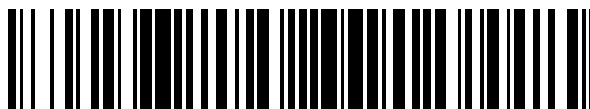


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 656 891**

51 Int. Cl.:

A61K 36/185	(2006.01) A61K 36/90	(2006.01)
A61K 36/50	(2006.01) A61K 36/808	(2006.01)
A61K 36/80	(2006.01) A61P 7/10	(2006.01)
A61K 36/515	(2006.01)	
A61K 36/11	(2006.01)	
A61K 36/31	(2006.01)	
A61K 36/15	(2006.01)	
A61K 36/56	(2006.01)	
A61K 36/30	(2006.01)	
A61K 36/52	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.06.2013** **PCT/EP2013/062569**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.12.2013** **WO13189906**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.06.2013** **E 13729714 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.11.2017** **EP 2863932**

54 Título: **Composición para su uso en el tratamiento de linfedema**

30 Prioridad:

22.06.2012 EP 12173196

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

28.02.2018

73 Titular/es:

**BIOLOGISCHE HEILMITTEL HEEL GMBH
(100.0%)
Dr.-Reckeweg-Strasse 2-4
76532 Baden-Baden, DE**

72 Inventor/es:

**BURMEISTER, YVONNE y
SEILHEIMER, BERND**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 656 891 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).

DESCRIPCION

Composición para su uso en el tratamiento de linfodema

La presente invención se define en las reivindicaciones 1 a 5.

El edema es la inflamación causada por la acumulación excesiva de líquido en el espacio intersticial de tejidos u órganos (Cho S, Atwood JE. Peripheral edema. The American Journal of Medicine. 2002;113(7):580-586; Revis DR. Lymphedema. eMedicine 2010; <http://emedicine.medscape.com/article/191350-resumen> consultado el 8 de octubre de 2010). Hay muchos mecanismos diferentes que pueden aumentar el riesgo de desarrollar edema, incluyendo la alteración de la circulación y la eliminación de líquido linfático. El edema solo podría afectar a órganos y a tejidos específicos o estar más generalizado y extendido según el grado y duración de la patología (Cho S, Atwood JE. Peripheral edema. The American Journal of Medicine. 2002;113(7):580-586). Los sitios más habituales donde se produce el edema, incluyendo el linfodema, son generalmente los pies y las piernas, pero también puede producirse en otros lugares incluyendo los ojos, el cuello y región de la cabeza (Cho S, Atwood JE. The American Journal of Medicine. 2002;113(7):580-586). La presencia de varices (de insuficiencia venosa crónica) y de tromboflebitis son dos de las causas más comunes de un edema localizado mientras que las causas más sistémicas del edema incluyen linfodema e hipotiroidismo, así como un edema de tipo idiopático, también conocido como edema cíclico o síndrome de retención de líquidos (Revis DR. Lymphedema. eMedicine 2010; <http://emedicine.medscape.com/article/191350-resumen> consultado el 8 de octubre de 2010).

Linfodema se refiere al aumento de líquido, proteínas y lípidos en el espacio intersticial después de algún tipo de disfunción del sistema linfático ((Revis DR. Lymphedema. eMedicine 2010; <http://emedicine.medscape.com/article/191350-resumen> consultado el 8 de octubre de 2010.). Los vasos linfáticos son los responsables de la recogida y el transporte del líquido linfático, que contiene estas proteínas de alto peso molecular, a los ganglios linfáticos donde se filtra de materiales residuales y extraños. Cualquier anomalía en este sistema, como las malformaciones congénitas encontradas en linfodema primario u obstrucción o lesión de los vasos linfáticos de linfodema secundario, puede conducir a la acumulación de líquido produciendo inflamación anómala, rigidez de la piel e infección. Si no se trata, el linfodema puede avanzar a fibrosis, dolor/parestesias, desfiguración extrema, inmunorreactividad reducida, y aunque sea raro, al desarrollo de linfangiosarcoma.

El linfodema secundario es el tipo más habitual de linfodema con causas identificables que destruye o vuelve inadecuado el sistema linfático normal. En todo el mundo, la causa más habitual de linfodema secundario es la filariasis, la infestación directa de los ganglios linfáticos por el parásito *Wuchereria bancrofti*, mientras que la extirpación de los ganglios linfáticos axilares como resultado de cirugía de cáncer de mama, es la causa más habitual en países industrializados como los Estados Unidos (Revis DR. Lymphedema. eMedicine 2010; <http://emedicine.medscape.com/article/191350-resumen> consultado el 8 de octubre de 2010; Brennan MJ. Lymphedema following the surgical treatment of breast cancer: a review of pathophysiology and treatment. Journal of Pain and Symptom Management. 1992;7(2):110-116.). El melanoma y los cánceres de cuello uterino, endometrio, vulva, próstata, pene y tejidos blandos, también pueden asociarse a linfodema en extremidades superiores e inferiores además de en otras partes del cuerpo (Maus EA, Tan IC, Rasmussen JC, Marshall MV, CE de Fife, Smith LA, Guillod R, EM Seveck Muraca. Near-infrared fluorescence imaging of lymphatics in head and neck lymphedema. Head Neck. 12 de noviembre de 2010). Como etiologías de linfodema secundario, no relacionadas con cáncer, se incluyen afecciones tales como celulitis, normalmente en pacientes obesos, lesiones de tipo inflamatorias y trombóticas causadas por determinados fármacos, flebectomía, cirugía vascular periférica y trombosis venosa profunda junto con cicatrización causada por radioterapia intensa, quemaduras y excisión de cicatriz por quemadura (Revis DR. Lymphedema. eMedicine 2010; <http://emedicine.medscape.com/article/191350-resumen> consultado el 8 de octubre de 2010.; <http://www.mayoclinic.com/health/lymphedema/DS00609>).

Estudios realizados estiman que entre el 30 y el 60% de los supervivientes de cáncer de mama reportan síntomas de linfodema, reportando tasas similares los pacientes sometidos tanto a mastectomía como a cirugía tradicional (Paskett 2000, Brest J 6: 373-8). Durante la cirugía de cáncer de mama, los vasos linfáticos que provienen del brazo se extirpan en la axila junto con sus ganglios linfáticos y tejido conectivo circundante asociados, en un esfuerzo por impedir la metástasis del tumor a través del sistema linfático y eliminar las células tumorales que residen en el sistema linfático. El proceso resultante de reparación fibrótica de la herida, llena el espacio quirúrgico con tejido cicatricial obstructivo, que se ha descubierto que reduce la recuperación del drenaje linfático (Suami 2007, Lymphology 40: 122-6). El linfodema normalmente se desarrolla varios años después de haberse curado la lesión original relacionada con el sistema linfático. Se ha formulado la hipótesis de que la mala regeneración linfática a través del tejido cicatricial obstructivo durante el proceso de curación de la herida puede predisponer al tejido a inflamarse en una fecha posterior (Ongstad 2010, Am J Physiol Heart Circ Physiol 299: 46-54).

El linfodema a menudo hace que los supervivientes de cáncer padezcan limitaciones graves en sus actividades diarias, afectando de manera medible en su calidad de vida en general. Específicamente, las mujeres con linfodema son personas más discapacitadas, reportan síntomas de las extremidades superiores (dolor en hombro o brazo) y dificultades en cuanto al movimiento del brazo, dolor e inflamación de la mama operada y mayor malestar psíquico (2010 Chachaj, Psychooncology 19: 299-305). A pesar de mejoras recientes en técnicas quirúrgicas, tales como el uso de la biopsia de ganglio linfático centinela para determinar su estadificación, en vez de disección total

de ganglios linfáticos axilares, el riesgo de linfedema ha disminuido pero no se ha eliminado (Leidenius 2005, J Surg Oncol 92: 23-31).

En la actualidad no existe cura para el linfedema. Hay tratamientos no curativos posteriores, tales como el uso de prendas de compresión y la terapia de drenaje linfático manual, que se administran después de la aparición del linfedema (2007 Hamner, Ann Surg Oncol 14: 1904-8). El linfedema puede ser una afección prolongada, incómoda y dolorosa, que requiere tratamiento diario. Si no se trata, el líquido rico en proteínas continúa acumulándose en el tejido lo que puede conducir a fibrosis y a infecciones recurrentes. Dado que en el ser humano el drenaje de líquido puede verse comprometido por la insuficiencia de los vasos linfáticos para regenerarse durante la reparación de la herida normal debido a la abundante deposición de tejido fibrótico (Ongstad 2010, loc cit; Avraham 2009, Plastic and Reconstructive Surgery 124:438-50; Clavin 2008, Am J Physiol Heart Circ Physiol 295: 2113-27; Uzarski 2008, Am J Physiol Heart Circ Physiol 294: 1326-34), es posible que las mejoras en la curación natural de las lesiones relacionadas con el sistema linfático puedan aumentar el drenaje líquido.

En diversos estudios, se ha demostrado que los medicamentos homeopáticos actúan sobre las rutas inflamatorias y reducen el edema tisular (Macedo 2004, Homeopathy 93:84-87; Prado Neto 2004, Homeopathy 93:12-16). Lymphomyosot® o Lymphomyosot N® es un agente homeopático que se sugirió que ejercía algunos efectos en el tratamiento de edemas de etiología trombótica o inflamatoria. Sin embargo, no está claro el mecanismo de acción y la eficacia de Lymphomyosot® o Lymphomyosot N®.

Lymphomyosot® o Lymphomyosot N® es un agente homeopático complejo que, en un estudio realizado en seres humanos, se descubrió que era eficaz, entre otras cosas, en el tratamiento de edemas de etiología trombótica o inflamatoria (Küstermann 1997, Biologische Medizin 26(3): 110-114; Latini 1999, Biomedical Therapy 17(3): 79-82; Moyseyenko 2009, Europ J Integr Med 1(4): 251; Schmolz 2001, Bio Med 30(4): 177-183; Van Haselen 2008, Europ J Integr Med 1(Suppl. 1): S46-47; Zenner 1990, Biological Therapy 8(3): 49-53). Zenner y Metelmann describen el uso terapéutico de Lymphomyosot y los resultados de un estudio de observación multicéntrico realizado con 3.512 pacientes (Journal of Natural Medicine, (199006), vol. 3, N° 3, páginas 1-19). Sin embargo, no está claro el mecanismo de acción y la eficacia de dicho agente.

Sin embargo, sigue habiendo la necesidad de composiciones más eficaces en el tratamiento y/o prevención del linfedema.

El problema técnico trasfondo de la presente invención, puede verse como la provisión de medios y procedimientos para cumplir con las necesidades antes mencionadas. El problema técnico se resuelve a través de las realizaciones caracterizadas en las reivindicaciones y a continuación en el presente documento.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a una composición para su uso en el tratamiento y/o la prevención de linfedema, en la que dicha composición comprende:

- i) *Aranea diadematus* dilución D6;
- ii) Fostato de calcio dilución D12;
- iii) *Equisetum hiemale* redilución de extracto de hierba D4;
- iv) *Yoduro de hierro* dilución D12;
- v) *Fumaria officinalis* dilución D4;
- vi) *Gentiana lutea* dilución D5;
- vii) *Geranium robertianum* dilución D4;
- viii) Levotiroxina dilución D 12;
- ix) *Myosotis arvensis* dilución D3;
- x) *Nasturtium officinale* dilución D4;
- xi) Sulfato de sodio dilución D4;
- xii) *Pinus silvestris* D4 dilución;
- xiii) Raíz de zarzaparrilla dilución D6;
- xiv) *Scrophularia nodosa* dilución D3;
- xv) *Teucrium scorodonia* dilución D3; y
- xvi) *Veronica officinalis* dilución D3,

y

en la que dicha composición se administra cada dos días en una cantidad de 0,25 ml por kg de peso corporal del sujeto a tratar.

El término "composición", como se usa en el presente documento, refiere a una mezcla de extractos de, entre otras cosas, fuentes biológicas, tales como plantas, que se definen más adelante en otras partes del presente documento. Preferentemente, dicha composición puede comprender otros principios adicionales y, más preferentemente, un transportador y/o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Preferentemente, dichos principios adicionales pueden ser agentes estabilizantes, agentes humectantes, transportadores farmacéuticos, agentes adicionales farmacéuticamente activos, agentes controladores de liberación y similares. Los diluyentes preferidos incluyen agua, alcoholes, soluciones salinas fisiológicas, tampones, tales como

soluciones salinas tamponadas con fosfato, jarabe, aceite, agua, emulsiones, varios tipos de agentes humectantes y similares. Preferentemente, de acuerdo con la presente invención, se contempla una composición que comprende además al menos un transportador y/o diluyente farmacéuticamente aceptable. El transportador (o transportadores) debe ser aceptable en el sentido de ser compatible con los demás principios de la formulación y no perjudicial para su destinatario. El transportador farmacéutico empleado puede incluir un sólido, un gel o un líquido. Son ejemplos de transportadores sólidos la lactosa, alabastro (*terra alba*), sacarosa, talco, gelatina, agar, pectina, goma arábica, estearato de magnesio, ácido esteárico y similares. Del mismo modo, el transportador o diluyente puede incluir material de acción retardada bien conocido en la materia, tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo solo o con una cera. Dichos transportadores adecuados incluyen los anteriormente mencionados y otros conocidos en la materia, véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pensilvania, farmacopea europea, farmacopea homeopática de los Estados Unidos o HAB. El diluyente farmacéuticamente aceptable se selecciona para que no afecte a la actividad biológica de la combinación. Son ejemplos de estos diluyentes el agua destilada, la solución salina fisiológica, las soluciones de Ringer, la solución de dextrosa y la solución de Hank. Además, la composición farmacéutica o formulación puede incluir también otros transportadores, adyuvantes, o estabilizantes no tóxicos, no-terapéuticos, no inmunogénicos y similares.

La composición se adaptará para su uso en el tratamiento o la prevención de linfodema. En consecuencia, se entenderá que, dependiendo del modo de administración deseado, la composición se formulará para una aplicación tópica o sistémica. Preferentemente, la composición contemplada en el presente documento se formula para una aplicación local o sistémica. Preferentemente, se contempla la aplicación oral, por ejemplo, en forma de comprimidos, solución o ampollas bebibles, o aplicación a través de inyección. Sin embargo, dependiendo de la naturaleza y del modo de acción, la composición puede administrarse por otras vías, así como la administración dérmica, intramuscular, subcutánea, oral, intravenosa o tópica. La composición puede formularse, preferentemente, para una administración en embolada o puede prepararse para aplicaciones continuas como se expone con detalle en otros lugares de este documento. Preferentemente, la composición para su uso según la presente invención, se formula como un medicamento como se expone con detalle en otros lugares de este documento.

El término "tratamiento", como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier mejoría del linfodema que se produzca en un sujeto que se ha tratado, en comparación con uno que no se ha tratado. Dicha mejoría puede ser una prevención de un empeoramiento o progresión del linfodema. Sin embargo, preferentemente, tratamiento se refiere a la curación y/o mejora de linfodema. Se entenderá que un tratamiento puede no ser satisfactorio para el 100% de los sujetos a tratar. Sin embargo, el término requiere que el tratamiento sea satisfactorio para una parte estadísticamente significativa de los sujetos (por ejemplo, una cohorte en un estudio de cohortes). El que una parte sea estadísticamente significativa puede determinarse sin más por la persona experta en la materia utilizando diversas herramientas de evaluación estadística conocidas, por ejemplo, determinación de intervalos de confianza, determinación del valor de p, la prueba de la t de Student, la prueba de Mann-Whitney etcétera. Los detalles se encuentran en Dowdy y Wearden, *Statistics for Research*, John Wiley & Sons, Nueva York 1983. Los intervalos de confianza preferidos son al menos 90%, al menos 95%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99%. Los valores de p son, preferentemente, 0,05, 0,01, 0,005 o 0,0001.

El término "prevención", como se usa en el presente documento, se refiere a una prevención de la formación del linfodema dentro de una ventana de tiempo ("ventana preventiva") determinada. La ventana preventiva puede ser de al menos o hasta 1 semana, al menos o hasta 2 semanas, al menos o hasta 3 semanas, al menos o hasta 4 semanas, al menos o hasta 1 mes, al menos o hasta 2 meses, al menos o hasta 3 meses, al menos o hasta 6 meses o al menos o hasta 1 año después de la administración de la composición. Se entenderá que dicha prevención puede no ser satisfactoria para el 100% de los sujetos a los que se ha administrado la composición. Sin embargo, el término requiere que la prevención sea satisfactoria para una parte estadísticamente significativa de los sujetos (por ejemplo, una cohorte en un estudio de cohortes). El que una parte sea estadísticamente significativa puede determinarse sin más por la persona experta en la materia utilizando diversas herramientas de evaluación estadística conocidas mencionadas con detalle en otros lugares de este documento.

El término "linfodema", como se usa en el presente documento, se refiere a un trastorno caracterizado por un aumento en la retención de líquidos en el tejido, inflamación del tejido y un deterioro de la función inmunitaria debido a un drenaje linfático reducido. Preferentemente, el linfodema suele encontrarse como un trastorno secundario que pueda resultar de la disección de ganglios linfáticos o lesión de vasos linfáticos. Dicho linfodema secundario puede también venir acompañado, por ejemplo, de disección de ganglios linfáticos o lesión relacionada con cirugía, radioterapia, enfermedad tumoral y sus tratamientos, lesiones musculoesqueléticas como fracturas, tenotomía y reemplazo articular, afecciones neurológicas como parálisis muscular, cirugías/lesiones vasculares, lesiones tegumentarias, trastornos de la coagulación tales como trombosis venosa profunda, formación de tejido cicatricial, tratamiento con tamoxifeno, filariasis, infección, lipoedema o celulitis.

Por consiguiente, la composición para su uso según la presente invención en el tratamiento y/o prevención de linfodema, preferentemente, reduce la inflamación en el linfodema fortaleciendo el proceso de regeneración tisular y por lo tanto la regeneración linfática funcional y/o acelerando la resolución del proceso inflamatorio. Por otra parte, el linfodema de acuerdo con la presente invención es preferentemente linfodema secundario que se produce, por ejemplo, después de una disección de ganglios linfáticos o de una lesión de vasos linfáticos, y más preferentemente, asociado a cáncer. Los expertos en la materia también conocen sobradamente los síntomas y las características del

linfodema y se describen con más detalle en libros de texto de medicina convencionales tales como Stedman o Pschyrembl.

El experto en la materia conoce bien las plantas a las que se hace referencia de acuerdo con la presente invención, es decir, *Equisetum hiemale*, *Fumaria officinalis*, *Gentiana lutea*, *Geranium robertianum*, *Myosotis arvensis*, *Nasturtium officinale*, *Pinus silvestris*, raíz de zarzaparrilla, *Scrophularia nodosa*, *Teucrium scorodonia*, *Veronica officinalis*, y desde el punto de vista botánico están bien caracterizadas. En consecuencia, dichas plantas pueden identificarse, cultivarse y/o recolectarse sin más preámbulos como un material de partida para la preparación de la composición para su uso según la presente invención. Por ejemplo, las plantas pueden obtenerse sembrando en un invernadero, plántulas en desarrollo, en condiciones normales de humedad, temperatura e iluminación, cultivando dichas plantas durante un período de tiempo suficiente para permitir la producción de metabolitos secundarios de la planta y recolectando las plantas, o partes de las mismas, necesarias para el proceso de extracción definido en otra parte del presente documento. Además, dichas plantas como material de partida para la preparación de la composición para su uso según la presente invención, preferentemente, también se obtendrán de la recolección silvestre. En este caso, las plantas se identifican utilizando procedimientos de ensayo micro y macroscópicos.

Otros componentes de la composición son también productos químicos muy conocidos en aplicaciones homeopáticas, tales como fosfato de calcio (*calcium phosphoricum*), yoduro de hierro (*ferrum iodatum*), levotiroxina, sulfato de sodio (*natrium sulfuricum*), o extractos obtenidos de animales, tales como *Aranea diadematus* (araña de la cruz, animal entero). De nuevo, estos componentes, en particular como principios homeopáticos, son muy conocidos por el experto en la materia.

La composición para su uso según la presente invención comprende dichos componentes en las siguientes diluciones homeopáticas:

- i) *Aranea diadematus* dilución D6;
- ii) Fosfato de calcio dilución D12;
- iii) *Equisetum hiemale* redilución de extracto de hierba D4;
- iv) Yoduro de hierro dilución D12;
- v) *Fumaria officinalis* dilución D4;
- vi) *Gentiana lutea* dilución D5;
- vii) *Geranium robertianum* dilución D4;
- viii) Levotiroxina dilución D12;
- ix) *Myosotis arvensis* dilución D3;
- x) *Nasturtium officinale* dilución D4;
- xi) Sulfato de sodio dilución D4;
- xii) *Pinus silvestris* D4 dilución;
- xiii) Raíz de zarzaparrilla dilución D6;
- xiv) *Scrophularia nodosa* dilución D3;
- xv) *Teucrium scorodonia* dilución D3; y
- xvi) *Veronica officinalis*.

Más preferentemente, dichas formulaciones pueden obtenerse de la siguiente manera.

La expresión "*Aranea diadematus* dilución D6", como se usa en el presente documento, se refiere a una dilución de *Aranea diadematus* que consiste en arañas de la cruz vivas, es decir, *Araneus diadematus* CLERCK. La coloración básica de dichas criaturas es, principalmente, marrón claro, pero este color puede variar ampliamente dependiendo del ambiente. La araña de la cruz recibe su nombre por las marcas blancas en forma de una cruz sobre el fondo marrón claro u oscuro del relleno (*plump*) que es la mitad anterior brillante del abdomen. Se puede obtener un tintura madre a partir de este material según el procedimiento de la farmacopea europea 1.1.9 o 4b de la farmacopea homeopática alemana que utiliza etanol como vehículo. Una parte de los animales vivos se anestesia en un matraz adecuado utilizando dióxido de carbono. Los animales se transfieren a un plato de porcelana y se eliminan con una parte de etanol (90% V/V). Las criaturas se aplastan con un mortero. Después, se añade una cantidad suficiente de etanol (90% V/V) para llevar la cantidad total añadida a 10 partes en peso. Con un mezclador pueden triturarse mayores cantidades. La preparación se transfiere a un recipiente con cierre y se deja a una temperatura no superior a 20 °C durante un mínimo de 14 días mientras se agita varias veces. Por último, la mezcla se pasa por un filtro. Según el procedimiento de la farmacopea europea 1.1.9 o 4b de la farmacopea homeopática alemana, la 2ª y 3ª diluciones decimales (D2 y D3) se llevan a cabo utilizando etanol (90% V/V) y la 4ª dilución decimal (D4) utilizando etanol (70% V/V). A partir de la producción de la dilución D2, siempre se utiliza 1 parte de la dilución concentrada más alta de la etapa 1 y 9 partes de etanol. Preferentemente, la tintura madre de *Aranea diadematus* a usar para la composición para su uso según la presente invención, se caracteriza por los parámetros analíticos expuestos en la monografía respectiva. La dilución se mezcla con las otras diluciones. Después de potenciar dos veces la mezcla de las diluciones, la tintura madre mencionada anteriormente está comprendida en la composición para su uso según la invención, preferentemente, en la dilución D6 y en una parte de 0,05 % (m/m) (0,55 mg de dilución D6 en una ampolla de 1,1 g).

La expresión "fosfato de calcio dilución D12", como se usa en el presente documento, se refiere a una dilución de

fosfato de calcio que puede obtenerse según la correspondiente monografía de la Farmacopea Europea. El fosfato de calcio es un polvo cristalino de color blanco a casi blanco. Es prácticamente insoluble en agua y en etanol (96%). Se disuelve en ácido clorhídrico diluido y en ácido nítrico diluido. El hidrogenofosfato de calcio (CaHPO_4) se produce en una reacción de neutralización entre el ácido fosfórico (H_3PO_4) y el hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$). Una cantidad adecuada de hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) se añade al ácido fosfórico (H_3PO_4) térmico. La mezcla se enfría para precipitar el hidrogenofosfato de calcio dihidrato ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). El precipitado se elimina por filtración y se seca suavemente. La dilución sólida D1 (trituration) puede obtenerse según el procedimiento de la farmacopea europea 4.1.1 o 6 de la farmacopea homeopática alemana utilizando monohidrato de lactosa como vehículo. El material de partida se desmenuza y se tamiza antes de dividir en tres partes. El primer tercio del vehículo se tritura. El material de partida se añade al vehículo triturado. La mezcla se tritura y se raspa. Posteriormente, se añaden las dos partes iguales del vehículo restante, se trituran y se raspan. Una trituration D2 se obtiene mezclando 1 parte de la trituration de fosfato de calcio D1 con 9 partes de monohidrato de lactosa. En consecuencia, se producen la 3ª a 6ª triturations decimales. Una parte de la trituration D6 se disuelve posteriormente con 9 partes de agua purificada y se agita para obtener la dilución D7. Esta etapa se realiza en conformidad con la farmacopea europea procedimiento 3.2.1 o procedimiento 8a de la farmacopea homeopática alemana. Para obtener la dilución D8, una parte de dilución D7 se potencia con 9 partes de etanol 30% (m/m). La siguiente etapa de potenciación para obtener la dilución D9 se realiza utilizando etanol 43% (m/m). En consecuencia se produce la 10ª dilución decimal. Preferentemente, el fosfato de calcio que se utiliza para la composición para su uso según la presente invención se caracteriza por los parámetros analíticos expuestos en la monografía respectiva. La dilución se mezcla con las otras diluciones. Después de potenciar dos veces la mezcla de las diluciones, la tintura madre mencionada anteriormente está comprendida en la composición para su uso según la invención, preferentemente, en una dilución D12 y en una parte de aproximadamente 0,05% (0,55 mg de dilución D12 en una ampolla de 1,1 g).

La expresión "*Equisetum hiemale* redilución de extracto de hierba D4", como se usa en el presente documento, se refiere a una dilución de *Equisetum hiemale* a utilizar para la preparación de la composición para su uso según la presente invención. Dicha dilución de *Equisetum hiemale* es un extracto alcohólico que puede obtenerse según el procedimiento 1.1.3 de la farmacopea europea o procedimiento 2a de la farmacopea homeopática alemana. El experto en la técnica sabe cómo llevar a cabo el procedimiento. Preferentemente, el extracto de *Equisetum hiemale* a usar de acuerdo con la composición para el uso de la presente invención, se prepara de la siguiente manera: se obtiene una tintura madre de la planta entera y fresca *Equisetum hiemale* L. que contiene menos de 70% de zumo expresado y más de 60% de humedad (que se pierde al secar) y sin aceites esenciales o resina. Posteriormente materiales adecuados, basados en hierbas, se desmenuzan, se mezclan con una cantidad de etanol al 90% (V/V) por no menos de la mitad de la masa del material basado en hierba. La cantidad exacta de etanol que se añade debe calcularse según la siguiente fórmula: masa de material basado en hierba (kg) multiplicado por el porcentaje de pérdida al secar (esto puede determinarse analizando la pérdida durante el secado de una muestra del material basado en hierba) dividido entre 100. La mezcla se conserva posteriormente en recipientes cerrados a temperatura ambiente (no superior a 20 °C) durante al menos diez días removiendo de vez en cuando. La mezcla se expresa y el líquido resultante se filtra. El filtrado se ajusta con etanol (50% V/V). La cantidad de etanol de dicho ajuste se calcula de la siguiente manera: masa de filtrado (kg) multiplicado por [porcentaje de residuo seco o porcentaje de contenido de ensayo necesario según la monografía] dividido entre [porcentaje de residuo seco o contenido de ensayo necesario según la monografía]. La mezcla ajustada se deja reposar a temperatura ambiente (no superior a 20 °C) durante al menos 5 días y, de forma opcional, se filtra de nuevo para obtener la tintura madre. Aplicando el siguiente esquema de dilución pueden prepararse diluciones D de la tintura madre: se mezclan 2 partes de tintura madre con 8 partes de etanol (50% V/V) para obtener una dilución D1. Se mezcla 1 parte de la dilución D1 con 9 partes de etanol (50% V/V) para obtener una dilución D2. Posteriormente, se producen diluciones decimales según lo indicado para la D2. Preferentemente, la tintura madre de *Equisetum hiemale* a usar para la composición para su uso según la invención se caracteriza por los parámetros analíticos expuestos en la monografía respectiva. La dilución se mezcla con las otras diluciones. Después de potenciar dos veces la mezcla de las diluciones, la tintura madre mencionada anteriormente está comprendida en la composición para su uso según la invención, preferentemente, en una dilución D4 y en una parte de 0,05% (m/m) (0,55 mg de dilución D4 en una ampolla de 1,1 g).

La expresión "yoduro de hierro dilución D12", como se usa en el presente documento, se refiere a una dilución de yoduro de hierro que es un producto de reacción del hierro y yodo seco en lactosa que contiene tanto como 15,0 y no más de 25,0 por ciento de FeI_2 cuando se calcula con referencia a la sustancia anhidra. Se vierten 10 partes de agua en 3 partes de hierro metálico (*ferrum metallicum*) y gradualmente se añaden 8 partes de yodo. Se deja reposar la mezcla 15 horas durante la noche, se hierve hasta que la solución toma un color verde claro y se filtra la solución obtenida en 40 partes de lactosa. Se seca al vacío durante 24 horas a temperatura ambiente. La masa se mezcla bien varias veces mientras se está secando. Después la mezcla se tritura. La dilución D2 sólida (trituration) puede obtenerse según el procedimiento de la farmacopea europea 4.1.1 o 6 de la farmacopea homeopática alemana utilizando monohidrato de lactosa como vehículo. El material se potencia dos veces para obtener una dilución D2. Se obtienen diluciones líquidas adicionales según el procedimiento de la farmacopea europea 3.2.1 o procedimiento 8a de la farmacopea homeopática alemana utilizando agua purificada o etanol de diferentes concentraciones. Aplicando el siguiente esquema de dilución pueden prepararse diluciones: una trituration D3 se obtiene mezclando 1 parte de la trituration D2 de yoduro de hierro con 9 partes de monohidrato de lactosa. En consecuencia se producen las triturations decimales 4ª a 6ª. Una parte de la trituration D6 se disuelve posteriormente con 9 partes de agua purificada y se agita para obtener la dilución D7. Esta etapa se realiza de

conformidad con la farmacopea europea procedimiento 3.2.1 o procedimiento 8a de la farmacopea homeopática alemana. Para obtener la dilución D8 una parte de la dilución D7 se potencia con 9 partes de etanol 30% (m/m). La siguiente etapa de potenciación para obtener la dilución D9 se realiza utilizando etanol al 43% (m/m). En consecuencia se produce la 10ª dilución decimal. Preferentemente, el yoduro de hierro a usar para la composición para su uso según la presente invención se caracteriza por los parámetros analíticos establecidos en la monografía respectiva. Después de mezclar la dilución con las otras diluciones y potenciar dos veces, el yoduro de hierro está comprendido en la composición para su uso según la invención, preferentemente, en una dilución D12 y en una parte de aproximadamente 0,1% (1,1 mg de dilución D12 en una ampolla de 1,1 g).

La expresión "*Fumaria officinalis* dilución D4", como se usa en el presente documento, se refiere a una dilución de *Fumaria officinalis* que se utiliza para la preparación de la composición para su uso según la presente invención. Dicha dilución de *Fumaria officinalis* es un extracto alcohólico que puede obtenerse según el procedimiento 1.1.3 de la farmacopea europea o procedimiento 2a de la farmacopea homeopática alemana. El experto en la materia sabe bien cómo llevar a cabo el procedimiento. Preferentemente, el extracto de *Fumaria officinalis* para utilizar de acuerdo con la composición para el uso de la presente invención se prepara de la siguiente manera: se obtiene una tintura madre de las partes aéreas frescas de *Fumaria officinalis* L. en el momento de la floración, que contienen menos del 70% de zumo expresado y más de 60% de humedad (que se pierde al secar) y sin aceites esenciales o resina. Posteriormente materiales adecuados, basados en hierbas, se desmenuzan, se mezclan con una cantidad de etanol al 90% (V/V) por no menos de la mitad de la masa del material basado en hierba. La cantidad exacta de etanol que se añade debe calcularse según la siguiente fórmula: masa de material basado en hierba (kg) multiplicado por el porcentaje de pérdida al secar (esto puede determinarse analizando la pérdida durante el secado de una muestra del material basado en hierba) dividido entre 100. La mezcla se conserva posteriormente en recipientes cerrados a temperatura ambiente (no superior a 20 °C) durante al menos diez días removiendo de vez en cuando. La mezcla se expresa y el líquido resultante se filtra. El filtrado se ajusta con etanol (50% V/V). La cantidad de etanol de dicho ajuste se calcula de la siguiente manera: masa de filtrado (kg) multiplicado por [porcentaje de residuo seco o porcentaje de contenido de ensayo necesario según la monografía] dividido entre [porcentaje de residuo seco o contenido de ensayo necesario según la monografía]. La mezcla ajustada se deja reposar a temperatura ambiente (no superior a 20 °C) durante al menos 5 días y, de forma opcional, se filtra de nuevo para obtener la tintura madre. Aplicando el siguiente esquema de dilución pueden prepararse diluciones D de la tintura madre: se mezclan 2 partes de tintura madre con 8 partes de etanol (50% V/V) para obtener una dilución D1. Se mezcla 1 parte de la dilución D1 con 9 partes de etanol (50% V/V) para obtener una dilución D2. Posteriormente, se producen diluciones decimales según lo indicado para la D2. Preferentemente, la tintura madre de *Fumaria officinalis* a usar para la composición para su uso según la invención se caracteriza por los parámetros analíticos expuestos en la monografía respectiva. La dilución se mezcla con las otras diluciones. Después de potenciar dos veces la mezcla de las diluciones, la tintura madre mencionada anteriormente está comprendida en la composición para su uso según la invención, preferentemente, en una dilución D4 y en una parte de 0,05% (m/m) (0,55 mg de dilución D4 en una ampolla de 1,1 g).

La expresión "*Gentiana lutea* dilución D5", como se usa en el presente documento, se refiere a una dilución de *Gentiana lutea* a utilizar para la preparación de la composición para su uso según la presente invención. Dicha dilución de *Gentiana lutea* es un extracto alcohólico que puede obtenerse según el procedimiento 1.1.5 de la farmacopea europea o procedimiento 3a de la farmacopea homeopática alemana. El experto en la materia sabe bien cómo llevar a cabo el procedimiento. Preferentemente, el extracto de *Gentiana lutea* para utilizar de acuerdo con la composición para el uso de la presente invención se prepara de la siguiente manera: se obtiene una tintura madre de las partes subterráneas frescas de *Gentiana lutea* L. que contiene aceites esenciales o resina, o generalmente menos del 60% de humedad (que se pierde al secar). Posteriormente, materiales adecuados, basados en hierbas, se desmenuzan, se mezclan con una cantidad de etanol al 90% (V/V) por no menos de la mitad de la masa del material basado en hierba. La cantidad exacta de etanol que se añade debe calcularse según la siguiente fórmula: masa de material basado en hierba (kg) multiplicado por el porcentaje de pérdida al secar (esto puede determinarse analizando la pérdida durante el secado de una muestra del material basado en hierba) multiplicado por un factor de 2 y dividido entre 100. La mezcla se conserva posteriormente en recipientes cerrados a temperatura ambiente (no superior a 20 °C) durante al menos diez días removiendo de vez en cuando. La mezcla se expresa y el líquido resultante se filtra. El filtrado se ajusta con etanol (70% V/V). La cantidad de etanol de dicho ajuste se calcula de la siguiente manera: masa de filtrado (kg) multiplicado por [porcentaje de residuo seco o porcentaje de contenido de ensayo necesario según la monografía] dividido entre [porcentaje de residuo seco o contenido de ensayo necesario según la monografía]. La mezcla ajustada se deja reposar a temperatura ambiente (no superior a 20 °C) durante al menos 5 días y, de forma opcional, se filtra de nuevo para obtener la tintura madre. Aplicando el siguiente esquema de dilución pueden prepararse diluciones D de la tintura madre: se mezclan 3 partes de tintura madre con 7 partes de etanol (70% V/V) para obtener una dilución D1. Se mezcla 1 parte de la dilución D1 con 9 partes de etanol (70% V/V) para obtener una dilución D2. Posteriormente, se producen diluciones decimales según lo indicado para la D2. Preferentemente, la tintura madre de *Gentiana lutea* a usar para la composición para su uso según la invención se caracteriza por los parámetros analíticos expuestos en la monografía respectiva. La dilución se mezcla con las otras diluciones. Después de potenciar dos veces la mezcla de las diluciones, la tintura madre mencionada anteriormente está comprendida en la composición para su uso según la invención, preferentemente, en una dilución D5 y en una parte de 0,05 % (m/m) (0,55 mg de dilución D5 en una ampolla de 1,1 g).

La expresión "*Geranium robertianum* dilución D4", como se usa en el presente documento, se refiere a una dilución de *Geranium robertianum* a utilizar para la preparación de la composición para su uso según la presente invención. Dicha dilución de *Geranium robertianum* es un extracto alcohólico que puede obtenerse según el procedimiento 1.1.3 de la farmacopea europea o procedimiento 2a de la farmacopea homeopática alemana. El experto en la materia sabe bien cómo llevar a cabo el procedimiento. Preferentemente, el extracto de *Geranium robertianum* para utilizar de acuerdo con la composición para el uso de la presente invención se prepara de la siguiente manera: se obtiene una tintura madre de las partes aéreas frescas de *Equisetum hiemale* en el momento de la floración, que contienen menos del 70 % de zumo expresado y más de 60 % de humedad (que se pierde al secar) y sin aceite esencial ni resina. Posteriormente, materiales adecuados, basados en hierbas, se desmenuzan, se mezclan con una cantidad de etanol al 90% (V/V) por no menos de la mitad de la masa del material basado en hierba. La cantidad exacta de etanol que se añade debe calcularse según la siguiente fórmula: masa de material basado en hierba (kg) multiplicado por el porcentaje de pérdida al secar (esto puede determinarse analizando la pérdida durante el secado de una muestra del material basado en hierba) dividido entre 100. La mezcla se conserva posteriormente en recipientes cerrados a temperatura ambiente (no superior a 20 °C) durante al menos diez días removiendo de vez en cuando. La mezcla se expresa y el líquido resultante se filtra. El filtrado se ajusta con etanol (50% V/V). La cantidad de etanol de dicho ajuste se calcula de la siguiente manera: masa de filtrado (kg) multiplicado por [porcentaje de residuo seco o porcentaje de contenido de ensayo necesario según la monografía] dividido entre [porcentaje de residuo seco o contenido de ensayo necesario según la monografía]. La mezcla ajustada se deja reposar a temperatura ambiente (no superior a 20 °C) durante al menos 5 días y, de forma opcional, se filtra de nuevo para obtener la tintura madre. Aplicando el siguiente esquema de dilución pueden prepararse diluciones D de la tintura madre: se mezclan 2 partes de tintura madre con 8 partes de etanol (70% V/V) para obtener una dilución D1. Se mezcla 1 parte de la dilución D1 con 9 partes de etanol (50% V/V) para obtener una dilución D2. Posteriormente, se producen diluciones decimales según lo indicado para la D2. Preferentemente, la tintura madre de *Geranium robertianum* a usar para la composición para su uso según la invención se caracteriza por los parámetros analíticos expuestos en la monografía respectiva. La dilución se mezcla con las otras diluciones. Después de potenciar dos veces la mezcla de las diluciones, la tintura madre mencionada anteriormente está comprendida en la composición para su uso según la invención, preferentemente, en una dilución D4 y en una parte de 1,1 % (m/m) (1,10 mg de dilución D4 en una ampolla de 1,1 g).

La expresión "levotiroxina dilución D12", como se usa en el presente documento, se refiere a una dilución de levotiroxina que contiene no menos de 97,0 y no más de 102,0 % de ácido(S)-2-amino-3-[4-(4-hidroxi-3,5-diiodofenoxi)-3,5-diiodofenil] propiónico cuando se calcula con referencia a la sustancia anhidra. Es un producto de reacción de la 3,5-diiodo-L-tironina que se yoda para dar el producto intermedio 3,3',5,5'-tetrayodo-L-tironina. El ácido libre se obtiene humedeciendo con etanol. Después de un proceso de secado y mezcla, el producto final está disponible. La dilución sólida D1 (trituration) puede obtenerse según el procedimiento de la farmacopea europea 4.1.1 o según el procedimiento 6 de la farmacopea homeopática alemana y la correspondiente monografía de la propia empresa usando monohidrato de lactosa como vehículo. El material de partida se desmenuza y se tamiza antes de dividir en tres partes. El primer tercio del vehículo se tritura. El material de partida se añade al vehículo triturado. La mezcla se tritura y se raspa. Posteriormente, se añaden las dos partes iguales del vehículo restante, se añaden, se Trituran y se raspan. Se obtiene una trituración D2 mezclando 1 parte de la trituración D1 de levotiroxina con 9 partes de lactosa monohidratada. En consecuencia se producen la 3ª a 6ª trituraciones decimales. Una parte de la trituración D6 se disuelve posteriormente con 9 partes de agua purificada y se agita para obtener la dilución D7. Esta etapa se realiza en conformidad con el procedimiento 3.2.1 de la farmacopea europea o procedimiento 8a de la farmacopea homeopática alemana. Para obtener la dilución D8 una parte de la dilución D7 se potencia con 9 partes de etanol al 30% (m/m). La siguiente etapa de potenciación para obtener la dilución D9 se realiza utilizando etanol al 43% (m/m). En consecuencia se produce la 10ª dilución decimal. Preferentemente, la levotiroxina a utilizar para la composición para su uso según la presente invención se caracteriza por los parámetros analíticos expuestos en la monografía respectiva. La dilución se mezcla con las otras diluciones. Después de potenciar dos veces la mezcla de las diluciones, la levotiroxina está comprendida en la composición para su uso según la invención, preferentemente, en una dilución D12 y en una parte de aproximadamente 0,05% (0,55 mg de dilución D12 en una ampolla de 1,1 g).

La expresión "*Myosotis arvensis* dilución D3", como se usa en este documento, se refiere a una dilución de *Myosotis arvensis* que se utiliza para la preparación de la composición para su uso según la presente invención. Dicha dilución de *Myosotis arvensis* es un extracto alcohólico que puede obtenerse según el procedimiento 1.1.5 de la farmacopea europea o procedimiento 3a de la farmacopea homeopática alemana. El experto en la materia sabe bien cómo llevar a cabo el procedimiento. Preferentemente, el extracto de *Myosotis arvensis* a utilizar de acuerdo con la composición para el uso de la presente invención se prepara de la siguiente manera: se obtiene una tintura madre de las partes aéreas frescas de *Myosotis arvensis* L. en el momento de la floración, que contienen aceite esencial o resina, o generalmente menos de 60 % de humedad (que se pierde al secar). Posteriormente, materiales adecuados, basados en hierbas, se desmenuzan, se mezclan con una cantidad de etanol al 90% (V/V) por no menos de la mitad de la masa del material basado en hierba. La cantidad exacta de etanol que se añade debe calcularse según la siguiente fórmula: masa de material basado en hierba (kg) multiplicado por el porcentaje de pérdida al secar (esto puede determinarse analizando la pérdida durante el secado de una muestra del material basado en hierba), multiplicado por un factor de 2 y dividido entre 100. La mezcla se conserva posteriormente en recipientes cerrados a temperatura ambiente (no superior a 20 °C) durante al menos diez días removiendo de vez en

cuando. La mezcla se expresa y el líquido resultante se filtra. El filtrado se ajusta con etanol (70% V/V). La cantidad de etanol de dicho ajuste se calcula de la siguiente manera: masa de filtrado (kg) multiplicado por [porcentaje de residuo seco o porcentaje de contenido de ensayo necesario según la monografía] dividido entre [porcentaje de residuo seco o contenido de ensayo necesario según la monografía]. La mezcla ajustada se deja reposar a temperatura ambiente (no superior a 20 °C) durante al menos 5 días y, de forma opcional, se filtra de nuevo para obtener la tintura madre. Aplicando el siguiente esquema de dilución pueden prepararse diluciones D de la tintura madre: se mezclan 3 partes de tintura madre con 7 partes de etanol (70% V/V) para obtener una dilución D1. Se mezcla 1 parte de la dilución D1 con 9 partes de etanol (50% V/V) para obtener una dilución D2. Posteriormente, se producen diluciones decimales según lo indicado para la D2. Preferentemente, la tintura madre de *Myosotis arvensis* a usar para la composición para su uso según la invención se caracteriza por los parámetros analíticos expuestos en la monografía respectiva. La dilución se mezcla con las otras diluciones. Después de potenciar dos veces la mezcla de las diluciones, la tintura madre mencionada anteriormente está comprendida en la composición para su uso según la invención, preferentemente, en una dilución D3 y en una parte de 0,05 % (m/m) (0,55 mg de dilución D3 en una ampolla de 1,1 g).

La expresión "*Nasturtium officinale* dilución D4", como se usa en el presente documento, se refiere a una dilución de *Nasturtium officinale* para utilizar para la preparación de la composición para su uso según la presente invención. Dicha dilución de *Nasturtium officinale* es un extracto alcohólico que puede obtenerse según el procedimiento 1.1.5 de la farmacopea europea o procedimiento 3a de la farmacopea homeopática alemana. El experto en la materia sabe bien cómo llevar a cabo el procedimiento. Preferentemente, el extracto de *Nasturtium officinale* a utilizar de acuerdo con la composición para el uso de la presente invención se prepara de la siguiente manera: se obtiene una tintura madre de las partes aéreas frescas de *Nasturtium officinale* R. Br. en el momento de la floración, que contienen aceite esencial o resina, o generalmente menos de 60 % de humedad (que se pierde al secar). Posteriormente, materiales adecuados, basados en hierbas, se desmenuzan, se mezclan con una cantidad de etanol al 90% (V/V) por no menos de la mitad de la masa del material basado en hierba. La cantidad exacta de etanol que se añade debe calcularse según la siguiente fórmula: masa de material basado en hierba (kg) multiplicado por el porcentaje de pérdida al secar (esto puede determinarse analizando la pérdida durante el secado de una muestra del material basado en hierba), multiplicado por un factor de 2 y dividido entre 100. La mezcla se conserva posteriormente en recipientes cerrados a temperatura ambiente (no superior a 20 °C) durante al menos diez días removiendo de vez en cuando. La mezcla se expresa y el líquido resultante se filtra. El filtrado se ajusta con etanol (70% V/V). La cantidad de etanol de dicho ajuste se calcula de la siguiente manera: masa de filtrado (kg) multiplicado por [porcentaje de residuo seco o porcentaje de contenido de ensayo necesario según la monografía] dividido entre [porcentaje de residuo seco o contenido de ensayo necesario según la monografía]. La mezcla ajustada se deja reposar a temperatura ambiente (no superior a 20 °C) durante al menos 5 días y, de forma opcional, se filtra de nuevo para obtener la tintura madre. Aplicando el siguiente esquema de dilución pueden prepararse diluciones D de la tintura madre: se mezclan 3 partes de tintura madre con 7 partes de etanol (70% V/V) para obtener una dilución D1. Se mezcla 1 parte de la dilución D1 con 9 partes de etanol (70% V/V) para obtener una dilución D2. Posteriormente, se producen diluciones decimales según lo indicado para la D2. Preferentemente, la tintura madre de *Nasturtium officinale* a usar para la composición para su uso según la invención se caracteriza por los parámetros analíticos expuestos en la monografía respectiva. La dilución se mezcla con las otras diluciones. Después de potenciar dos veces la mezcla de las diluciones, la tintura madre mencionada anteriormente está comprendida en la composición para su uso según la invención, preferentemente, en una dilución D4 y en una parte de 1,1 % (m/m) (1,10 mg de dilución D4 en una ampolla de 1,1 g).

La expresión "sulfato de sodio dilución D4" como se usa en el presente documento, se refiere a una dilución de sulfato de sodio que puede obtenerse según la correspondiente monografía de la farmacopea europea, es un producto de reacción de cloruro de sodio y ácido sulfúrico que contiene de 98,5 por ciento a 101,0 por ciento de sulfato de sodio (Na_2SO_4) que se produce a partir de cloruro de sodio (NaCl) y ácido sulfúrico (H_2SO_4) en un horno refrigerado con agua. El hidrato de sulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$) precipita. El producto se elimina por filtración y se purifica del agua por recristalización. Después, el hidrato de sulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$) se seca térmicamente. La solución D1 (líquida) puede obtenerse según la farmacopea europea procedimiento 3.1.1 o 5a de la farmacopea homeopática alemana utilizando etanol como vehículo. Dado que el material tiene una solubilidad insuficiente, la dilución D2 se produce directamente. 1 parte del material de partida se disuelve en 99 partes de etanol (18% V/V). Preferentemente, el sulfato de sodio a utilizar para la composición para su uso según la presente invención se caracteriza por los parámetros analíticos expuestos en la monografía respectiva. Después de mezclar la dilución con las otras diluciones y de potenciar dos veces, el sulfato de sodio está comprendido en la composición para su uso según la invención, preferentemente, en una dilución D4 y en una parte de aproximadamente 0,05 % (0,55 mg de dilución D4 en una ampolla de 1,1 g).

La expresión "*Pinus silvestris* dilución D4" como se usa en el presente documento se refiere a una dilución de *Pinus silvestris* a utilizar para la preparación de la composición para su uso según la presente invención. Dicha dilución de *Pinus silvestris* es un extracto alcohólico que puede obtenerse según el procedimiento 1.1.5 de la farmacopea europea o procedimiento 3a de la farmacopea homeopática alemana. El experto en la materia sabe bien cómo llevar a cabo el procedimiento. Preferentemente, el extracto de *Pinus silvestris* a utilizar de acuerdo con la composición para el uso de la presente invención se prepara de la siguiente manera: se obtiene una tintura madre de los brotes frescos de *Pinus silvestris* L. de hasta 50 mm de longitud, recogidos durante la temporada de cultivo. El material

contiene aceite esencial o resina, o generalmente menos de 60 % de humedad (que se pierde al secar). Posteriormente, materiales adecuados, basados en hierbas, se desmenuzan, se mezclan con una cantidad de etanol al 90% (V/V) por no menos de la mitad de la masa del material basado en hierba. La cantidad exacta de etanol que se añade debe calcularse según la siguiente fórmula: masa de material basado en hierba (kg) multiplicado por el porcentaje de pérdida al secar (esto puede determinarse analizando la pérdida durante el secado de una muestra del material basado en hierba), multiplicado por un factor de 2 y dividido entre 100. La mezcla se conserva posteriormente en recipientes cerrados a temperatura ambiente (no superior a 20 °C) durante al menos diez días removiendo de vez en cuando. La mezcla se expresa y el líquido resultante se filtra. El filtrado se ajusta con etanol (70% V/V). La cantidad de etanol de dicho ajuste se calcula de la siguiente manera: masa de filtrado (kg) multiplicado por [porcentaje de residuo seco o porcentaje de contenido de ensayo necesario según la monografía] dividido entre [porcentaje de residuo seco o contenido de ensayo necesario según la monografía]. La mezcla ajustada se deja reposar a temperatura ambiente (no superior a 20 °C) durante al menos 5 días y, de forma opcional, se filtra de nuevo para obtener la tintura madre. Aplicando el siguiente esquema de dilución pueden prepararse diluciones D de la tintura madre: se mezclan 3 partes de tintura madre con 7 partes de etanol (70% V/V) para obtener una dilución D1. Se mezcla 1 parte de la dilución D1 con 9 partes de etanol (50% V/V) para obtener una dilución D2. Posteriormente, se producen diluciones decimales según lo indicado para la D2. Preferentemente, la tintura madre de *Pinus silvestris* a usar para la composición para su uso según la invención se caracteriza por los parámetros analíticos expuestos en la monografía respectiva. La dilución se mezcla con las otras diluciones. Después de potenciar dos veces la mezcla de las diluciones, la tintura madre mencionada anteriormente está comprendida en la composición para su uso según la invención, preferentemente, en una dilución D4 y en una parte de 0,05 % (m/m) (0,55 mg de dilución D4 en una ampolla de 1,1 g).

La expresión "raíz de zarzaparrilla dilución D6", como se usa en el presente documento, se refiere a una dilución de raíz de zarzaparrilla (*Smilax*) a utilizar para la preparación de la composición para su uso según la presente invención. Dicha dilución de raíz de zarzaparrilla es un extracto alcohólico que puede obtenerse según el procedimiento 1.1.8 de la farmacopea europea o procedimiento 4a de la farmacopea homeopática alemana. El experto en la materia sabe bien cómo llevar a cabo el procedimiento. Preferentemente, el extracto de *Smilax* a utilizar de acuerdo con la composición para el uso de la presente invención se prepara de la siguiente manera: se obtiene una tintura madre de las partes subterráneas secas de *Smilax regelii* Kill. Et C.V. Morton y *Smilax medica* Schlechtend. et Cham. o de otras especies relacionadas. El macerado se prepara mezclando 1 parte de la planta seca desmenuzada y 10 partes de etanol de la concentración apropiada (70% V / V). La mezcla se deja reposar en un recipiente cerrado durante no al menos 10 días a una temperatura que no exceda los 25 °C. Después de la maceración, el disolvente de extracción se separa del residuo por decantación. Si es necesario, el residuo se expulsa. La cantidad exacta de etanol a añadir se calcula de acuerdo con la siguiente fórmula: masa de macerado (kg) multiplicado por la diferencia de [porcentaje de residuo seco o porcentaje de contenido de ensayo necesario según la monografía] - [porcentaje de residuo seco o porcentaje de contenido de ensayo del filtrado]. La cantidad calculada de etanol se mezcla con el filtrado. La mezcla ajustada se deja reposar a temperatura ambiente (no superior a 20 °C) durante al menos 5 días y, opcionalmente, se filtra de nuevo para producir la tintura madre. La tintura madre corresponde a la 1ª dilución decimal (D 1). Aplicando el siguiente esquema de dilución pueden prepararse diluciones D de la tintura madre: se mezcla 1 parte de la tintura madre con 9 partes de etanol (70% V/V) para obtener una dilución D1. Se mezcla 1 parte de la dilución D1 con 9 partes de etanol (50% V/V) para obtener una dilución D2. La tercera dilución decimal se produce en consecuencia. La cuarta dilución decimal se produce utilizando etanol (50% V/V) como vehículo. Preferiblemente, la tintura madre de *Smilax* que se utilizará para la composición para su uso de acuerdo con la invención se caracteriza por los parámetros analíticos expuestos en la monografía respectiva. La dilución se mezcla con las otras diluciones. Después de potenciar dos veces la mezcla de las diluciones, la tintura madre antes mencionada está comprendida en la composición para su uso según la invención, preferentemente, en una dilución D6 y en una parte de 0,05 % (m/m) (0,55 mg de dilución D6 en una ampolla de 1,1 g).

La expresión "*Scrophularia nodosa* dilución D3", como se usa en el presente documento, se refiere a la dilución de *Scrophularia nodosa* que se utiliza para la preparación de la composición para su uso según la presente invención. Dicha dilución de *Scrophularia nodosa* es un extracto alcohólico que puede obtenerse según el procedimiento 1.1.5 de la farmacopea europea o procedimiento 3a de la farmacopea homeopática alemana. El experto en la materia sabe bien cómo llevar a cabo el procedimiento. Preferentemente, el extracto de *Scrophularia nodosa* a utilizar de acuerdo con la composición para el uso de la presente invención se prepara de la siguiente manera: se obtiene una tintura madre de las partes aéreas frescas de *Scrophularia nodosa* L. antes de la floración que contienen aceite esencial o resina, o generalmente menos de 60 % de humedad (que se pierde al secar). Posteriormente, materiales adecuados, basados en hierbas, se desmenuzan, se mezclan con una cantidad de etanol al 90% (V/V) por no menos de la mitad de la masa del material basado en hierba. La cantidad exacta de etanol que se añade debe calcularse según la siguiente fórmula: masa de material basado en hierba (kg) multiplicado por el porcentaje de pérdida al secar (esto puede determinarse analizando la pérdida durante el secado de una muestra del material basado en hierba), multiplicado por un factor de 2 y dividido entre 100. La mezcla se conserva posteriormente en recipientes cerrados a temperatura ambiente (no superior a 20 °C) durante al menos diez días removiendo de vez en cuando. La mezcla se expresa y el líquido resultante se filtra. El filtrado se ajusta con etanol (70% V/V). La cantidad de etanol de dicho ajuste se calcula de la siguiente manera: masa de filtrado (kg) multiplicado por [porcentaje de residuo seco o porcentaje de contenido de ensayo necesario según la monografía]

dividido entre [porcentaje de residuo seco o contenido de ensayo necesario según la monografía]. La mezcla ajustada se deja reposar a temperatura ambiente (no superior a 20 °C) durante al menos 5 días y, de forma opcional, se filtra de nuevo para obtener la tintura madre. Aplicando el siguiente esquema de dilución pueden prepararse diluciones D de la tintura madre: se mezclan 3 partes de tintura madre con 7 partes de etanol (70% V/V) para obtener una dilución D1. Preferentemente, la tintura madre de *Scrophularia nodosa* a usar para la composición para su uso según la invención se caracteriza por los parámetros analíticos expuestos en la monografía respectiva. La dilución se mezcla con las otras diluciones. Después de potenciar dos veces la mezcla de las diluciones, la tintura madre mencionada anteriormente está comprendida en la composición para su uso según la invención, preferentemente, en una dilución D3 y en una parte de 0,05 % (m/m) (0,55 mg de dilución D3 en una ampolla de 1,1 g).

La expresión "*Teucrium scorodonia* dilución D3", como se usa en el presente documento, se refiere a la dilución de *Teucrium scorodonia* a utilizar para la preparación de la composición para su uso según la presente invención. Dicha dilución de *Teucrium scorodonia* es un extracto alcohólico que puede obtenerse según el procedimiento 1.1.5 de la farmacopea europea o procedimiento 3a de la farmacopea homeopática alemana. El experto en la materia sabe bien cómo llevar a cabo el procedimiento. Preferentemente, el extracto de *Teucrium scorodonia* a utilizar de acuerdo con la composición para el uso de la presente invención, se prepara de la siguiente manera: se obtiene una tintura madre de las partes aéreas frescas de *Teucrium scorodonia* L. en el momento de la floración, que contienen aceite esencial o resina, o generalmente menos de 60 % de humedad (que se pierde al secar). Posteriormente, materiales adecuados, basados en hierbas, se desmenuzan, se mezclan con una cantidad de etanol al 90% (V/V) por no menos de la mitad de la masa del material basado en hierba. La cantidad exacta de etanol que se añade debe calcularse según la siguiente fórmula: masa de material basado en hierba (kg) multiplicado por el porcentaje de pérdida al secar (esto puede determinarse analizando la pérdida durante el secado de una muestra del material basado en hierba), multiplicado por un factor de 2 y dividido entre 100. La mezcla se conserva posteriormente en recipientes cerrados a temperatura ambiente (no superior a 20 °C) durante al menos diez días removiendo de vez en cuando. La mezcla se expresa y el líquido resultante se filtra. El filtrado se ajusta con etanol (70% V/V). La cantidad de etanol de dicho ajuste se calcula de la siguiente manera: masa de filtrado (kg) multiplicado por [porcentaje de residuo seco o porcentaje de contenido de ensayo necesario según la monografía] dividido entre [porcentaje de residuo seco o contenido de ensayo necesario según la monografía]. La mezcla ajustada se deja reposar a temperatura ambiente (no superior a 20 °C) durante al menos 5 días y, de forma opcional, se filtra de nuevo para obtener la tintura madre. Aplicando el siguiente esquema de dilución pueden prepararse diluciones D de la tintura madre: se mezclan 3 partes de tintura madre con 7 partes de etanol (70% V/V) para obtener una dilución D1. Preferentemente, la tintura madre de *Teucrium scorodonia* a usar para la composición para su uso según la invención se caracteriza por los parámetros analíticos expuestos en la monografía respectiva. La dilución se mezcla con las otras diluciones. Después de potenciar dos veces la mezcla de las diluciones, la tintura madre mencionada anteriormente está comprendida en la composición para su uso según la invención, preferentemente, en una dilución D3 y en una parte de 0,05 % (m/m) (0,55 mg de dilución D3 en una ampolla de 1,1 g).

La expresión "*Veronica officinalis* dilución D3", como se usa en el presente documento, se refiere a una dilución de *Veronica officinalis* que se utiliza para la preparación de la composición para su uso según la presente invención. Dicha dilución de *Veronica officinalis* es un extracto alcohólico que puede obtenerse según el procedimiento 1.1.3 de la farmacopea europea o procedimiento 2a de la farmacopea homeopática alemana. El experto en la materia sabe bien cómo llevar a cabo el procedimiento. Preferentemente, el extracto de *Veronica officinalis* a utilizar de acuerdo con la composición para el uso de la presente invención, se prepara de la siguiente manera: se obtiene una tintura madre de las partes aéreas frescas de *Veronica officinalis* L. en el momento de la floración, que contienen aceite esencial o resina, o generalmente menos de 60 % de humedad (que se pierde al secar). Posteriormente, materiales adecuados, basados en hierbas, se desmenuzan, se mezclan con una cantidad de etanol al 90% (V/V) por no menos de la mitad de la masa del material basado en hierba. La cantidad exacta de etanol que se añade debe calcularse según la siguiente fórmula: masa de material basado en hierba (kg) multiplicado por el porcentaje de pérdida al secar (esto puede determinarse analizando la pérdida durante el secado de una muestra del material basado en hierba), multiplicado por un factor de 2 y dividido entre 100. La mezcla se conserva posteriormente en recipientes cerrados a temperatura ambiente (no superior a 20 °C) durante al menos diez días removiendo de vez en cuando. La mezcla se expresa y el líquido resultante se filtra. El filtrado se ajusta con etanol (50% V/V). La cantidad de etanol de dicho ajuste se calcula de la siguiente manera: masa de filtrado (kg) multiplicado por [porcentaje de residuo seco o porcentaje de contenido de ensayo necesario según la monografía] dividido entre [porcentaje de residuo seco o contenido de ensayo necesario según la monografía]. La mezcla ajustada se deja reposar a temperatura ambiente (no superior a 20 °C) durante al menos 5 días y, de forma opcional, se filtra de nuevo para obtener la tintura madre. Aplicando el siguiente esquema de dilución pueden prepararse diluciones D de la tintura madre: se mezclan 2 partes de tintura madre con 8 partes de etanol (50% V/V) para obtener una dilución D1. Preferentemente, la tintura madre de *Veronica officinalis* a usar para la composición para su uso según la invención se caracteriza por los parámetros analíticos expuestos en la monografía respectiva. La dilución se mezcla con las otras diluciones. Después de potenciar dos veces la mezcla de las diluciones, la tintura madre mencionada anteriormente está comprendida en la composición para su uso según la invención, preferentemente, en una dilución D3 y en una parte de 0,05 % (m/m) (0,55 mg de dilución D3 en una ampolla de 1,1 g).

Preferentemente, la composición que se aplicará según la presente invención se prepara mezclando los principios anteriormente mencionados de la siguiente manera: para una ampolla de 1,1 g, se mezclan *Aranea diadematus* dilución D6 (0,55 mg), fosfato de calcio dilución D12 (0,55 mg), *Equisetum hiemale* redilución de extracto de hierba D4 (0,55 mg), yoduro de hierro dilución D12 (1,10 mg), *Fumaria officinalis* dilución D4 (0,55 mg), *Gentiana lutea* dilución D5 (0,55 mg), *Geranium robertianum* dilución D4 (1,10 mg), Levotiroxina dilución D12 (0,55 mg), *Myosotis arvensis* dilución D3 (0,55 mg), *Nasturtium officinale* dilución D4 (1,10 mg), sulfato de sodio dilución D4 (0,55 mg), *Pinus silvestris* dilución D4 (0,55 mg), raíz de zarzaparrilla dilución D6 (0,55 mg), *Scrophularia nodosa* dilución D3 (0,55 mg), *Teucrium scorodonia* dilución D3 (0,55 mg) y *Veronica officinalis* dilución D3 (0,55 mg) según el procedimiento 16 del Organon of Homeopathy ("Homöopathisches Arzneibuch" HAB), edición 2011. La mezcla obtenida se potencia dos veces con agua para inyección según procedimiento 11 del HAB en combinación con el procedimiento 5.1.1, de la farmacopea europea/ 40a, HAB. En una etapa posterior, la mezcla potenciada se mezcla con agua para inyección según el procedimiento 16, HAB. Para regular la osmolaridad del producto, se añade cloruro de sodio y se disuelve mezclando. Después de liberar, el volumen se filtra en una bolsa estéril de un solo uso utilizando un filtro *thyrus* con un tamaño promedio de los poros de las membranas de 0,2 µm y se carga con una rellena en ampollas de vidrio. Las ampollas se esterilizan en salas esterilizadoras de gran tamaño según procedimiento de la farmacopea europea El etiquetado de las ampollas con etiquetas autoadhesivas (aplicación de calor) se realiza utilizando etiquetadoras.

Más preferentemente, una composición que puede utilizarse para el tratamiento y/o prevención de linfedema según la presente invención es la composición Lymphomyosot N®. Sin embargo, dicha composición de Lymphomyosot N® es para aplicar en una dosis que es al menos 18 veces mayor que la dosis recomendada para las aplicaciones homeopáticas.

La dosificación exacta, recomendada individualmente, en principio, puede depender de otros parámetros bien conocidos por los expertos en la materia. Por ejemplo, los niños pueden recibir una dosis diferente en comparación con los adultos. El experto en la materia, utilizando diversas herramientas de cálculo muy conocidas, puede determinar sin más preámbulos si la dosis debe adaptarse.

La composición se formulará y/o utilizará o administrará al sujeto cada dos los días, de manera que los componentes se proporcionen en las diluciones anteriormente mencionadas en una dosis correspondiente a una dosis de 0,25 ml/kg de peso corporal del sujeto. La dosis experimental más baja en ratones fue 17,5 veces mayor que el uso estándar homeopático en seres humanos que se había definido en otra parte del presente documento. Por tanto, suponiendo un peso corporal de 20 g por ratón, Lymphomyosot N® se aplicó a una dosis de 0,25 ml/kg cada dos días. El tratamiento de una dosis equivalente en un ser humano que presenta un peso corporal de unos 70 kg sería de un mínimo de 17,5 ml cada dos días. Preferentemente, la dosis mencionada anteriormente puede proporcionarse mediante una sola administración (bolo) o puede realizarse mediante más de una etapa de administración dentro del día. Por otra parte, también se contempla que la dosis se proporcione, preferentemente, utilizando dispositivos de liberación continua que proporcionan una administración continua de la dosis durante el día. En la técnica se sabe cómo puede formularse la composición de una manera apropiada para ofrecer la dosis diaria mencionada anteriormente. Por ejemplo, pueden administrarse dosis bajas proporcionando composiciones que comprenden los principios de la composición para el uso de la presente invención y, preferentemente, la composición comercial Lymphomyosot N®, puede administrarse repetidamente y, por tanto, proporcionar la dosis requerida. Como alternativa, puede proporcionarse una composición enriquecida con los principios individuales. Preferentemente, dicha composición proporcionaría la dosis después de la administración en un solo bolo.

Como se ha comentado anteriormente, la composición para el uso de la presente invención también puede incluir principios adicionales, tales como principios farmacéuticamente activos. Se contempla con preferencia una composición para su uso según la invención como se ha descrito anteriormente. Dicho principio adicional farmacéuticamente activo es la especie *Juglans regia* u otras especies del género *Juglans*. Más preferentemente, se utiliza *Juglans regia* dilución D3. Dichos principios adicionales pueden estar comprendidos en la propia composición, es decir, ser un componente de la mezcla, o pueden formularse para una aplicación combinada como una entidad físicamente distinta de manera que la composición real para el tratamiento del linfedema se forme realmente durante el proceso combinado de administración en el sujeto.

La expresión "*Juglans regia* dilución D3", como se usa en el presente documento, se refiere a una dilución del fruto, corteza/hoja de *Juglans regia* para utilizar en la preparación de la composición para su uso según la presente invención. Dicha dilución de *Juglans regia* es un extracto alcohólico puede obtenerse según el procedimiento 1.1.5 de la farmacopea europea o procedimiento 3a de la farmacopea homeopática alemana. El experto en la materia sabe bien cómo llevar a cabo el procedimiento. Preferentemente, el extracto de *Juglans regia* a utilizar de acuerdo con la composición para el uso de la presente invención, se prepara de la siguiente manera: se obtiene una tintura madre de la piel verde fresca del fruto y de las hojas de *Juglans regia* L. ssp Regia, que contienen aceite esencial o resina, o generalmente menos de 60 % de humedad (que se pierde al secar). Posteriormente, materiales adecuados, basados en hierbas, se desmenuzan, se mezclan con una cantidad de etanol al 90% (V/V) por no menos de la mitad de la masa del material basado en hierba. La cantidad exacta de etanol que se añade debe calcularse según la siguiente fórmula: masa de material basado en hierba (kg) multiplicado por el porcentaje de pérdida al secar (esto puede determinarse analizando la pérdida durante el secado de una muestra del material basado en hierba), multiplicado por un factor de 2 y dividido entre 100. La mezcla se conserva posteriormente en

recipientes cerrados a temperatura ambiente (no superior a 20 °C) durante al menos diez días removiendo de vez en cuando. La mezcla se expresa y el líquido resultante se filtra. El filtrado se ajusta con etanol (70% V/V). La cantidad de etanol de dicho ajuste se calcula de la siguiente manera: masa de filtrado (kg) multiplicado por [porcentaje de residuo seco o porcentaje de contenido de ensayo necesario según la monografía] dividido entre [porcentaje de residuo seco o contenido de ensayo necesario según la monografía]. La mezcla ajustada se deja reposar a temperatura ambiente (no superior a 20 °C) durante al menos 5 días y, de forma opcional, se filtra de nuevo para obtener la tintura madre. Aplicando el siguiente esquema de dilución pueden prepararse diluciones D de la tintura madre: se mezclan 3 partes de tintura madre con 7 partes de etanol (70% V/V) para obtener una dilución D1. Preferentemente, la tintura madre de *Juglans regia* a usar para la composición para su uso según la invención se caracteriza por los parámetros analíticos expuestos en la monografía respectiva. La dilución se mezcla con las otras diluciones. Después de potenciar dos veces la mezcla de las diluciones, la tintura madre mencionada anteriormente está comprendida en la composición para su uso según la invención, preferentemente, en una dilución D3 y en una parte de 0,05 % (m/m) (0,55 mg de dilución D3 en una ampolla de 1,1 g).

Ventajosamente, de acuerdo con la presente invención, se ha descubierto que una composición que comprende los principios anteriormente mencionados es ideal para el tratamiento y/o la prevención de linfodema cuando se aplica dentro de un determinado intervalo de dosificación fuera de la dosificación homeopática utilizada en las indicaciones médicas conocidas. En particular, una dosificación eficaz de acuerdo con la presente invención fue la dosificación de aprox. 17,5 (5 µl) veces utilizada en aplicaciones homeopáticas, es decir, una dosificación alta. En los estudios que subyacen a esta invención, se descubrió que Lymphomyosot N® reducía la inflamación tisular en un modelo de linfodema secundario de la cola del ratón. Los resultados sugieren que Lymphomyosot N® puede ser efectivo en el tratamiento y / o prevención del linfodema en humanos. En particular, una dosificación eficaz según la presente invención fue que el aprox. 17,5 (5 ml) doblar dosis utilizado en usos homeopáticos, es decir, una dosis alta. En los estudios que esta invención, se encontró que Lymphomyosot N® reducir inflamación en un modelo de cola de ratón de linfodema secundario del tejido. Los resultados sugieren que Lymphomyosot N® puede ser eficaz en el tratamiento y/o la prevención de linfodema en seres humanos.

También se escribe un medicamento que comprende una composición, en la que dicha composición comprende:

- i) *Aranea diadematus* dilución D6;
- ii) Fostato de calcio dilución D12;
- iii) *Equisetum hiemale* redilución de extracto de hierba D4;
- iv) *Yoduro de hierro* dilución D12;
- v) *Fumaria officinalis* dilución D4;
- vi) *Gentiana lutea* dilución D5;
- vii) *Geranium robertianum* dilución D4;
- viii) Levotiroxina dilución D 12;
- ix) *Myosotis arvensis* dilución D3;
- x) *Nasturtium officinale* dilución D4;
- xi) Sulfato de sodio dilución D4;
- xii) *Pinus silvestris* D4 dilución;
- xiii) Raíz de zarzaparrilla dilución D6;
- xiv) *Scrophularia nodosa* dilución D3;
- xv) *Teucrium scorodonia* dilución D3; y
- xvi) *Veronica officinalis* dilución D3,

y

en la que dicha composición a administrar proporciona la composición en una cantidad que corresponde a la cantidad proporcionada por al menos aproximadamente de 0,125 a 0,25 ml por kg de peso corporal del sujeto a tratar cada dos días.

Preferentemente, dicha composición proporciona cada principio ya sea en una cantidad de tintura madre potenciada (columna: "cantidad de potencia") o en una cantidad de tintura madre (columna: "cantidad de tintura madre") como se indica en la siguiente Tabla 1.

Tabla 1: cantidades de principio activo en Lymphomyosot N®

Principio	Potencia	Cantidad de potencia en peso	Cantidad de tintura madre en peso
<i>Myosotis arvensis</i>	D3	0,55 mg	1,65 µg
<i>Veronica officinalis</i>	D3	0,55 mg	1,1 µg
<i>Teucrium scorodonia</i>	D3	0,55 mg	1,65 µg

(continuación)

Principio	Potencia	Cantidad de potencia en peso	Cantidad de tintura madre en peso
<i>Pinus sylvestris</i>	D4	0,55 mg	0,165 µg
<i>Gentiana lutea</i>	D5	0,55 mg	0,0165 µg
<i>Equisetum hiemale</i>	D4	0,55 mg	0,11 µg
<i>Smilax</i>	D6	0,55 mg	0,0055 µg
<i>Scrophularia nodosa</i>	D3	0,55 mg	1,65 µg
Fosfato de calcio	D12	0,55 mg	0,55 x10 ⁻¹² µg
Sulfato de sodio	D4	0,55 mg	0,055 µg
<i>Fumaria officinalis</i>	D4	0,55 mg	0,11 µg
Levotiroxina	D12	0,55 mg	0,55 x10 ⁻¹² µg
<i>Aranea diadema</i>	D6	0,55 mg	0,0055 µg
<i>Geranium robertianum</i>	D6	1,1 mg	0,0022 µg
<i>Nasturtium officinale</i>	D4	1,1 mg	0,33 µg
Yoduro de hierro	D12	1,1 mg	1,1 x10 ⁻¹² µg
Nota: Las cantidades de tintura madre potenciada o de tintura madre se calculan para una ampolla de 1,1 g.			

El término "medicamento", como se usa en el presente documento, se refiere a una composición farmacéutica que contiene los principios mencionados en una dosis terapéutica eficaz, como se indica en otras partes del presente documento y, preferentemente, al menos un transportador y/o diluyente farmacéuticamente aceptable. El medicamento puede formularse mediante diversas vías de administración expuestas con detalle en otras partes del presente documento. Una dosis terapéuticamente eficaz se refiere a las cantidades de los principios a utilizar para un medicamento para tratar y/o prevenir el linfedema. La eficacia terapéutica y la toxicidad del compuesto pueden determinarse mediante procedimientos farmacéuticos convencionales en cultivos celulares o en animales de experimentación, por ejemplo, puede calcularse la DE50 (dosis terapéuticamente eficaz en el 50% de la población) y la DL50 (dosis letal al 50% de la población). La relación entre efectos terapéuticos y tóxicos de dosis es el índice terapéutico, y puede expresarse como la relación DL50/DE50. El régimen de dosificación lo determinará el médico tratante y a través de otros factores clínicos. Como es bien conocido en la técnica médica, las dosificaciones para cualquier paciente dependen de muchos factores, entre los que se incluyen, el tamaño del paciente, el área de superficie corporal, la edad, el compuesto particular que se va a administrar, el sexo, el tiempo y la vía de administración, la salud general y otros fármacos que se administran al mismo tiempo. El avance puede supervisarse a través de una evaluación periódica. Las dosificaciones específicas indicadas en esta memoria descriptiva se calculan para sujetos de edad mediana y peso promedio (de aproximadamente 70 kg).

Los medicamentos específicos basados en la composición se preparan de una forma bien conocida en la técnica farmacéutica y comprenden los principios activos mencionados anteriormente en el presente documento mezclados o, de otra manera, asociados con al menos un transportador y/o diluyente farmacéuticamente aceptable. Para la fabricación de aquellos medicamentos específicos, generalmente los principios activos se mezclarán y, opcionalmente, se combinarán con un transportador o diluyente. Las formulaciones resultantes son para adaptarse al modo de administración. Los procedimientos para la formulación de un medicamento, como se indica en el presente documento, pueden implicar mezcla, granulación, compresión o disolución de los principios según corresponda formar la composición deseada. Se apreciará que la forma y el carácter del transportador o diluyente farmacéuticamente aceptable lo dictamina la cantidad de principio activo con que debe combinarse, la vía de administración y otras variables bien conocidas. Las recomendaciones en cuanto a la dosificación se indicarán en las instrucciones de prescriptores o usuarios con el fin de prever ajustes de la dosis según el receptor en cuestión. Finalmente, debe entenderse que la formulación de una composición como un medicamento se lleva a cabo en condiciones GMP estandarizadas o similares, con el fin de garantizar la calidad y seguridad farmacéutica y la efectividad del medicamento.

Se describe un procedimiento para la fabricación de un medicamento que comprende las etapas de:

(a) preparar una composición,

en la que dicha composición comprende:

- i) *Aranea diadematus* dilución D6;
- ii) Fosfato de calcio dilución D12;
- iii) *Equisetum hiemale* redilución de extracto de hierba D4;
- iv) *Yoduro de hierro* dilución D12;
- v) *Fumaria officinalis* dilución D4;
- vi) *Gentiana lutea* dilución D5;
- vii) *Geranium robertianum* dilución D4;
- viii) Levotiroxina dilución D 12;
- ix) *Myosotis arvensis* dilución D3;
- x) *Nasturtium officinale* dilución D4;
- xi) Sulfato de sodio dilución D4;
- xii) *Pinus silvestris* D4 dilución;
- xiii) Raíz de zarzaparrilla dilución D6;
- xiv) *Scrophularia nodosa* dilución D3;
- xv) *Teucrium scorodonia* dilución D3; y
- xvi) *Veronica officinalis* dilución D3,

y

en la que dicha composición a administrar proporciona la composición en una cantidad que corresponde a la cantidad proporcionada por al menos aproximadamente de 0,125 a 0,25 ml por kg de peso corporal del sujeto a tratar cada dos días; y

(b) formular dicha composición como un medicamento de una manera farmacéuticamente aceptable.

Cómo preparar los componentes antes mencionados se ha establecido con detalle en otras partes del presente documento. Por otra parte, se ha descrito ya cómo la composición puede formularse como medicamento para proporcionar la dosificación anteriormente contemplada.

Finalmente, se describe un procedimiento para el tratamiento de linfodema en un sujeto que lo padece, comprendiendo dicho procedimiento administrar a dicho sujeto una composición en una cantidad terapéuticamente eficaz, en la que dicha composición comprende

- i) *Aranea diadematus* dilución D6;
- ii) Fosfato de calcio dilución D12;
- iii) *Equisetum hiemale* redilución de extracto de hierba D4;
- iv) *Yoduro de hierro* dilución D12;
- v) *Fumaria officinalis* dilución D4;
- vi) *Gentiana lutea* dilución D5;
- vii) *Geranium robertianum* dilución D4;
- viii) Levotiroxina dilución D 12;
- ix) *Myosotis arvensis* dilución D3;
- x) *Nasturtium officinale* dilución D4;
- xi) Sulfato de sodio dilución D4;
- xii) *Pinus silvestris* D4 dilución;
- xiii) Raíz de zarzaparrilla dilución D6;
- xiv) *Scrophularia nodosa* dilución D3;
- xv) *Teucrium scorodonia* dilución D3; y
- xvi) *Veronica officinalis* dilución D3,

y

en la que dicha composición a administrar proporciona la composición en una cantidad que corresponde a la cantidad proporcionada por al menos aproximadamente de 0,125 a 0,25 ml por kg de peso corporal del sujeto a tratar cada dos días.

Cómo administrar la composición mencionada anteriormente ya se ha descrito con detalle en otras partes del presente documento. Por otra parte, el experto sabe cómo puede proporcionarse una cantidad terapéuticamente eficaz en una forma conveniente para el presente procedimiento. Detalles al respecto se encuentran en otras partes de esta memoria descriptiva.

FIGURAS

La **figura 1** muestra una reducción de la inflamación tisular y un aumento de la cicatrización de la herida en ratones tratados con una composición según la invención (Lymphomyosot N®). Se indujo linfodema en la piel de la cola del ratón durante un período de 30 días mediante una excisión quirúrgica amplia de 1 mm de la piel que quedó desprotegida. Se muestran sitios de lesión los días 3, 12 y 21 para el control y dosis de inyección de fármaco de 5 µl, 25 µl y 50 µl de arriba a abajo, respectivamente (A). Barra de escala en el panel inferior de la derecha = 5

mm. Gráficamente se representa la evolución de la inflamación de la cola (B) y el cierre de la herida (C) en el período de 30 días para las diferentes condiciones. Para los datos de inflamación (formación de linfodema), los diámetros de la cola se normalizan al diámetro promedio inicial (pre inflamación) de las colas dentro de cada grupo. Para los datos del cierre de la herida, las longitudes de la herida se normalizan a la longitud inicial de 1 mm de la herida. $n = 10$ por grupo. Una significación estadística alta del grupo tratado con una inyección de fármaco de 25 μ l en comparación con el grupo control ($p < 0,005$) se representa con *. La diferencia estadística entre el grupo de control y el tratado con 5 μ l se representa con # ($p < 0,05$) y # # ($p < 0,005$). La diferencia estadística entre el grupo tratado con 50 μ l y el grupo de control se representa con % ($p < 0,05$).

La **figura 2** muestra que una composición según la invención (Lymphomyosot N®) no aumenta la linfangiogénesis de capilares linfáticos. Se indujo linfodema en la piel de la cola del ratón mediante una excisión quirúrgica amplia de 1 mm de la piel que se protegió con un manguito de silicona. Se muestran imágenes de criosecciones gruesas marcadas con LYVE-1 (color gris) de la piel de la cola 10 días después de la cirugía de los ratones tratados con 25 μ l de solución salina (A) o fármaco (B). Barra de escala en el panel inferior de la derecha = 0,5 mm. La línea discontinua blanca vertical en A y B marca el límite distal entre el tejido original y el regenerado. El gráfico muestra la distancia de la migración capilar linfática al interior de la región de regeneración en los grupos tratados con solución salina y fármaco (C). No hubo diferencias estadísticas entre estos grupos. $n = 10$.

La **figura 3** muestra que una composición según la invención (Lymphomyosot N®) no aumenta la linfangiogénesis de vasos linfáticos. Los ganglios linfáticos axilares del ratón se extirparon y los vasos linfáticos de la pata delantera se visualizaron con verde de indocianina mediante una linfangiografía (gris). Se muestra una pata delantera de control no intervenida (A), patas delanteras de ratón intervenidas que recibieron 25 μ l de solución salina el día 10 (B) y el día 15 (C) y patas delanteras de ratón intervenidas que recibieron 25 μ l de fármaco al día 10 (D) y el día 15 (E). La flecha gris identifica una señal de fluorescencia en la axila. $n = 5$ por grupo.

La **figura 4** muestra que una composición según la invención (Lymphomyosot N®) modula la infiltración de macrófagos durante una cicatrización experimental de heridas. Se indujo linfodema en la piel de la cola del ratón mediante una excisión quirúrgica amplia de 1 mm de la piel que se colocó a 10 mm de la base de la cola y quedó desprotegida. Se muestran imágenes de fluorescencia del marcador de macrófagos F4/80 (A-c) (el antígeno inmunodetectado en cada imagen se muestra en gris). Se detectaron macrófagos en secciones de tejido edematoso linfático de la piel de la cola del ratón tratado con solución salina (A), 25 μ l de fármaco (B) o 50 μ l de fármaco (C). La epidermis de la piel se localiza en la parte superior de cada imagen. Barra de escala en el panel inferior de la derecha de C = 1 mm. El borde de la herida está a la izquierda de cada imagen (no mostrado). La dirección distal está a la derecha de cada imagen. El color gris de cada imagen son núcleos celulares marcados con DAPI. La medición del porcentaje de cobertura de macrófagos para los diferentes tratamientos (D) demostró inhibición de la acumulación de macrófagos en el tejido inflamado por el tratamiento con el fármaco. $n = 10$ por grupo. Una diferencia significativa en relación con la condición de control se indica con * ($p < 0,05$).

La **figura 5** muestra imágenes de ratones en las posiciones decúbito supino y decúbito prono tomadas inmediatamente después de realizar la eutanasia el día 30 en ratones que se habían sometido a cirugía según el modelo 1. Se muestran los ratones que habían recibido 50 μ l de solución salina (A) y ratones que habían recibido 5 μ l (B), 25 μ l (C) o 50 μ l (D) de inyecciones de Lymphomyosot N®. En la piel de los ratones que recibieron una dosis de fármaco de 5 μ l (B) se observa un color (gris) amarillento, pero la decoloración fue más pronunciada en los ratones que recibieron una dosis de fármaco de 25 μ l. En la piel de los ratones que recibieron la dosis de 50 μ l no se observó decoloración. $n = 10$ por grupo.

Ejemplos

Ejemplo 1: Procedimientos generales y materiales

Se utilizaron ratones hembra balb/c (Laboratorios Jackson; de 6-8 semanas de vida). Para realizar los procedimientos quirúrgicos, los ratones se anestesiaron con isoflurano al 2,5 % mezclado con gas oxígeno y murieron por asfixia con CO₂ a criterios de valoración experimentales. El *Animal Care and Use Committee of Michigan Technological University* aprobó todos los protocolos.

Modelo 1 - Linfodema en la cola: cicatrización normal de las heridas:

Se creó un edema en la piel de la cola en ratones balb/c realizando una escisión de una banda circular de 1 mm de la dermis (que contenía la red capilar linfática) a 1 cm desde la base de la cola, dejando intactos huesos, músculos, tendones y vasos sanguíneos importantes subyacentes, similar a estudios previos (Rutkowski 2006, Microvasc Res 72:161-71; J Biomech 32:1297 Swartz 1999-307). Los ratones se dividieron en cuatro grupos (diez ratones por grupo) para medir la inflamación de cola y el cierre de la herida y recibieron inyecciones i.p. de 5, 25 o 50 microlitros de Lymphomyosot N® o 50 microlitros de solución salina el día de la cirugía y después cada dos días hasta realizar la eutanasia el día 30. Un grupo distinto de ratones se dividió en tres grupos (diez ratones por grupo) y recibió inyecciones i.p. de 25 o 50 microlitros de Lymphomyosot N® o 50 microlitros de solución salina el día de la cirugía y después cada dos días hasta realizar la eutanasia el día 9 para el análisis de acumulación de macrófagos en la piel de la cola inflamada.

Modelo 2 - Linfoedema en la cola: cicatrización de la herida cubierta:

Se creó un modelo de reparación de tejido sin cicatriz/mejorado de edema de la piel de la cola en ratones balb/c retirando la dermis como se describió anteriormente, con la región de regeneración colocada en la mitad de la cola. Después de la lesión, la región de la herida se cubrió con un manguito de silicona permeable a gas, ajustado (similar al de estudios previos Ongstad 2010, Am J Physiol Heart Circ Physiol 299: 46-54; Boardman 2003, Circ Res 92: 801-8 Goldman 2007, AJP 292: 2176-83, Goldman 2005, Circ Res 96: 1193-9, Goldman 2007, FASEB J 21: 1003-12, Pytowski 2005, J Natl Cancer Inst 97: 14-21, Rutkowski 2006, Am. J Physiol Heart Circ Physiol 291: H1402-10) que protegía el sitio de la lesión, permitiendo que el tejido se reparase más rápidamente y de una manera relativamente sin cicatriz. La colocación de una herida circular cubierta en la mitad de la cola no produjo edema de la piel distal de la cola. Los ratones se dividieron en dos grupos (diez ratones por grupo) y recibieron una inyección i.p. de 25 microlitros de Lymphomyosot N® o de solución salina el día de la cirugía y después cada dos días hasta realizar la eutanasia el día 10 para el análisis de la migración capilar linfática.

Modelo 3 - Linfoedema en la pata delantera:

Se produjo un modelo murino de linfoedema en la pata delantera como se describió previamente en Tammela 2007, Nat Med 13: 1458-66. Ratones balb/c se anestesiaron con isoflurano al 2,5% mezclado con gas oxígeno. La pata delantera derecha del ratón recibió una inyección por vía subdérmica de azul de tripano al 1% para la detección de ganglios linfáticos axilares. Se realizó una incisión quirúrgica de 5 mm de longitud a través de la dermis a lo ancho de la axila en el lado derecho y, con un estereomicroscopio Olympus SZX7, se identificaron y extirparon los ganglios linfáticos axilares junto con partes visibles de vasos colectores pre y pos ganglionares. La dermis se suturó con hilo de sutura 6-0 (Harvard Apparatus, Holliston, MA) y se dejó que los ratones se recuperasen hasta el día 10 o 15. Los ratones se dividieron en dos grupos (10 ratones por grupo) y recibieron inyecciones i.p. de 25 microlitros de Lymphomyosot N® o solución salina el día de la cirugía y después cada dos días hasta realizar la eutanasia a los 10 (5 ratones por grupo) y 15 (5 ratones por grupo) días, para la obtención de imágenes IC-Green y análisis de regeneración de vasos linfáticos.

Inmunofluorescencia e inmunohistoquímica

Se cortaron muestras de cola del modelo 2 en criosecciones longitudinales de 10 o 150 µm y se inmunotifieron. La inmunotinción de las criosecciones de cola se realizó con anticuerpos contra LYVE-1 en las secciones gruesas para detectar células endoteliales linfáticas (CEL). Se utilizó un anticuerpo policlonal de cabra contra el receptor de hialuronano linfático específico LYVE-1 (Upstate, Charlottesville, VA) junto con un anticuerpo secundario Alexa Fluor 488 de burro anti cabra (Invitrogen). Se detectaron macrófagos en las criosecciones de 10 µm de la piel de la cola del ratón mediante el etiquetado del marcador específico de macrófagos F4/80 Austyn 1981, Eur J Immunol 11: 805-15). Se utilizó un anticuerpo anti-F4/80 biotinilado (Serotec) junto con estreptavidina conjugada con Alexa Fluor 555 (Invitrogen). Los núcleos celulares en las secciones marcadas con LYVE-1 y el marcador F4/80 se tiñeron con tinción de contraste con 4', 6-diamino-2-fenilindol (DAPI, Vector Laboratories, Burlingame, CA).

Medidas fisiológicas

Con una cámara a color DP71 montada en un estereomicroscopio, se tomaron imágenes de la cola del ratón del modelo de linfoedema cutáneo en regeneración no cubierto cada tres días para cada cola de ratón. La inflamación de la cola se determinó con el programa informático Metamorph midiendo los diámetros de la cola a partir de imágenes digitales de la cola inflamada distal al sitio de la herida. El cierre de la herida se midió a lo largo del eje longitudinal de la cola como la distancia entre el tejido de regeneración distal y proximal a través del sitio de la herida. El porcentaje de cobertura de macrófagos se determinó dentro de la piel inflamada distal a la herida, en secciones de tejido marcadas con F4/80, con un análisis de umbral utilizando el programa informático Metamorph.

Formación de imágenes de vasos linfáticos funcionales a través de linfangiografía con fluorescencia verde de indocianina (IC)

Se usó un sistema de formación de imágenes recientemente desarrollado por Eva M. Sevic-Muraca (Kwon 2007 Lymphat Res Biol 5: 219-31; Sevic-Muraca 2008, Radiology 246: 734-41; Sharma 2007, Am J Physiol Heart Circ Physiol 292: H3109-18) para detectar vasos linfáticos funcionales y ganglios linfáticos en la pata delantera del ratón. En la pata del ratón se inyectaron 5 microlitros de una solución de 5 mg/ml del colorante de infrarrojo cercano fluorescente verde de Indocianina (ICG; Akorn). La detección de ICG (verde de Indocianina) se realizó con un dispositivo de carga acoplada (CCD) de multiplicación de electrones (Hamamatsu, C9100-13). El ICG se iluminó con un conjunto de LED de 760 nm (Epitex Inc) colocado antes de que se usara un filtro de paso de banda de 760 nm (modelo 760FS10-50, Andover Corporation) para proporcionar la luz de excitación para activar el ICG. Se colocaron un filtro holográfico de rechazo de banda de muesca de 785 nm y 763 nm (modelo HNPF-785.0-2.0 y HNPF-763.0-2.0, Kaiser Optical Systems) y un filtro de paso de banda de calidad de imagen de 830 nm (modelo 830FS20-25, Andover Corporation) antes de que la lente de la cámara rechazara selectivamente la luz de excitación y pasara la longitud de onda de 830 nm emitida.

Procedimientos estadísticos

Se utilizaron al menos cinco animales utilizados para cada punto de datos. Para la mayoría de los puntos de datos se utilizaron diez animales. Los datos se presentan como medias con errores típicos (ET). Los valores de p se calcularon utilizando ANOVA o el ensayo de la t, como se indica.

5 Ejemplo 2: la administración de Lymphomyosot N® reduce la inflamación tisular

La capacidad de Lymphomyosot N® para reducir la inflamación tisular durante el linfodema e influir en la cicatrización de heridas se evaluó empleando un modelo experimental de linfodema. Tanto las heridas como el linfodema se indujeron en las colas de los ratones según el modelo 1 y la inflamación tisular se midió durante un período de 30 días en los ratones que recibieron 5, 25 o 50 microlitros de Lymphomyosot N® o 50 microlitros de solución salina, administrados mediante inyecciones i.p. (Figuras 1A y 1B). Se encontró una reducción en la inflamación de la cola en ratones que habían recibido 25 microlitros del fármaco en relación con el grupo que como control recibió solución salina. Las diferencias fueron muy significativas el día 9 y seguían siendo muy significativas durante todo el estudio ($p < 0,005$ por ANOVA). Además, en los ratones que habían recibido 5 microlitros de fármaco, se encontró una reducción de la inflamación de la cola durante 21-30 días. Esta diferencia fue muy significativa el día 24 ($p < 0,005$ por ANOVA) y significativa los días restantes ($p < 0,05$ por ANOVA). Las diferencias en cuanto al diámetro de la cola entre los ratones con linfoma edematoso que recibieron 50 microlitros de fármaco en relación con la administración de solución salina, no fueron significativas en ningún momento. Estos resultados demuestran que Lymphomyosot N® reduce la inflamación y facilita la cicatrización de la herida de la cola del ratón y que la dosis de 25 microlitros de Lymphomyosot N® fue la dosis más eficaz para reducir el diámetro de la cola, seguida por la dosis de 5 microlitros, no observándose ningún efecto con la dosis de 50 microlitros.

Ejemplo 3: la inflamación tisular reducida coincide con una mejor reparación de la herida

Recientemente, se demostró que la inflamación tisular en el modelo de linfodema de la cola de ratón empeoraba cuando la reparación de la herida quirúrgica se inhibía por neutralización combinada de la señalización del receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR, *vascular endothelial growth factor receptor*)-2 y VEGFR-3. Por el contrario, la inflamación mejoró cuando la reparación de la herida aumentada con un manguito de protección de silicona. La inhibición de la regeneración linfática a través de la neutralización de la señalización de VEGFR-2 o VEGFR-3 no alteró la resolución de la inflamación de la cola (Ongstad 2010, Am J Physiol corazón Circ Physiol 299:46-54). Estos resultados sugirieron que la inflamación tisular podía estar relacionada con la reparación de las lesiones relacionadas con el sistema linfático en lugar de, o además de, la linfangiogénesis en el sitio de la herida. Dado que en este estudio se encontró una reducción rápida en la inflamación tisular en las colas de los ratones tratados con Lymphomyosot N®, se examinó la obstrucción quirúrgica para la progresión de la reparación de la herida para determinar si la reparación de la herida estaba relacionada con la inflamación tisular. Con este fin, se cuantificó y comparó el cierre de la herida entre los diferentes grupos. Se encontró que la administración de 25 microlitros de Lymphomyosot N® aceleraba el cierre de la herida en relación con el tratamiento con solución salina (Figura 1). Las diferencias entre estos grupos fueron muy significativas el día 12 y seguían siendo muy significativas durante todo el estudio ($p < 0,005$ por ANOVA). También se encontró que la administración de 5 microlitros de Lymphomyosot N® aceleraba el cierre de la herida en relación con las heridas de control (Figura 1C). Estas diferencias fueron muy significativas el día 21 ($p < 0,005$ por ANOVA) y los días 24-30 ($p < 0,05$ por ANOVA). Por lo tanto, la mejor reparación de la herida (Figura 1) y la reducción del diámetro de la cola (Figura 1B) con Lymphomyosot N® parece ser temporalmente coincidente. Este hallazgo confirma que Lymphomyosot N® puede reducir la inflamación tisular aumentando la reparación de la herida de la obstrucción quirúrgica.

Ejemplo 4: Lymphomyosot N® no afecta a la regeneración de capilares o vasos linfáticos

Anteriormente se encontró que la reparación mejorada de la obstrucción quirúrgica promueve la linfangiogénesis funcional indirectamente, ya que el líquido intersticial y las células linfáticas tienen la capacidad de propagarse libremente a través de un puente de matriz restaurado, relativamente sin cicatriz, ((Ongstad 2010, Am J Physiol Heart Circ Physiol 299:46-54; Uzarski 2008, Am J Physiol Heart Circ Physiol 294:1326-34; Goldman 2007, AJP 292:2176-83). Para determinar si Lymphomyosot N® tenía un efecto directo sobre la linfangiogénesis, se produjo una región claramente definida de piel de regeneración sin cicatriz en la que se producía la linfangiogénesis capilar (según el modelo 2). En este modelo, la piel tratada tanto con Lymphomyosot N® como con solución salina de control, experimenta una reparación de la herida aumentada debido a la protección del sitio de la herida con un manguito de silicona. Por tanto, después del tratamiento con el fármaco, cualquier diferencia obtenida en cuanto a la migración de células linfáticas a través del sitio de la obstrucción quirúrgica se debería a una acción directa del fármaco en lugar de a una acción indirecta secundaria a una mejora de la reparación de la herida. A partir de un estudio anterior, se sabía que la migración linfática en la región de regeneración protegida podía detectarse en secciones inmunomarcadas 10 días después de la cirugía (Goldman 2007, FASEB J 21:1003-12). Para determinar la capacidad de Lymphomyosot N® para aumentar la regeneración capilar linfática, se prepararon grupos de ratones con regiones de regeneración cubiertas según el modelo 2 y recibieron una administración de 25 microlitros de fármaco o solución salina mediante inyecciones i.p. Después de realizar la eutanasia de los animales el día 10, se realizaron criosecciones de las regiones de regeneración, efectuando secciones gruesas para el inmunomarcado con LYVE-1 de las células endoteliales linfáticas y utilizando microscopía de fluorescencia tridimensional (Figura 2). Se

midió la distancia de la migración de las células endoteliales linfáticas en la región de regeneración de las secciones marcadas con LYVE-1 de todas las colas (Figura 2C). Las comparaciones efectuadas entre los grupos mostraron que el Lymphomyosot N® no aumentaba la distancia de la migración de las células endoteliales linfáticas ($p > 0,05$ con la prueba de la t de Student).

- 5 Dado que en los seres humanos el linfedema se produce principalmente por una alteración de vasos linfáticos más que por una alteración de capilares linfáticos, el objetivo era determinar si el Lymphomyosot N® podía actuar directamente sobre la regeneración de los vasos linfáticos. Para aclarar la capacidad de Lymphomyosot N® para aumentar la regeneración de vasos linfáticos, se extirparon los ganglios linfáticos axilares según el modelo 3. Los ratones se sometieron a cirugía para la disección de los ganglios linfáticos axilares y recibieron 25 microlitros de fármaco o de solución salina a través de inyecciones i.p. hasta obtener imágenes del sistema linfático de los animales vivos el día 10 o 15 con colorante verde de indocianina, IC, (5 ratones por grupo). Diez minutos después de una inyección de verde IC, en la pata delantera no intervenida del ratón podía observarse el radiomarcador linfoluminescente fluyendo desde el sitio de inyección en la pata, a través de un solo vaso linfático en la pata delantera y alcanzando el sitio del ganglio linfático axilar (Figura 3A – la flecha gris identifica la señal fluorescente en la axila), lo que significa transporte funcional del colorante fluorescente desde el sitio de inyección en la pata a la axila. Después de extirpar los ganglios linfáticos axilares en la pata delantera del ratón, se encontró una ausencia de acumulación de colorante en las axilas de los ratones tratados con fármaco y los tratados con solución salina el día 10, lo que indica mal funcionamiento de los vasos linfáticos en ambos grupos de ratones en ese momento (Figuras 3B y 3D). Por el contrario, en ambos grupos, el día 15 se recuperó la acumulación de colorante verde IC en el sitio de la axila (Figuras 3C y 3E) lo que indica un sistema de transporte del vaso linfático regenerado en la pata delantera del ratón. Los datos indican que Lymphomyosot N® no puede influir en el drenaje linfático por la regeneración de vasos linfáticos.

Ejemplo 6: Lymphomyosot N® modula la infiltración de macrófagos en el tejido inflamado

- 25 Dado que Lymphomyosot N® no tenía ningún efecto sobre la regeneración de los capilares o vasos linfáticos, se investigó si el fármaco podía reducir la inflamación tisular, actuando sobre las rutas inflamatorias, además de mejorar la reparación de heridas. Dado que se observó una reducción significativa de la inflamación el día 9 en el grupo tratado con 25 microlitros de fármaco, se indujo linfedema en la cola del ratón (según el modelo 1) y el día 9 se analizó la acumulación de macrófagos en las colas. Los ratones recibieron inyecciones i.p. de 25 o 50 microlitros de Lymphomyosot N® o 50 microlitros de solución salina (10 ratones por grupo). Se realizaron criosecciones de las colas recogidas y se inmunomarcaron contra el marcador F4/80 de macrófagos (Figura 2). Se encontró que la cobertura de macrófagos era más alta en el grupo de control tratado con solución salina y que se reducía significativamente en el grupo tratado con 25 microlitros de fármaco ($p < 0,05$, por ANOVA, Figura 4D). No hubo reducción en el grupo tratado con 50 microlitros de fármaco. Lymphomyosot puede haber acelerado la migración de los macrófagos fuera del tejido afectado en el momento en que se midió el tejido y/o se moduló su acumulación o se inhibió su acumulación.

Ejemplo 7: en la piel de los ratones tratados con Lymphomyosot N® se encontró una decoloración amarillenta

- 40 Durante toda el experimento, para producir los datos de la Figura 1, se puso de manifiesto una notable decoloración amarillenta en la piel en los ratones que recibían inyecciones de 25 microlitros de Lymphomyosot N® (Figura 5). Como en este grupo la decoloración se oscurecía con el paso del tiempo, en la piel de los ratones que recibían inyecciones de 5 microlitros de Lymphomyosot N® también se puso de manifiesto una decoloración amarillenta (figura 5B). Los ratones que recibían inyecciones de solución salina (Figura 5A) o inyecciones de 50 microlitros de Lymphomyosot N® (Figura 5D) no presentaban la decoloración en la misma medida. El origen de la decoloración no estaba claro, pero el color amarillento se inició en los genitales y se extendió hacia afuera con el paso del tiempo, decolorando la piel en sitios más distantes. Es posible que el contenido de orina alterado a consecuencia del tratamiento con Lymphomyosot N®, haya ocasionado la tinción amarilla de la piel del ratón.

REIVINDICACIONES

1. Una composición para su uso en el tratamiento y/o prevención de linfedema, en la que dicha composición comprende:

- 5 i) *Aranea diadematus* dilución D6;
- ii) Fosfato de calcio dilución D12;
- iii) *Equisetum hiemale* redilución de extracto de hierba D4;
- iv) Yoduro de hierro dilución D12;
- v) *Fumaria officinalis* dilución D4;
- vi) *Gentiana lutea* dilución D5;
- 10 vii) *Geranium robertianum* dilución D4;
- viii) Levotiroxina dilución D12;
- ix) *Myosotis arvensis* dilución D3;
- x) *Nasturtium officinale* dilución D4;
- xi) Sulfato de sodio dilución D4;
- 15 xii) *Pinus silvestris* dilución D4;
- xiii) Raíz de zarzaparrilla dilución D6;
- xiv) *Scrophularia nodosa* dilución D3;
- xv) *Teucrium scorodonia* dilución D3; y
- xvi) *Veronica officinalis* dilución D3,

20 y
en la que dicha composición se administra cada dos días en una cantidad de 0,25 ml por kg de peso corporal del sujeto a tratar.

25 2. La composición para su uso según la reivindicación 1, en la que dicha composición reduce la inflamación en el linfedema, fortaleciendo el proceso de regeneración tisular y por lo tanto la regeneración linfática funcional y/o acelerando/fortaleciendo la resolución del proceso inflamatorio.

3. La composición para su uso según la reivindicación 1 o 2, en la que dicho linfedema está asociado con disección de ganglios linfáticos o con lesión de vasos linfáticos.

4. La composición para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que dicha composición comprende al menos un principio adicional, farmacéuticamente activo, de *Juglans regia*.

30 5. La composición para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que dicha composición comprende adicionalmente un vehículo y/o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Fig. 1.

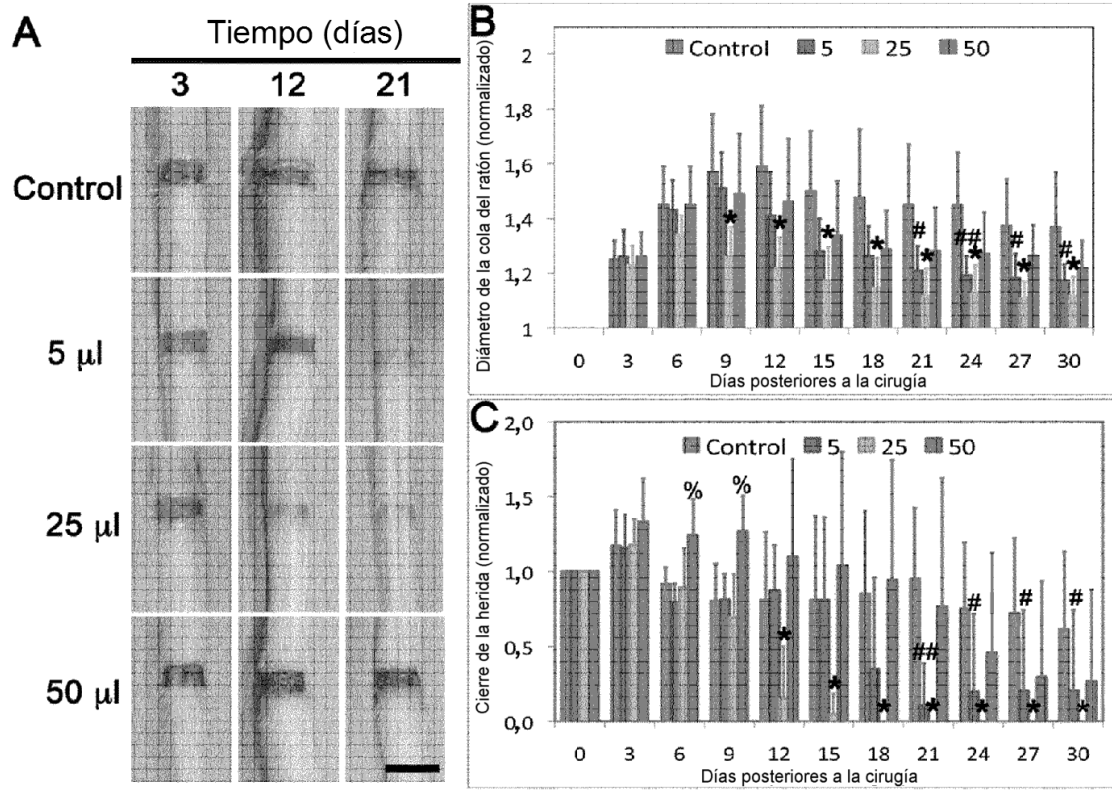


Fig. 2.

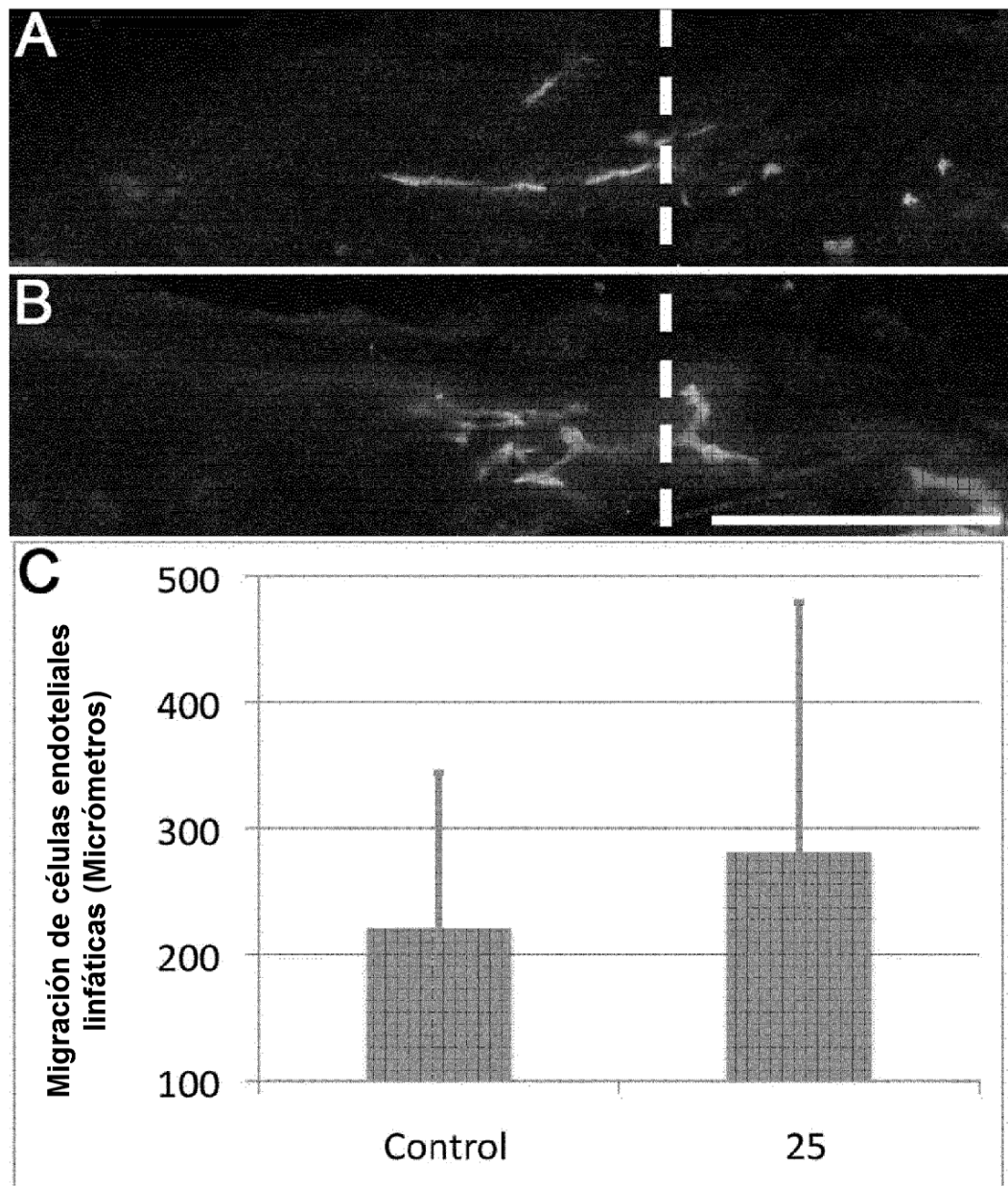


Fig. 3.

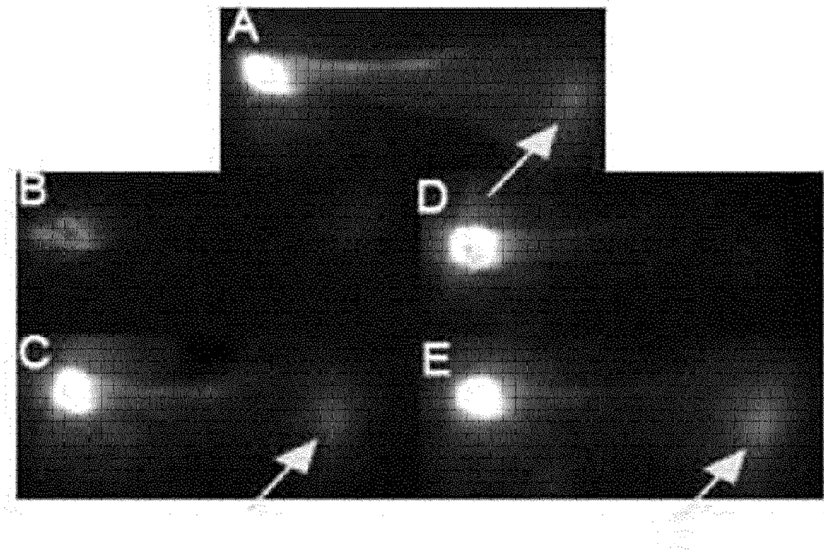


Fig. 4.

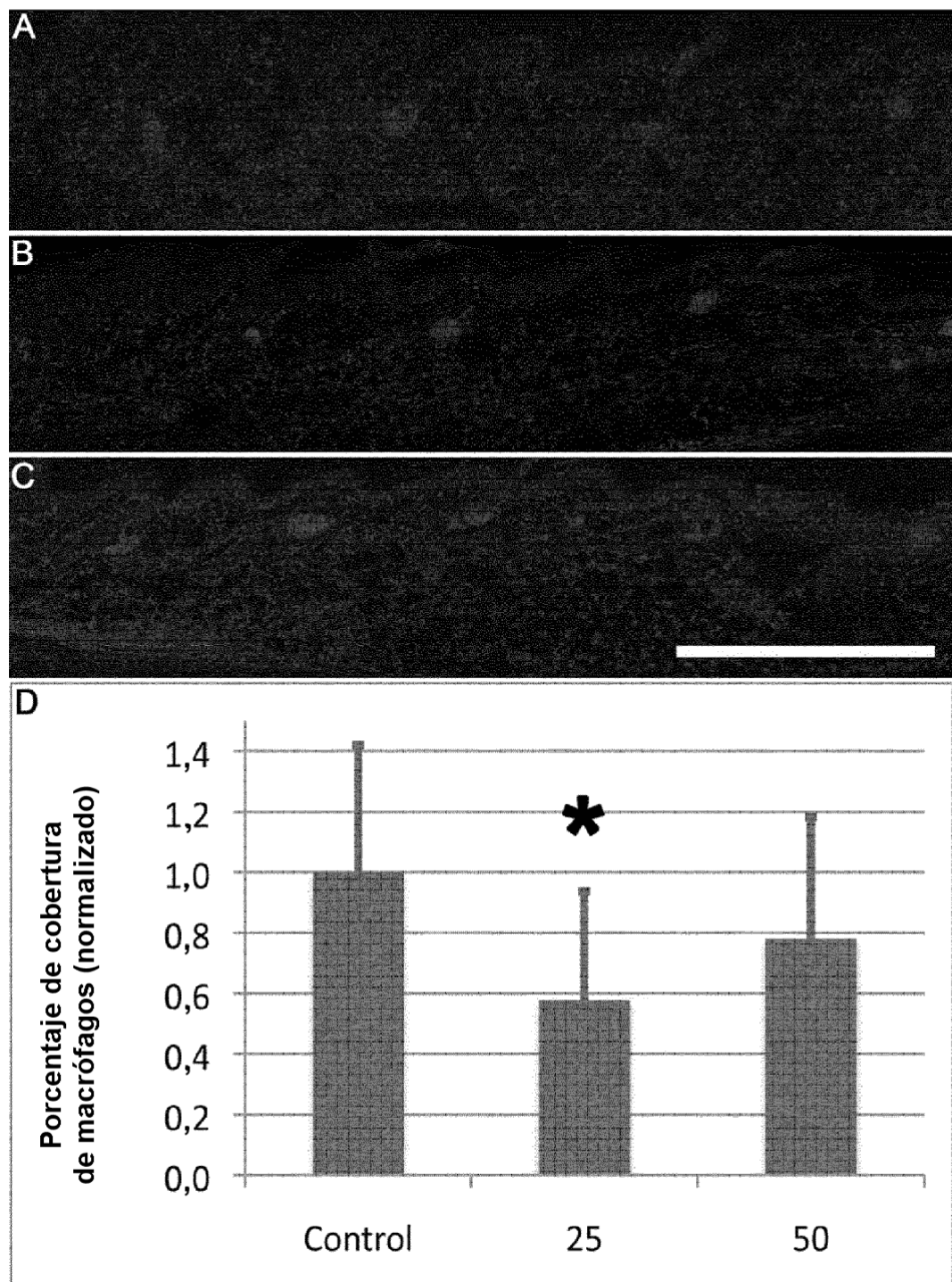


Fig. 5.

