesivo de patógenos no susceptibles, tales como la Cándida, durante el tratamiento. El tratamiento de la infección periodontal a corto plazo con tetraciclinas a menudo no es efectivo. Las penicilinas, que en general son composiciones antimicrobianas altamente efectivas contra las bacterias anaeróbicas, se ha demostrado que no son efectivas contra especies bacterianas importantes en la infección periodontal (por ejemplo, *P. gingivalis*).
- Las limitaciones y desventajas descritas anteriormente para las terapias quirúrgicas y no quirúrgicas de uso actual, revelan la necesidad no satisfecha de tratamiento efectivo para estas afecciones dentales.
- Una modalidad de acuerdo con la invención se refiere a el uso de una composición que comprende el extracto de fenogreco como se describe en la presente descripción, para el tratamiento de las infecciones en la cavidad bucal.
- Una modalidad altamente preferida de acuerdo con la presente invención se refiere al uso de una composición que comprende el extracto de fenogreco, como se describe en la presente descripción, para el tratamiento de la enfermedad

periodontal tal como la gingivitis, periodontitis (agresiva y crónica), periodontitis como manifestación de enfermedades sistémicas y enfermedades periodontales necrotizantes.

5 La halitosis (o mal aliento) es una afección temporal muy común tal como el "aliento matutino". La halitosis crónica, que es una afección más seria y persistente, usualmente es producto de la persistencia de una población excesiva de ciertos tipos de bacterias orales. La halitosis crónica a menudo se asocia a las enfermedades periodontales que se describen en la presente descripción.

10 En una modalidad de acuerdo con la invención, se usa una composición que comprende extracto de fenogreco, como se describe en la presente descripción, para el tratamiento de la halitosis. En una modalidad preferida, dicha halitosis es crónica.

Faringitis

15 La faringitis, también conocida como dolor de garganta, es el dolor en la faringe posterior, con o sin deglución. La mayoría de las causas son infecciosas, sea viral o bacteriana (tales como la faringitis estreptocócica).

20 En una modalidad de acuerdo con la invención, se usa una composición que comprende extracto de fenogreco, como se describe en la presente descripción, para el tratamiento de la faringitis. En otra modalidad de acuerdo con la invención, dicha faringitis es una faringitis estreptocócica.

Infección viral

25 La infección viral se refiere a una infección causada por un virus. A diferencia de las bacterias, la replicación viral depende de una célula huésped que emplea los sistemas del huésped tales como el factor de transcripción y la maquinaria de traducción. Las enfermedades humanas más comunes causadas por virus incluyen el resfriado común, la gripe, los herpes labiales y las verrugas.

30 En una modalidad de acuerdo con la presente invención, se usa una composición que comprende extracto de fenogreco, como se describe en la presente descripción, para el tratamiento de infecciones virales tales como el resfriado común, la gripe, los herpes labiales y las verrugas.

Herpes labiales

35 Los herpes labiales (herpes oral, Herpes labialis) ocurren a debido a la infección por el virus 1 del Herpes simple (HSV-1), lo cual se manifiesta como una ampolla acuosa, dolorosa en la piel o en las membranas mucosas localizadas en la boca o en los labios.

40 Los tratamientos disponibles para el herpes labial incluyen el uso de medicamentos antivirales tales como el Aciclovir y el Valaciclovir, los cuales reducen la duración de los síntomas y aceleran la cicatrización. No hay cura para las afecciones.

45 En una modalidad preferida de acuerdo con la presente invención, se usa una composición que comprende el extracto de fenogreco, como se describe en la presente descripción, en el tratamiento del herpes labial.

Resfriado común

50 El resfriado común (nasofaringitis aguda viral) es una enfermedad leve por infección viral del sistema respiratorio superior. El resfriado común es la más común de todas las enfermedades humanas y la afección típicamente dura unos pocos días, con síntomas residuales de tos que duran unas pocas semanas más. La transmisión viral entre individuos es eficiente, y los niños, miembros de la familia y los cuidadores están en alto riesgo. La incidencia del resfriado común es alta, varias infecciones por adulto por año, e incluso más por niño. Los virus que se asocian al resfriado común incluyen rinovirus, coronavirus y también algunos ecovirus, paramixovirus y coxsackie virus. El resfriado común por sí mismo no es una amenaza para la vida, sin embargo, debilita el sistema inmune y pueden surgir complicaciones tales como la neumonía. Hasta la fecha no existe cura comprobada para el resfriado común.

55 En una modalidad de acuerdo con la presente invención, se usa una composición que comprende el extracto de fenogreco, como se describe en la presente descripción, para el tratamiento del resfriado común.

Verrugas

60 Las verrugas son lesiones epidérmicas benignas comunes, asociadas a la infección por papilomavirus (HPV). Las verrugas se refieren a una serie de afecciones, que difieren en cuanto al tipo de papilomavirus que la causa, la morfología, la aparición en el cuerpo, tal como en los dedos, el pie, la cara, los labios, cerca de los párpados, o en las áreas genitales. Los ejemplos de verrugas incluyen la verruga común (verruca vulgaris) causada por HPV 1, 2, 4, 27, y 29, la verruga plana (verruca plana) causada por HPV 3, 10, 28, y 49, la verruga filiforme o digitada, la verruga palmar y

plantar (verruca, verruca pedis) causada por HPV 1, la verruga mosaico, y la verruga genital (verruca venérea, condyloma acuminatum, verruca acuminata).

5 Aparte de que las verrugas pueden ser dolorosas, también pueden ser un problema cosmético y no existe un tratamiento efectivo para las verrugas, las cuales frecuentemente reaparecen a los pocos meses o años después que se ha terminado el tratamiento disponible.

10 En una modalidad preferida de acuerdo con la invención, el extracto o la composición que comprende dicho extracto se usa para el tratamiento de verrugas tales como verrugas localizadas en los dedos, el pie, la cara, tal como en los labios o cerca de los párpados, o en las áreas genitales.

Infección en los ojos y en el área alrededor de los ojos

15 Una modalidad de acuerdo con la invención se refiere al uso del extracto o de una composición que comprende dicho extracto para los tratamientos de las infecciones en los ojos y/o en los anexos de los ojos, como los párpados. La afección puede involucrar inflamación, infección bacteriana, infección viral o sus combinaciones.

Inflamación

20 La inflamación es una reacción de defensa causada por el daño al tejido debido a lesión mecánica, bacteriana, viral o de otro organismo infeccioso. La respuesta inflamatoria involucra tres etapas principales: primera, dilatación de los capilares para aumentar el flujo sanguíneo; segunda, cambios estructurales microvasculares y escape de las proteínas del plasma desde el torrente circulatorio; y tercera, transmigración de leucocitos a través del endotelio y acumulación en el sitio de la lesión y la infección. La respuesta inflamatoria comienza con la liberación de los mediadores de la
25 inflamación. Los mediadores de la inflamación son moléculas solubles, difusibles, que actúan localmente en el sitio del daño tisular y la infección, y en sitios más distantes que influyen en los eventos consecuentes de la respuesta inflamatoria. Los mediadores de la inflamación pueden ser exógenos, por ejemplo, productos bacterianos o toxinas, o endógenos, los cuales se producen dentro del mismo sistema inmune, así como también células de los tejidos lesionados, linfocitos, mastocitos y proteínas de la sangre. Las afecciones inflamatorias se asocian con una variedad de
30 tejidos. Ejemplos de afecciones inflamatorias son el asma, la dermatitis, tal como la dermatitis por pañales, el acné, afecciones inflamatorias en el tracto gastrointestinal como la enfermedad de Crohn, la enfermedad inflamatoria del intestino (tal como la colitis ulcerativa).

35 En una modalidad de acuerdo con la presente invención, se usa una composición que comprende extracto de fenogreco, como se describe en la presente descripción, para el tratamiento de una afección que comprende inflamación tal como asma, dermatitis tal como dermatitis por pañales, acné, afecciones inflamatorias en el tracto gastrointestinal tal como la enfermedad de Crohn, enfermedad inflamatoria del intestino (tal como la colitis ulcerativa).

40 En una modalidad preferida de acuerdo con la invención, el extracto o una composición que comprende dicho extracto, se usa para el tratamiento del acné (acne vulgaris), que es una afección inflamatoria común de la piel, a menudo asociada a infección bacteriana.

En otra modalidad preferida de acuerdo con la invención, el extracto o una composición que comprende dicho extracto, se usa para el tratamiento del acné (acne vulgaris) que comprende infección bacteriana.

45 En otra modalidad preferida de acuerdo con la invención, el extracto o una composición que comprende dicho extracto, se usa para el tratamiento de la dermatitis tal como la dermatitis por pañales (pañalitis).

Heridas

50 El término "herida" se refiere a una lesión de la piel o mucosa (tal como la mucosa oral, la mucosa gástrica y la mucosa intestinal). La herida puede resultar de una infección, lastimadura o cirugía. La herida, de acuerdo con la invención, también incluye las heridas crónicas y las úlceras.

55 Una modalidad preferida de acuerdo con la invención se refiere al uso de una composición que comprende el extracto de material vegetal, tal como el extracto de fenogreco, como se describe en la presente descripción, para el tratamiento o la prevención de la infección en una herida tal como la herida quirúrgica, la herida por incisión, la herida por penetración, la herida por pinchazo, la herida por abrasión, una herida crónica o una úlcera.

60 También puede haber heridas como resultado de mordeduras. Las mordeduras de humanos y de mamíferos (principalmente de perros y gatos, pero también de ardilla, gerbil, conejo, conejillo de Indias y mono) son comunes y ocasionalmente causan morbilidad e incapacidad significativas. Las manos, las extremidades y la cara son las partes más frecuentemente afectadas, aunque las mordidas humanas ocasionalmente pueden involucrar los pechos y los genitales. Además del trauma tisular, la preocupación mayor es la infección a partir de la flora bucal del organismo que muerde.

65 En una modalidad de acuerdo con la invención, se usa una composición que comprende el extracto de fenogreco, como

se describe en la presente descripción, para el tratamiento de mordidas causadas por humanos o por un mamífero, preferiblemente por un perro.

Composiciones que comprenden el extracto de *Trigonella foenum-graecum*

5

En una modalidad de acuerdo con la presente invención, se usa el extracto de *Trigonella foenum-graecum* para la preparación de una composición farmacéutica.

10

Los concentrados del extracto de la invención, o fracciones del extracto, también están dentro del alcance de la invención. En particular, los concentrados en los cuales esencialmente todo el solvente se ha eliminado y el extracto está presente como un polvo seco, se pueden usar para la preparación de un medicamento. Como algunas fracciones del extracto han mostrado efectos mayores que otras, se prefiere, en cierto aspecto de la invención, usar las fracciones que contienen los componentes activos para producir la composición farmacéutica.

15

La composición farmacéutica que comprende el extracto de *Trigonella foenum-graecum* puede formularse de varias maneras diferentes, en dependencia del propósito del medicamento en particular y del tipo de administración. Dentro del alcance de un experto en la técnica está la formulación de composiciones que están de acuerdo con el tipo preferido de administración.

20

El medicamento que comprende el extracto de acuerdo con la invención puede prepararse mediante cualquier técnica convencional, por ejemplo, como se describe en Remington: The Science and Practice of Pharmacy 1995, editado por E. W. Martin, Mack Publishing Company, edición 19, Easton, Pa.

25

El medicamento puede comprender aditivos farmacéuticamente aceptables tales como cualquier aditivo farmacéuticamente aceptable que se use convencionalmente, el cual debe seleccionarse de acuerdo a la formulación específica, la vía de administración que se pretende, etc. Por ejemplo, los aditivos farmacéuticamente aceptables pueden ser cualquiera de los aditivos que se mencionan en Nema y otros, 1997. Además, el aditivo farmacéuticamente aceptable puede ser cualquier aditivo aceptado por la "lista de ingredientes inactivos" de la FDA, la cual, por ejemplo, está disponible en el siguiente sitio de internet <http://www.fda.gov/cder/drug/iig/default.htm>.

30

Formas de administración tópica

35

Una modalidad preferida de la presente invención es para proporcionar una composición farmacéutica formulada para aplicación tópica en un área local, superficial y restringida, tal como una herida, un herpes labial una verruga, acné, o pañalitis.

40

En dicha modalidad mencionada anteriormente, el medicamento debe formularse como un ungüento, una loción, una crema, un preparado para el baño, un gel, una pasta, una leche, una suspensión, un aerosol, una aspersión, una película, una espuma, un suero, un hisopo, una compresa, una almohadilla, un parche, un polvo, un linimento, una emulsión viscosa, un potaje, o cualquier otra formulación que sea apropiada para administración tópica.

45

Tales composiciones para administración tópica además pueden incluir componentes fisiológicamente aceptables, tales como transportadores, surfactantes, preservativos, agentes estabilizantes, tampones, excipientes y emulsificadores adecuados para este tipo de administración. Los componentes adecuados para sistemas de suministro tópico se seleccionan preferentemente a partir de componentes que no le causen irritación excesiva o inevitable, o dolor al sujeto receptor. Los transportadores incluyen diluyentes y proporcionan el medio en el cual los constituyentes farmacéuticos se disuelven, se dispersan o se distribuyen.

50

El medicamento de acuerdo con la invención puede comprender, pero no está restringido, a un transportador tal como una base líquida acuosa, una base líquida no acuosa, un gel soluble en agua, una base de aceite mineral, una emulsión, un ungüento, una crema, un gel o loción, una suspensión de partículas sólidas en un líquido.

55

La disponibilidad tópica de los fármacos depende de dos factores contrastantes: su habilidad para disolverse en el transportador (gel, crema, - hidrófilo) y su habilidad para permear la barrera de la piel (es decir, el estrato córneo, - hidrófobo), por tanto requiere un balance hidrófobo hidrófilo exclusivo. Las formulaciones requieren la adición de excipientes, tales como realzadores de la permeabilidad y solubilizadores, para facilitar uno o ambos procesos de transporte (la disolución en el vehículo y la difusión a través de la piel). Se han descrito aditivos tales como alcoholes, alcoholes grasos, ácidos grasos, mono- di- o triglicéridos, monoésteres de glicerol, ciclodextrina y derivados, polímeros, bioadhesivos, terpenos, agentes quelantes y surfactantes, para aumentar el suministro transdérmico de los fármacos.

60

Dentro de la presente invención está hacer uso de tales excipientes.

65

Cualquier método, no limitado a los mencionados anteriormente, para aumentar el suministro transdérmico, está dentro del alcance de la presente invención. El medicamento de acuerdo con la presente invención puede por tanto comprender surfactantes tales como iónicos y/o no iónicos. Los surfactantes no iónicos adecuados incluyen, por ejemplo: etoxilatos de alcohol graso (alquilpolietilen glicol); alquilfenol polietilen glicoles; alquil mercaptano polietilen glicoles; etoxilatos de aminas grasas (alquilaminopolietilen glicoles); etoxilatos de ácidos grasos (acilpolietilen glicoles);

- etoxilatos de polipropilén glicol (Pluronic); alquilolamidas de ácidos grasos (polietilén glicoles de amidas de ácidos grasos); alquil poliglicósidos, N-alquil-, N-alcoxipoli-hidroxi amida de ácido graso, en particular N-metil-glucamida de ácido graso, ésteres de sacarosa; ésteres de sorbitol, éteres de poliglicol y lecitina. Los surfactantes iónicos incluyen, por ejemplo, lauril sulfato de sodio, laurato de sodio, polioxietilén-20-cetiléter, Laureth-9, dodecilsulfato de sodio (SDS) y dioctil sulfosuccinato de sodio.
- Los alcoholes incluyen, pero no están limitados a, etanol, 2-propanol y polioles tales como polietilén glicol (PEG), propilenglicol, glicerol, propanodiol.
- Los métodos para realzar el suministro de fármaco a través de la administración tópica pueden aplicarse con la presente invención, e incluyen cualquier medio para aumentar la absorción, minimizar el metabolismo, y/o prolongar la vida media del ingrediente activo del medicamento, tal como el extracto de *Trigonella foenum-graecum*. Tales medios incluyen el uso de transportadores del tipo liposomas, ISCOM, nano-partículas, microesferas, hidrogeles, organogeles, polímeros u otras técnicas de micro-encapsulación.
- El medicamento para el suministro tópico de acuerdo con la presente invención puede comprender de 5 a 100 % en peso del extracto de *Trigonella foenum-graecum*, preferiblemente de 50 a 100 % en peso por peso de dicho extracto.
- Formas de administración oral
- Otra modalidad preferida de la presente invención es proporcionar un medicamento formulado para administración oral, tal como un enjuague bucal.
- En una modalidad preferida, el medicamento se formula como un enjuague bucal mediante la dilatación del extracto de acuerdo con la invención en un líquido.
- El líquido puede ser cualquier líquido útil, sin embargo, frecuentemente se prefiere que el líquido sea un líquido acuoso. Además, se prefiere que el líquido sea estéril. La esterilidad se puede alcanzar por cualquier método convencional, por ejemplo, por filtración, irradiación o calentamiento.
- Dentro del alcance de la presente invención está proporcionar un medicamento, y los usos del mismo, que comprende un extracto de material vegetal, preferiblemente extracto de *Trigonella foenum-graecum* para el tratamiento de las afecciones clínicas descritas anteriormente, que involucran infección o un aumento del riesgo de adquirir una infección. Por ejemplo, pero sin que se limiten, están las afecciones clínicas que involucran infección o el riesgo de infectarse por una especie microbiana. En una modalidad, el extracto de *Trigonella foenum-graecum* se coadministra con al menos un segundo ingrediente activo. Preferentemente, el extracto de *Trigonella foenum-graecum* y dicho al menos segundo ingrediente activo, están presentes en el mismo medicamento, o ellos se pueden suministrar en partes de un estuche. Preferentemente, dicho segundo ingrediente activo es una sustancia antimicrobiana, por ejemplo, un agente antiséptico, antibiótico, antifúngico, antiparasitario o antiviral.
- En una modalidad de acuerdo con la presente invención, el extracto de *Trigonella foenum-graecum* es un constituyente en una pasta dental.
- Administración del medicamento que comprende el extracto de *Trigonella foenum-graecum*
- El medicamento para administración oral que comprende el extracto de *Trigonella foenum-graecum* puede diluirse en un líquido tal como agua. Dicho medicamento puede comprender 5 a 100 % en vol/vol del extracto y líquido.
- De acuerdo con la presente invención, "una dosis farmacéutica efectiva" de la composición (tal como el extracto de acuerdo con la invención) se refiere a la cantidad necesaria para inducir el efecto biológico que se desea en el sujeto necesitado de tratamiento.
- El medicamento de acuerdo con la presente invención se puede administrar una o más veces al día, por ejemplo, ellos pueden administrarse en el intervalo de 2 a 10 veces al día, tal como 2 a 7 veces, por ejemplo, 2 a 5 veces, tal como 2 a 4 veces, tal como 2 a 3 veces al día.
- El medicamento de acuerdo con la presente invención puede administrarse al sujeto por un período de tratamiento de una o más semanas, tal como dos semanas, tres semanas, cuatro semanas, cinco semanas, seis semanas, siete semanas, ocho semanas o más de ocho semanas. El tratamiento puede repetirse a los sujetos que sufren recaída.
- Antisépticos y desinfectantes que comprenden el extracto de *Trigonella foenum-graecum*
- Un aspecto de la presente invención se refiere al uso del extracto o de una composición que comprende dicho extracto como antiséptico o desinfectante.
- En consecuencia, en una modalidad de acuerdo con la invención, el extracto de *Trigonella foenum-graecum* se formula

como un antiséptico/desinfectante para su aplicación a tejido vivo o a piel viva, tal como una herida quirúrgica, para minimizar el riesgo de infección.

En una modalidad, el extracto de *Trigonella foenum-graecum* está comprendido en un producto jabonoso.

En una modalidad más preferida, el extracto de *Trigonella foenum-graecum* de acuerdo con la invención se usa para la preparación de un producto antiséptico o desinfectante. De acuerdo con la invención, dichos productos se usan para la desinfección de objetos no vivos, tales como utensilios de cocina, refrigeradores, congeladores, instalaciones de cocina, pisos, instalaciones de establos o mataderos.

En otra modalidad preferida, el extracto de *Trigonella foenum-graecum*, o una composición que comprende dicho extracto, se usa para la limpieza de manchas de orina en elementos de concreto o en pisos de concreto.

En una modalidad, el extracto de *Trigonella foenum-graecum* o composiciones que comprenden dicho extracto, se usan como desinfectante para el agua de beber.

Aún en otra modalidad, el extracto de *Trigonella foenum-graecum* o composiciones que comprenden dicho extracto, se usan para la desinfección de tanques de agua infectados con *Legionella*. En una modalidad el agua es la de una piscina de natación.

Preservación de productos alimenticios

El extracto de acuerdo con la invención también puede usarse como preservante para productos alimenticios tales como carne, tal como carne molida y carne de aves. En una modalidad, el extracto se mezcla con la carne molida antes del almacenamiento.

Ejemplos

Ejemplo 1

Preparación del extracto de semillas

500 g de semillas de *Trigonella foenum-graecum* se remojaron en 2 L de agua durante aproximadamente 24 horas. A continuación del pre-remojado, se cocinaron las semillas durante 30 minutos y los remanentes de las semillas se eliminaron de la mezcla. Se enfrió el extracto.

Ejemplo 2

Tratamiento de verrugas y herpes labiales

El extracto de acuerdo con el ejemplo 1 se usó en el tratamiento de verrugas y herpes labiales (*Herpes labialis*). El extracto se aplicó al área de la afección en dos pacientes femeninas (de 18 y 44 años). Las afecciones desaparecieron en unas pocas horas. El extracto se probó en un hombre (44 años) y en una mujer (48 años) que sufrían verrugas localizadas en el pie. Las verrugas se hirieron mediante el uso de una aguja y se administró el extracto tópicamente en el área de la afección. En ambos casos, los pacientes sintieron alivio de las incomodidades asociadas al cabo de unas pocas horas después de la administración.

Ejemplo 3

Tratamiento de la periodontitis crónica

Mujer de 70 años. La periodontitis crónica y halitosis asociada y encías sangrantes se diagnosticaron a la edad de 65 años. Aparte de la limpieza de los dientes, la paciente no estaba sometida a ningún tratamiento dental. La paciente se trató con los extractos de acuerdo con la presente invención, que se administraron como enjuague bucal. Después de dos días de tratamiento, la halitosis desapareció y después de dos meses de tratamiento desaparecieron la inflamación y el sangrado de las encías.

Ejemplo 4

Tratamiento de la periodontitis

Hombre de 54 años. Un dentista diagnosticó periodontitis asociada a halitosis. El paciente se trató con el extracto de acuerdo con la invención, que se administró como un enjuague bucal. Después de unos pocos días de tratamiento, la halitosis desapareció. Un dentista confirmó la desaparición de la periodontitis y la cicatrización de las encías unos pocos meses después. No se requirió más tratamiento.

Ejemplo 5

Herida en una pierna

5 Hombre de 54 años. Se trató una herida infectada en la parte posterior de la pierna, debida a una esquirla de madera de creosota compactada, con el extracto de acuerdo con la invención, mediante administración tópica al área infectada. La infección desapareció en un día.

Ejemplo 6

10

Herida por la mordedura de un perro

15 Se trató un hombre de 44 años que sufrió una herida por la mordedura de un perro. Después de la mordedura, la herida estaba cicatrizando, pero la inflamación apareció después de unos pocos días. Se eliminó la materia infectada de la herida y se administró el extracto de acuerdo con la invención sobre la herida. Inmediatamente desapareció el dolor asociado con la infección de la herida y la herida cicatrizó adecuadamente en unos pocos días.

Ejemplo 7

20

Heridas en animales

25 Se trataron heridas en un gato y en un perro con el extracto de acuerdo con la invención. El perro se trató dos veces al día durante dos días, mediante administración tópica al área infectada (200 mm de diámetro). La herida cicatrizó adecuadamente. El gato sufría de una herida severamente infectada (aproximadamente 300 mm de diámetro). La herida se trató por administración tópica dos veces al día durante 3 días. La herida cicatrizó completamente en dos a tres días.

Ejemplo 8

30

Tratamiento de heridas menores y picazón

35 Se trató un hombre de 44 años que sufría frecuentes heridas menores y picazón en el área del ano, con el extracto de acuerdo con la invención. La administración tópica del extracto al área de la afección alivió al paciente de la picazón en unos pocos minutos y las heridas cicatrizaron en aproximadamente 12 horas. No se necesitó más tratamiento para las heridas. La administración tópica de un linimento de cordison fue menos eficiente.

Ejemplo 9

Tratamiento de la faringitis

40 Mujer de 18 años que sufre faringitis. El tratamiento de las afecciones fue con enjuagues de la cavidad bucal y de la garganta, mediante el uso del extracto de acuerdo con la invención. Ella reportó alivio inmediato de la incomodidad asociada con la afección.

Ejemplo 10

45

Llaga en cerdo

50 A un cerdo con una llaga de un área aproximada de 100 cm² se le roció una mezcla de agua con el extracto de acuerdo con el ejemplo 1, en proporción 1:1.24 horas después del tratamiento se había formado una película sobre la llaga. No hubo ni exudado ni infección. Después de repetir el tratamiento una vez al día durante 4 días, la llaga cicatrizó.

Ejemplo 10

55

Eliminación del mal olor

Se usó exitosamente el extracto de acuerdo con el ejemplo 1 para eliminar el mal olor. Se remojaron zapatos de neopreno y las suelas internas en una dilución (en agua) del extracto de acuerdo con la invención, y se secaron. Se aplicó un extracto concentrado a los zapatos y las suelas. Después del tratamiento no hubo indicios de mal olor.

60 Se lavaron manchas de orina (orina de perro) sobre concreto con cloro y con un agente limpiador universal doméstico sin que se eliminara exitosamente el mal olor. Al lavar las manchas con una dilución del extracto, el mal olor se eliminó completamente. El extracto también se usó exitosamente como desodorante, efectivo durante más de 24 horas.

Ejemplo 11

65

Preservación de la carne molida.

Se añadieron unas pocas gotas del extracto de acuerdo con la invención, a 50 gramos de carne molida. Se dejaron en refrigeración una muestra de carne tratada y otra correspondiente de carne molida sin tratar. Después de dos días de refrigeración, la muestra de carne no tratada mostró un mal olor severo. La muestra de carne tratada se mostró fresca, sin mal olor durante cinco días. Al sexto día se observó mal olor en la muestra tratada.

Ejemplo 12

Protocolo clínico para la periodontitis

Enrolamiento en el estudio:

Se enrolean en el estudio 20 sujetos (voluntarios) que cumplen los criterios diagnósticos propuestos de periodontitis.

Estudio:

El estudio se lleva a cabo a doble ciega, a manera de placebo control. Los sujetos se dividen en dos grupos (n=10 en cada uno), grupos A y B. Los sujetos se instruyen para el autotratamiento, que comprende 2 minutos de enjuague bucal dos veces al día, mediante el uso del extracto de acuerdo con la invención. La duración del tratamiento es de 3 meses. Los sujetos llevan diarios en donde anotan el tiempo, tipo y severidad de los síntomas que experimentan durante la fase de tratamiento.

Dosificación:

El Grupo A recibe el extracto de acuerdo con la invención. El Grupo B recibe placebo.

Evaluación del estudio:

Los investigadores revisan los diarios de los sujetos y los someten a análisis estadístico y la severidad de los síntomas se determina en relación con las condiciones a la entrada del estudio.

Ejemplo 13

Extracto comparativo

Se cocinaron 500 g de semillas de *Trigonella foenum-graecum* en 2 L de agua durante aproximadamente 30 minutos y se eliminaron de la mezcla los remanentes de las semillas. Se enfrió el extracto.

Los extractos del ejemplo 1 y el extracto del ejemplo 13 se sometieron a análisis por HPLC con detección UV y dispersión de luz.

Las muestras del extracto se diluyeron 5 veces con agua y se filtraron a través de un filtro de nylon de 0.45 µm. Los análisis se hicieron en un Synergi Polar-RP 80A (250x4.6 mm, 4 µm, núm.16) mediante el uso de 10.6 mM de ácido fórmico/metanol como eluyente (98 % de ácido fórmico en 15 min, gradiente hasta 65 % después de 30 min, gradiente hasta 0 % después de 60 min) y se detectaron por dispersión de la luz.

La Tabla 1 más abajo revela los picos que se seleccionaron del cromatograma:

Tabla 1:

Pico núm.	RT (min)	Referencia (Ej.13)	Inventión (Ej.1)
1	1.8	0.188	12.358
2	2.5	6.778	12.973
3	2.8	137.36	165.609
4	3.2	144.218	241.491
5	3.5	30.959	51.101
6	3.9	33.887	47.785
7	4.4	2.102	2.741
8	38.1	0.45	1.672
9	38.6	3.509	3.828

Pico núm.	RT (min)	Referencia (Ej.13)	Invención (Ej.1)
10	39.2	3.904	6.371
11	41.1	7.358	8.189
12	41.4	6.885	6.638
13	56.2	314.319	250.972
14	62.7	5.927	5.615
15	65.1	27.663	23.852

Ejemplo 14

500 g de semillas de *Trigonella foenum-graecum* se remojaron en 2.5 L de agua durante aproximadamente 24 horas. A continuación del pre-remojado, se cocinaron las semillas durante 20 minutos y los remanentes de las semillas se eliminaron de la mezcla. Se enfrió el extracto.

El extracto acuoso se filtró primero a través de un filtro de celulosa (0.45 µm) y después a través de una resina de poliamida (DPA-6S de Sigma-Aldrich/Supelco) para eliminar, por ejemplo, los polifenólicos. Esto reduce el contenido de materia seca desde aproximadamente 14.5 mg/ml hasta aproximadamente 8.5 mg/ml.

Los componentes remanentes en el extracto se separaron en seis fracciones mediante el uso de cromatografía de fase reversa en un Lichroprep RP-18 (40-63 µm) (Merck) tamaño B. Se inyectó un ml del extracto de planta enriquecido en la columna, mediante el uso del siguiente gradiente: 0-1 min H₂O/AcN 98:2, y después, usar un gradiente estable de 1-40 min hasta 100 % de AcN. Los componentes eluidos se detectaron mediante el uso de la detección de arreglos de diodo (200-600 nm). La Fig. 1 muestra el cromatograma a 210 nm. Se recogieron seis fracciones en los siguientes intervalos de tiempo (5-10; 10-15; 15-17,5; 17,5-21; 21-24; 24-27 min). Las fracciones acumuladas a partir de tres inyecciones repetidas se llevaron a sequedad mediante el uso de un evaporador de rotación y las seis fracciones se redisolviéron en 0.5 ml de agua Milli Q para dar fracciones enriquecidas aproximadamente cinco veces en concentración.

Se analizaron seis fracciones de HPLC de *Trigonella foenum-graecum* y el extracto base para actividad antiviral hacia el virus del herpes simple (HSV)-2.

Las fracciones se mezclaron con virus (1x10⁵ unidades formadoras de placas en una mezcla 1:1) y se incubó durante 15 minutos a temperatura ambiente. Las mezclas se añadieron a cultivos de células Vero en diluciones seriadas 10-veces, y se monitorizó la replicación del virus por el efecto citopático en las células.

Dos días después de la infección, se observó una reducción de 5 veces en la replicación del virus en los cultivos tratados con la mezcla base. No se observaron efectos en las fracciones 3 a 6. En la fracción 2 apareció un efecto menor, mientras que en la fracción 1 la replicación del virus se redujo aproximadamente 100 veces.

Basado en este experimento, se concluye que la *Trigonella foenum-graecum* tiene actividad antiviral y que ésta se localiza en la fracción HPLC número 1.

Ejemplo 15

La fracción número 1 que se produce de acuerdo con el ejemplo 14 se usó para probar la actividad antiviral hacia el HSV-1 (Stain McIntyre) en células Vero.

La fracción se mezcló con virus (1x10⁵ unidades formadoras de placa en mezcla 1:1) y se incubó durante 15 minutos a temperatura ambiente. Las mezclas se añadieron a cultivos de células Vero y se monitoreó la replicación del virus por el efecto citopático en las células. Se realizaron ensayos en blanco en los cuales cualquier fracción o la fracción número 1 se dejaba fuera.

Dos días después de la infección, se observó un crecimiento de las células Vero en los frascos que contenían la mezcla del virus con la fracción núm.1. En los ensayos en blanco se observó muerte celular en el frasco que recibió el virus pero no la fracción número 1, mientras que se observó crecimiento celular en el frasco que recibió la fracción número 1 pero no el virus.

Basado en estos experimentos, se concluye que el contenido de la fracción número 1 tiene actividad antiviral y que el contenido de la fracción número 1 no es tóxico hacia las células Vero.

Reivindicaciones

1. Un proceso para obtener un extracto, que comprende las etapas de
 - a. preparar una mezcla de semillas obtenidas de *Trigonella foenum-graecum* y agua,
 - b. incubar dicha mezcla durante al menos 3 horas a una temperatura entre 10 y 45 °C,
 - c. hervir dicha mezcla durante 10 a 45 minutos para liberar el embrión de las semillas, y
 - d. recuperar el extracto líquido de la mezcla.
2. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende la etapa adicional de congelar la mezcla incubada antes del tratamiento con calor, de acuerdo con la etapa c, o congelar la mezcla tratada con calor.
3. El proceso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde dicha etapa adicional comprende congelar la mezcla, como se define en la reivindicación 2, y repetir la etapa c.
4. Un proceso para obtener una fracción del extracto mediante el uso de cromatografía de fase reversa en un Lichroprep RP-18 tamaño B (40-63 µm) (Merck), del extracto que se obtiene de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 mediante el uso del siguiente gradiente: 0-1 min H₂O/AcN 98:2, después, usar un gradiente estable de 1-40 min hasta 100 % de AcN y colectar la fracción en el intervalo de tiempo entre 5 y 10 min.
5. El proceso para obtener un extracto o una fracción del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el extracto o la fracción del mismo se concentra mediante la eliminación parcial o total del solvente mediante un método que se selecciona entre el grupo que consiste en: filtración por membrana, evaporación, precipitación, extracción, destilación azeotrópica, liofilización, secado por aspersión, y sus combinaciones.
6. Una composición farmacéutica que comprende un extracto o una fracción del mismo, que se obtiene mediante un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para usar en el tratamiento de una afección inflamatoria o infecciosa.
7. La composición farmacéutica para usar de acuerdo con la reivindicación 6, en donde la afección inflamatoria se selecciona del grupo que consiste en dermatitis por pañales, acné, asma, y una afección inflamatoria en el tracto gastrointestinal.
8. La composición farmacéutica para usar de acuerdo con la reivindicación 6, en donde dicha afección infecciosa es Herpes simple.
9. La composición farmacéutica para usar de acuerdo con la reivindicación 6, en donde dicha afección infecciosa se selecciona del grupo que consiste en una herida infectada, una herida quirúrgica, impétigo, un estafilococo, tal como infección por *Staphylococcus aureus*, una infección en la cavidad bucal, enfermedad periodontal, una infección en el ojo o en los anexos del ojo, resfriado común, herpes labial, verrugas y faringitis.
10. La composición farmacéutica para usar de acuerdo con la reivindicación 9, en donde dicha enfermedad periodontal se selecciona entre gingivitis, periodontitis y halitosis,
11. La composición farmacéutica para usar de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 6 a 10, en donde dicha composición farmacéutica se formula como un enjuague bucal, goma de mascar, pasta dental, bálsamo, emplasto, protector labial, aspersión, ungüento, gel, cápsula, gotas o tabletas.
12. Uso del extracto que se obtiene por un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para la preparación de una composición para la desinfección de la piel; instalaciones tales como cocinas, mataderos, servicios sanitarios y establos, equipos de cocina tales como refrigeradores o congeladores; agua, contenedores de agua; residencias con olores o personas enfermas, o elementos de concreto.
13. Uso del extracto que se obtiene por un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para la preparación de una composición para la preservación de productos alimenticios tales como carne, aves y productos de los mismos.

Fig. 1

