

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 670 585**

51 Int. Cl.:

A61K 36/53 (2006.01)

A61K 36/537 (2006.01)

A61P 31/16 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.09.2010** **PCT/GB2010/001836**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.04.2011** **WO11045557**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.09.2010** **E 10760745 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.02.2018** **EP 2482831**

54 Título: **Composiciones de extractos botánicos y su uso**

30 Prioridad:

29.09.2009 GB 0917086

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
31.05.2018

73 Titular/es:

OLVOS SCIENCE S.A. (100.0%)
4 Eleftherias Street, Kifissia
14564 Athens, GR

72 Inventor/es:

CASTANAS, ELIAS;
PIRINTSOS, STERGIOS y
LIONIS, CHRISTOS

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

Observaciones :

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

ES 2 670 585 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composiciones de extractos botánicos y su uso

5 Campo de la invención

Esta invención se refiere generalmente al uso de extractos botánicos para tratar, prevenir o aliviar los síntomas de los virus de la gripe, particularmente la especie tipo A/H1N1, y la infección por coronavirus. Más específicamente, la invención proporciona composiciones de extractos botánicos que son adecuados para la preparación de composiciones farmacéuticamente activas para combatir las infecciones anteriormente mencionadas. También se proporcionan métodos para la preparación y la formulación de las composiciones.

Antecedentes de la invención

15 Las infecciones microbianas o víricas del tracto respiratorio superior son un problema común en todas las partes del mundo. Causan malestar, inconveniencia y, en casos extremos, padecimiento grave o incluso muerte. Debido a su frecuencia, también tienen un impacto económico significativo debido a la ausencia de enfermedad. Hay una necesidad en curso de tratamientos eficaces para tales afecciones.

20 La nueva gripe tipo A (H1N1), también conocida como "gripe porcina", es un virus de gripe que causa enfermedad en los seres humanos. El virus se puede pasar de persona a persona mediante exposición a gotas infectadas expulsadas por tos o estornudo que se pueden inhalar, o que pueden contaminar manos o superficies.

25 Ya que la gripe A (H1N1) es un nuevo virus, la mayoría de la gente tiene poca o no tiene inmunidad a él. Por consiguiente, este virus podría causar más infecciones que las vistas con la gripe estacional. La nueva gripe A (H1N1) parece ser tan contagiosa como la gripe estacional, y se ha propagado rápidamente, particularmente entre la gente joven (de 10 a 45 años).

30 Los síntomas de la gripe A (H1N1) son como los de la gripe, que incluyen fiebre, tos, dolor de cabeza, dolor muscular y de articulación, dolor de garganta y moqueo nasal, y algunas veces vómito y diarrea. La gravedad de la enfermedad oscila desde síntomas muy leves a enfermedad grave que puede dar como resultado la muerte. La mayoría de las personas que contraen el virus experimentan la enfermedad más leve y se recuperan sin tratamiento antivírico o cuidado médico. De los casos más serios, más de la mitad de las personas hospitalizadas tenían enfermedades subyacentes o sistemas inmunes débiles.

35 Los fármacos antivíricos pueden reducir los síntomas y la duración de la enfermedad, justo como hacen para la gripe estacional. También pueden contribuir a prevenir la enfermedad grave y la muerte.

40 Hay dos clases de fármacos antivíricos para la gripe: inhibidores de neuraminidasa tales como oseltamivir y zanamivir; y adamantanos, tales como amantadina y rimantadina. Los ensayos sobre los virus obtenidos de pacientes en México y los Estados Unidos han indicado que los actuales nuevos virus H1N1 son sensibles a inhibidores de neuraminidasa, pero resistentes a la otra clase, los adamantanos.

45 Ya se han detectado virus de la gripe de 2009 (H1N1) pandémica resistente a oseltamivir en Dinamarca, Hong Kong SAR, Japón y Canadá.

Las vacunas a nivel público son la herramienta más poderosa para el control de la gripe. Sin embargo, no se espera que la vacuna de la gripe estacional proteja frente a la nueva gripe H1N1, aunque en el momento de escribir la producción y el ensayo de la nueva vacuna de H1N1 es incompleto. Además, solamente se espera que ciertos grupos de la población reciban la nueva vacuna de H1N1 cuando primero llegue a estar disponible, por tanto se excluirán otros grupos de la población. Además, si la vacuna es recomendada para su uso a un grupo de la población, a aquellos que elijan la vacunación para ellos mismos o sus niños se les hará pruebas para las contraindicaciones de la vacunación (tales como alergia a huevos), y recibirán hojas de información que describen los riesgos y beneficios de la vacuna, posibles sucesos adversos asociados con la vacunación, y cómo informar de estos sucesos. Como resultado, se espera que algunos de estos rechacen la vacunación para ellos mismos o sus niños, y así más grupos de la población se añadirán a los excluidos. Dadas las limitaciones anteriores relacionadas tanto con los fármacos antivíricos para la gripe como con la nueva vacuna de H1N1, aún existe una necesidad de tratamiento, prevención o alivio de los síntomas que surgen a partir del virus de la gripe H1N1, así como otros virus de la gripe y otras infecciones microbianas o víricas del tracto respiratorio superior, tales como aquellas causadas por rinovirus, coronavirus y virus sincitial respiratorio humano.

50 Se han emprendido un número de estudios en relación con la actividad farmacéutica de los extractos botánicos. Por ejemplo, Loizzo y col, *Chemistry & Biodiversity* 5:461-470 (2008) investigó las actividades antivíricas de los aceites esenciales de siete especies vegetales encontradas en el Líbano, con particular referencia a los coronavirus SARS y al virus *Herpes simplex* tipo 1.

Los aceites esenciales se consideran que están entre los agentes antimicrobianos más importantes presentes en estas plantas, y también pueden tener actividades antioxidantes y antiinflamatorias. Los aceites volátiles son una mezcla compleja de compuestos, principalmente monoterpenos, sesquiterpenos y sus derivados oxigenados (alcoholes, aldehídos, ésteres, éteres, cetonas, fenoles y óxidos). Otros compuestos volátiles incluyen fenilpropanos y sustancias que contienen azufre o nitrógeno específicas. Para estudios detallados, véase Cowan, *Clinical Microbiology Reviews* 12:564-582 (1999) y Burt, *International Journal of Food Microbiology* 94:223-253 (2004).

Se sabe que los aceites esenciales obtenidos a partir de hierbas mediterráneas tradicionales poseen fuerte actividad antimicrobiana debido a su muy alto contenido de monoterpenos y compuestos oxigenados, tales como γ -terpineno, p-cimeno, timol y carvacrol (Liolios y col., *Food Chemistry* 112:77-83 (2009)).

Los aceites esenciales son hidrófobos y su sitio principal de actividad es la membrana celular. Se acumulan en la bicapa lipídica según un coeficiente de partición que es específico para el compuesto aplicado, conduciendo a la alteración de la estructura y función de la membrana (Pol & Smid, *Letters in Applied Microbiology*, 29:166-170 (1999)).

La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales se ha atribuido a sus monoterpenos constituyentes que, debido a su carácter lipófilo, actúan alterando la membrana citoplásmica microbiana, la cual pierde así su alta impermeabilidad para protones e iones mayores. Cuando se da la perturbación de la integridad de la membrana, entonces, se comprometen sus funciones, no solamente como barrera sino también como matriz para las enzimas y como transductor de energía (Cristiani y col, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55:6.300-6.308 (2007)).

Además, algunos aceites esenciales volátiles de hierbas culinarias comúnmente usadas, especias e infusiones también han presentado un alto nivel de actividad antivírica. Las plantas medicinales tienen una diversidad de constituyentes químicos, los cuales tienen la capacidad de inhibir el ciclo de replicación de diversos tipos de virus de ADN y ARN. Los compuestos de fuentes naturales son de interés como posibles fuentes para controlar la infección vírica. En este contexto diversos grupos de investigación en Asia, Extremo Oriente, Europa y América han dado particular atención al desarrollo de agentes antivíricos a partir de sus medicinas vegetales tradicionales nativas, véase Jassim y Naji, *J. Applied Microbiology* 95:412-427 (2003). Según estos autores, en el caso de los terpenoides (sesquiterpeno y triterpenoides) el mecanismo del efecto antivírico está relacionado con un mecanismo mediado por membrana y la inhibición de la síntesis de ADN vírico.

Compendio de la invención

La presente invención proporciona nuevas composiciones que comprenden ciertos extractos botánicos. Estas composiciones son activas frente al virus de la gripe H1N1 así como otros virus de gripe y otras infecciones microbianas o víricas del tracto respiratorio superior.

Por consiguiente, en un primer aspecto la invención proporciona una composición que comprende compuestos eficaces de extractos de las siguiente plantas:

- (a) *Coridothymus capitatus*;
- (b) *Origanum dictamnus*; y
- (c) al menos una de *Salvia fruticosa* o *Salvia pomifera*.

Dichos extractos son obtenibles por extracción hidroalcohólica y/o por hidrodestilación de las hojas de la planta.

Además de los anteriores principios activos las composiciones pueden comprender uno o más vehículos, diluyentes, excipientes o adyuvantes farmacéuticamente aceptables.

Las composiciones de la presente invención también se pueden usar junto con otros agentes terapéuticos/protectores o terapias adicionales comúnmente usadas para tratar la gripe y otras infecciones microbianas o víricas del tracto respiratorio superior, aumentando así el efecto terapéuticamente deseado.

Los extractos generalmente se usan en los siguientes porcentajes en volumen, basados en el volumen total de los extractos de las especies (a), (b) y (c):

- (a) *Coridothymus capitatus*: 40 a 80 %, preferiblemente 50 a 75 %, más preferiblemente 57 a 65 %;
- (b) *Origanum dictamnus*: 3 a 15 %, preferiblemente 5 a 12 %, más preferiblemente 7 a 9 %.
- (c) *Salvia fruticosa* y/o *Salvia pomifera*: 17 a 45 %, preferiblemente 20 a 38 %, más preferiblemente 28 a 34 %.

La composición más preferida comprende cantidades terapéuticamente eficaces de cuatro partes en volumen del extracto de la especie (a), dos partes en volumen del extracto de la especie (c) y media parte en volumen del extracto de la especie (b).

Aunque se ha sabido que los extractos de las especies (a), (b) y (c) demuestran beneficios para la salud cuando se administran individualmente, la presente invención se refiere a nuevas combinaciones de los extractos naturales. Se considera que las combinaciones presentan propiedades ventajosas más allá de las esperadas a partir de las propiedades de los componentes individuales.

En otro aspecto, esta invención se refiere a los extractos de las especies (a), (b) y (c) como se definieron anteriormente para su uso en la prevención o el tratamiento de la gripe o infección por coronavirus. Dichos extractos se pueden administrar simultáneamente o secuencialmente. La administración simultánea puede estar afectada al usar una composición de la invención.

En otro aspecto, esta invención se refiere a una combinación de los extractos de las especies (a), (b) y (c) como se definieron anteriormente, para su uso en terapia. La combinación puede tomar la forma de una composición de la invención.

En otro aspecto, esta invención se refiere a una combinación de los extractos de las especies (a), (b) y (c) como se definieron anteriormente, para su uso en la prevención o el tratamiento de la gripe o infección por coronavirus. La combinación puede tomar la forma de una composición de la invención.

En otro aspecto, esta invención se refiere al uso de los extractos de las especies (a), (b) y (c) como se definieron anteriormente, para la producción de un medicamento para la prevención o el tratamiento de la gripe o infección por coronavirus.

En otro aspecto, esta invención se refiere a un proceso que comprende las siguientes etapas:

- 1) proporcionar extractos de las especies (a), (b) y (c) como se definieron anteriormente; y
- 2) mezclar, en cualquier orden, los extractos y opcionalmente uno o más vehículos, diluyentes, excipientes o adyuvantes farmacéuticamente aceptables.

Si se desea, la mezcla puede estar encapsulada o si no hecha en una forma de dosificación unitaria, para facilitar de ese modo la administración conveniente.

Un mejor entendimiento de la invención se obtendrá a partir la siguiente descripción detallada de la invención, ya que se explica y ejemplifica en la descripción y las realizaciones ilustrativas.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra los intervalos para el contenido de los cuatro componentes esenciales principales de *Coridothymus capitatus* obtenidos a partir de 10 muestras diferentes.

La Figura 2 muestra los intervalos para el contenido de carvacrol, p-cimeno y γ-terpineno en *Origanum dictamnus* obtenidos a partir de 14 muestras diferentes.

La Figura 3 muestra los intervalos para el contenido de 1,8-cineol y b-tujona en *Salvia fruticosa* obtenidos a partir de 12 muestras diferentes.

La Figura 4 muestra los intervalos para el contenido de a-tujona y b-tujona y mirceno en *Salvia pomifera* obtenidos a partir de 9 muestras diferentes.

La Figura 5 es el resultado de una GC-MS de un extracto combinado hidrodestilado resultante de una mezcla de material vegetal seco de una composición preferida de la invención.

La Figura 6 proporciona un ejemplo de la capacidad antivírica de una mezcla de extracto preferida de la invención, mostrando como diagramas de barras el efecto de la mezcla de extracto sobre el Virus del Herpes Simple.

La Figura 7 es una gráfica que muestra la estabilidad de una preparación hidroalcohólica de un extracto preferido de la invención.

La Figura 8 es una gráfica que muestra la estabilidad de un extracto preferido de la invención en un vehículo de aceite de oliva.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere al uso de los extractos de las especies (a) *Coridothymus capitatus*, (b) *Origanum dictamnus*, y (c) *Salvia fruticosa* y/o *Salvia pomifera*, para prevenir o tratar la gripe e infección por coronavirus.

La combinación de extractos de las especies (a), (b) y (c) es especialmente preferida para el tratamiento de la gripe tipo A (H1N1).

Para una caracterización apropiada de dichas especies, se proporciona la siguiente información botánica:

Coridothymus capitatus (L.) Reichenb. fil. [syn. *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. & Link] es un arbusto enano de la familia Labiatae que a veces se refiere como "orégano español". Se encuentra por toda la región mediterránea y es el único miembro del género monoespecífico *Coridothymus*. Es un arbusto algo aromático, que crece hasta 50 cm, densamente ramificado con ramas erectas o ascendentes que tienen ramilletes de hojas axilares. Las hojas son lineales, bastantes carnosas, y punteadas de glándulas con un margen plano. Las flores son rosas púrpuras o rosas, 7 a 10 mm de largo, soportadas en inflorescencias bastantes oblongas terminales; las brácteas son verdes, con frecuencia matizadas de rojo, ovales, muy superpuestas para formar una cabeza cónica; el cáliz tiene 20 a 22 venas (10 a 13 en otros tomillos). La planta crece sobre terreno calizo, sobre caliza y marga en áreas montañosas, y sobre la llanura costera. La planta florece de mayo a octubre. Se recolecta a lo largo del año.

Origanum dictamnus [*Amaracus dictamnus*] es un arbusto enano denso, lanoso blanco, copetudo; las ramas se ramifican en la base, y crecen hasta 20 cm de largo. Sus hojas son redondeadas a ovales, no dentadas, de peciolo corto, grisáceas o blanquecinas, con venas en relieve conspicuas. Las flores son rosas, 8 a 11 mm de largo, soportadas en espiguillas oblongas pendientes, en pares opuestos sobre el tallo, con brácteas púrpuras muy superpuestas; la corola es en forma de tubo largo. La planta crece sobre lugares rocosos, particularmente grietas de acantilado, generalmente en sombra o semi-sombra. El periodo de floración es de junio a septiembre. Distribución: es una especie vegetal endémica de Creta. Nombres vulgares: en el dialecto cretense griego "Δικταμο", o en dialecto cretense "Ερωντας".

Salvia fruticosa es un arbusto bastante grisáceo fuertemente aromático que crece hasta 1,2 m con tallos peludos blanco. Sus hojas con frecuencia tienen 1 a 2 pares de lóbulos pequeños por debajo del principal. Las flores son lilas, rosas o algunas veces blancas, 16 a 25 mm de largo. En su ambiente natural crece como parte de los montes bajos maquias, garriga y varias otras comunidades vegetales abiertas, en lugares rocosos y barrancos, y en bordes de carretera. También crece como un arbusto de floración ornamental, que prefiere pleno sol, suelo bien drenado y buena circulación de aire. Periodo de floración: marzo-junio. Distribución: Italia, Sicilia y los Balcanes hacia el este, incluyendo Chipre. Debido a su amplia variación en la forma de la hoja, ha habido un gran acuerdo sobre la confusión taxonómica a lo largo de los años, siendo nombradas muchas de las variaciones de la hoja de *Salvia fruticosa* como especies distintas. Estas incluyen *S. libanotica*, *S. triloba*, *S. lobryana* y *S. cypria*, las cuales ahora se consideran que son *Salvia fruticosa*. La variación en la hoja depende del área geográfica. Por ejemplo, plantas que crecen sobre la parte oeste de Creta tienen hojas enteras con borde y márgenes planos y haces verdes oscuro. Las plantas que crecen sobre el lado este de la isla tienen hojas mucho más pequeñas, con borde verde amarillento profundamente trilobulado y márgenes ondulados. La variación continua por diferentes partes de Grecia. Añadiendo a la confusión sobre el nombre, la planta también se ha llamado *Salvia triloba*, como la nombró Carl Linnaeus en 1781, hasta que se descubrió que era la misma que la planta nombrada por Phillip Miller en 1768, recibiendo preferencia el nombre anterior según las convenciones de la nomenclatura vegetal. Los nombres vulgares incluyen "sage apple", "Khokh barri" y "Na'ama Hobeiq'es-sedr".

Salvia pomifera es como la *Salvia fruticosa*, pero sus hojas son ovales y las flores son azul violeta; su cáliz se alarga mucho en el fruto. Distribución: Sur de Grecia e Islas del Egeo. Según los anteriores taxonomistas, se separó en dos especies diferentes, *S. pomifera* y *S. calycina* Sm. Hedge (1982) (Hedge, I. C., 1982. *Salvia* L. En: Davis, P. H. (Ed.), "Flora of Turkey and the East Aegean islands" vol. 7, pp. 400-461. Edinburgh University Press, Edimburgo.) pone estas dos especies como sinónimos bajo *S. pomifera*, mientras que en otros planteamientos se consideraron subespecies de *S. pomifera*, viz. subsp. *pomifera* y subsp. *calycina* (Sm.) Hayek (véase Hayek, A., 1931. "Prodromus Florae Peninsulae Balcanicae", vol. 2. Verlag des Repertoriiums, Berlin.; Bothmer, R. von, 1970. *Bot. Notiser* 123:52-60.; Greuter y col. 1986. "Med-Checklist", vol. 3, Conservatoire et Jardin botaniques, Ginebra.). Sus principales diferencias conciernen a la forma de la hoja y el cáliz.

Todos los quimiotipos y genotipos de las especies (a), (b) y (c) están incluidos en la invención.

Generalmente, los extractos de las especies (a), (b) y (c) se usan en los siguientes porcentajes en volumen, basados en el volumen total de los extractos: (a) *Coridothymus capitatus*: 40 a 80 %, (b) *Origanum dictamnus*: 3 a 15 %, (c) *Salvia fruticosa* y/o *Salvia pomifera* 17 a 45 %. Preferidas son las realizaciones en las que el extracto de la especie (a) está presente en 50 a 75 %, el extracto de la especie (b) está presente en 5 a 12 % y/o el extracto de la especie (c) está presente en 20 a 38 %. Más preferidas son las realizaciones de la invención en las que el extracto de la especie (a) está presente en 57 a 65 %, el extracto de la especie (b) está presente en 7 a 9 % y/o el extracto de la especie (c) está presente en 28 a 34 %.

Los extractos botánicos de las especies preferiblemente se obtienen por extracción hidroalcohólica o hidrodestilación de las hojas de la planta. La extracción hidroalcohólica es un método conocido de extracción de aceites esenciales a partir de materiales vegetales y generalmente implica las siguientes etapas:

- (i) Las hojas de la planta se reducen a partículas pequeñas.
- (ii) A continuación, el material molido se mezcla con etanol acuoso (por ejemplo, a una concentración de etanol al 90 a 95 %) durante un tiempo adecuado a una temperatura adecuada, por ejemplo, en un aparato de Soxhlet. El líquido se separa del residuo sólido, por ejemplo, por filtración. Esta etapa se puede repetir uno o más veces, por ejemplo, hasta la decoloración del líquido antes de la filtración. Se pueden usar diferentes volúmenes de extracción; se ha encontrado que son adecuados alrededor de 40 ml de etanol por gramo de hojas molidas.
- (iii) El extracto filtrado se concentra por cualquier método adecuado, por ejemplo, usando evaporador rotatorio.

La hidrodestilación es otro método conocido de extracción de aceites esenciales a partir de materiales vegetales y generalmente implica las siguientes etapas:

- (i) Las hojas de la planta se reducen a partículas pequeñas.
- (ii) A continuación, el material molido se mezcla con agua durante un tiempo adecuado a una temperatura adecuada, por ejemplo, en un aparato Clenenger, según las normas para el uso apropiado del aparato.
- (iii) El extracto (destilado) se seca al aire por cualquier método adecuado y, a continuación, se almacena bajo refrigeración.

La extracción hidroalcohólica y el procedimiento de hidrodestilación da como resultado extractos que tienen una composición ligeramente diferente, pero ambos procedimientos se consideran que dan como resultado un extracto aceptable para los fines de la invención.

Las composiciones de la presente invención pueden actuar sobre el sistema inmune, mientras que su efecto antioxidante se ha documentado bien en los experimentos previos publicados por uno de los tres inventores; véase Lionis, y col., *The Lancet* 352:1.987-1.988 (1998). Los objetivos deseables de las composiciones farmacéuticas de esta invención son el tratamiento y/o la prevención de la gripe e infección por coronavirus.

El término "tratar" o "tratamiento" como se usa en el presente documento se refiere a cualquier tratamiento de un trastorno o enfermedad relacionada con infección microbiana o vírica en un sujeto e incluye, por ejemplo, prevención del trastorno o la enfermedad que se da en un sujeto que aún no ha sido diagnosticado que tiene el trastorno o la enfermedad, inhibiendo el trastorno o la enfermedad, por ejemplo, deteniendo el desarrollo del trastorno o la enfermedad, aliviando el trastorno o la enfermedad, por ejemplo, causando regresión del trastorno o la enfermedad, o aliviando la condición causada por la enfermedad o el trastorno, por ejemplo, aliviando los síntomas del trastorno o la enfermedad, y reduciendo la duración del trastorno.

Las composiciones de la presente invención se pueden administrar de cualquier manera convencional para el tratamiento de las enfermedades indicadas, incluyendo pero no limitándose a oral, parenteral, sublingual, transdérmica, rectal, o administración por inhalación o por administración bucal. Además, las composiciones de la presente invención se pueden formular para la administración parenteral por inyección o infusión continua. La composición según la invención se puede formular como una forma de liberación lenta o como una preparación de liberación prolongada (*depot*). La ruta de administración puede ser cualquier ruta que transporte eficazmente los extractos activos al sitio deseado sin dañar al destinatario.

Las composiciones de esta invención se pueden preparar en formas unitarias de dosificación convencionales que incorporan una mezcla de los extractos anteriormente mencionados, con diluyente, excipiente o adyuvante farmacéutico no tóxico, según los procedimientos aceptados, en una suficiente cantidad no tóxica para producir la actividad farmacológica deseada en un sujeto, animal o humano. Preferiblemente, la composición contiene los principios activos en una cantidad activa pero no tóxica que depende de la actividad biológica específica deseada y la condición del paciente.

El vehículo farmacéutico empleado puede ser, por ejemplo, o bien un sólido o un líquido. En el caso de un vehículo sólido, la preparación se puede claramente moler, micronizar o separar en nanopartículas, en aceite, transformar en comprimido, colocar en una cápsula de gelatina dura o revestida entérica en polvo micronizado o forma de píldora (*pellet*), o en forma de trocisco, pastilla para chupar o supositorio. Los vehículos sólidos representativos son lactosa, terra alba, sacarosa, talco, gelatina, agar, pectina, goma arábiga, estearato de magnesio, ácido esteárico, celulosa microcristalina, hidrogeles de polímero y similares.

En el caso de un vehículo líquido, la preparación puede estar en forma de un líquido, tal como una ampolla, o como una suspensión acuosa o líquida no acuosa mezclada con conservantes farmacéuticamente aceptables y similares. Los vehículos líquidos típicos son propilenglicol, soluciones acuosas de β -ciclodextrinas, jarabe, aceite de cacahuete y aceite de oliva y emulsiones y soluciones similares. Igualmente, el vehículo o el diluyente puede incluir cualquier material de retraso en el tiempo bien conocido en la técnica, tal como monoestearato de glicerol o diestearato de glicerol solo o con cera, microcápsulas, microesferas, liposomas y/o hidrogeles.

En una realización preferida, las composiciones se presentan en cápsulas de gel blando, usando aceite de oliva (preferiblemente aceite de oliva extra virgen) como vehículo.

La cantidad de extracto combinado a incluir en las formas de dosificación unitarias (por ejemplo, cápsulas) corresponde a la cantidad de extracto obtenible por extracción hidroalcohólica o hidrodestilación de 0,2 a 3 g; preferiblemente 0,5 a 1,7 g, más preferiblemente 0,7 a 1,0 g de una mezcla de material vegetal seco de las especies (a), (b) y (c), cuando en la proporción más preferida de cuatro partes en peso de material seco de la especie (a), media parte en peso del material seco de la especie (b) y dos partes en peso del material seco de la especie (c). En el caso de hidrodestilación, el intervalo de la cantidad de extracto combinado puro a incluir en cada forma de dosificación unitaria es preferiblemente 0,007 a 0,025 ml.

La proporción típica del extracto combinado y vehículo depende fuertemente del vehículo. En el caso de aceite extra virgen, corresponde a la cantidad de extracto combinado a incluir en la dosis unitaria en un ml máximo de aceite extra virgen.

La dosis diaria recomendada corresponde a una o dos dosis (en la forma de dosificación unitaria). En el caso de dos dosis por día se puede reducir la duración total del tratamiento.

Sección experimental

Ejemplo 1

Análisis de varios quimiotipos de las especies (a), (b) y (c) (incluyendo microconstituyentes)

Para determinar los constituyentes del aceite esencial de varios quimiotipos de las especies usadas (a), (b) y (c), incluyendo microconstituyentes, se realizó análisis de los extractos vegetales por GC-MS.

Tabla 1

	<i>Coridothymus capitatus</i>	<i>Origanum dictamnus</i>	<i>Salvia fruticosa</i>	<i>Salvia pomifera</i>
<i>trans</i> -2-hexenal		+		
α -Tujeno	+	+	+	
α -Pineno	+	+	+	+
Camfeno	+	+	+	+
Triciclono				+
β -Pineno	+	+	+	+
1-Octen-3-ol		+		+
3-Octanona	+			
Mirceno	+	+	+	+
3-Octanol	+	+		
α -Felandreno	+	+		
δ -3-careno		+		
<i>cis</i> -Deshidroxi linalool óxido	+			
α -Terpineno	+	+		+
<i>p</i> -Cimeno	+	+		+
Limoneno	+	+		+
1,8-Cineol			+	+
<i>trans</i> - β -ocimeno		+		
β -Felandreno	+			+
γ -Terpineno	+	+	+	+
hidrato de <i>cis</i> -sabineno	+	+	+	+
α -terpinoleno				+
Terpinoleno	+	+		
Linalool	+	+		
<i>a</i> -Tujona			+	+
<i>b</i> -Tujona			+	+
iso-borneol		+		+
hidrato de <i>trans</i> -sabineno	+	+		+
Alcanfor			+	+
<i>cis</i> - <i>p</i> -Ment-2-en-1-ol	+			
Acetato de bornilo				+
Borneol	+	+	+	
Terpinen-4-ol	+	+		
α -Terpineol	+		+	+
<i>cis</i> -Piperitol	+			
	Coridothymus	Origanum dictamnus	Salvia fruticosa	Salvia pomifera

	<i>Coridothymus capitatus</i>	<i>Origanum dictamnus</i>	<i>Salvia fruticosa</i>	<i>Salvia pomifera</i>
<i>trans</i> -2-hexenal		+		
	capitatus			
Timol metil éter	+			
<i>cis</i> -Dihidrocarvona		+		
<i>trans</i> -Dihidrocarvona		+		
Carvacrol metil éter	+	+		
1-Carvona		+		
Timoquinona	+			
Acetato de isobornilo	+			
<i>p</i> -Cimen-7-ol	+			
Timol	+	+		
Carvacrol	+	+		
Acetato de dihidrocarvilo		+		
α -Cubebeno		+		
Acetato de <i>cis</i> -carvilo		+		
α -Copaeno		+		
β -Burboneno		+		
β -Cubebeno		+		
4,8-alfa-epoxi cariofileno		+		
Cubebol				+
β -Cariofileno	+	+	+	
α -Humuleno	+	+	+	+
Epi-biciclosesquifelandreno		+		
Germacreno	+			
Germacreno D		+		
β -Bisaboleno	+	+		
α -Amorfeno		+		
α -Cadineno		+		
γ -Cadineno		+		
δ -Cadineno		+		
Trimetilbicyclo-octan-2-ona		+		
Óxido de cariofileno		+		+
T-cadinol		+		
Sabineno		+		+
Viridiflorol			+	

Ejemplo 2

- 5 Investigación de los componentes esenciales principales (% del aceite esencial total) registrados en varios quimiotipos de *Coridothymus capitatus*.

10 Se realizó el análisis de 10 preparaciones diferentes por GC-MS. Se incluyeron plantas recogidas en diferentes periodos del año. La Fig. 1 presenta el intervalo de cada constituyente fundamental en % del aceite esencial total en el extracto hidrodestilado. Los dos valores más alto en los intervalos corresponden al contenido de carvacrol y timol, mientras que los valores inferiores corresponden al contenido de γ -terpineno y *p*-cimeno. En el caso de carvacrol el intervalo es de 5 a 62,6 % y en el caso de timol de 0,3 a 34 %.

Ejemplo 3

- 15 Investigación de los componentes esenciales principales (% del aceite esencial total) registrados en varios quimiotipos de *Origanum dictamnus*

20 Se realizó el análisis de 14 preparaciones diferentes por cromatografía de gases. Se incluyeron plantas recogidas de diferentes áreas geográficas en diferentes periodos del año. La Fig. 2 presenta el intervalo de porcentaje de cada constituyente fundamental en el extracto hidrodestilado, como se ensayó por GC-MS. El intervalo en todos los casos es estrecho.

Ejemplo 4

- 25 Investigación de los componentes esenciales principales (% del aceite esencial total) registrados en varios quimiotipos de *Salvia fruticosa*

Se realizó el análisis de 12 preparaciones diferentes por GC-MS. Se incluyeron plantas recogidas de diferentes áreas geográficas en diferentes periodos del año. La Fig. 3 presenta el intervalo de cada constituyente fundamental en % del aceite esencial total en el extracto hidrodestilado. El intervalo de valores del contenido de 1,8-cineol era mayor que los valores correspondientes para b-tujona.

Ejemplo 5

Investigación de los componentes esenciales principales (% del aceite esencial total) registrados en varios quimiotipos de *Salvia pomifera*

Se realizó el análisis de 9 preparaciones diferentes por GC-MS. Se incluyeron plantas recogidas de diferentes áreas geográficas en diferentes periodos del año. La Fig. 4 presenta el intervalo de cada constituyente fundamental en % del aceite esencial en el extracto hidrodestilado. El intervalo de los valores para a- y b-tujona era mayor que los valores correspondientes para mirceno.

Ejemplo 6

La Fig. 5 muestra una señal de cromatografía de gases típica de un extracto combinado hidrodestilado de la composición preferida según la invención. Los compuestos identificados fundamentales se presentan en la Tabla 2. La identificación de los componentes principales se basó a) en el Tiempo de Retención de cada componente en relación con el Tiempo de Retención de los compuestos de referencia, b) los Espectros de la biblioteca de Wiley y NIST/NBS, c) datos bibliográficos (Massada, 1976, "Analysis of Essential Oils by Gas chromatography and Mass Spectrometry", Wiley, Nueva York, Adams, 2001; "Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy", Allured Publ. Corp., Carol Stream, IL, Bicchi y Joulain, 1990, *Flavour and Fragrance Journal* 5:131-145, Bruneton, 1993, "Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales". 2^a edn, Ed, Tec & Roc, París) y d) índices de Kováts (Van den Dool y Kratz, 1963 "Journal of Chromatography" 11:463-471)

Tabla 2

Composición del aceite esencial (% del aceite esencial total)		
Nº	Compuesto	%
1	α -Tujeno	0,02
2	α -Pineno	0,24
3	Camfeno	0,24
4	β -Pineno	0,13
5	1-Octen-3-ol	0,05
6	β -Mirceno	0,27
7	α -Felandreno	0,03
8	3-Careno	0,01
9	α -Terpineno	0,17
10	p-Cimeno	1,47
11	Eucaliptol	9,68
12	γ -Terpineno	1,16
13	Hidrato de <i>cis</i> -sabineno	0,05
14	Terpinoleno	0,07
15	Linalool	1,10
16	<i>cis</i> -Tujona	0,85
17	<i>trans</i> -Tujona	1,25
18	Alcanfor	8,93
19	<i>trans</i> -Pinocamfona	0,18
20	Borneol	3,31
21	Terpinen-4-ol	1,42
22	α -Terpineol	0,93
23	Terpineol	0,94
24	Verbenona	0,08
25	1,3,3,4-Tetrametil-2-oxabicyclo[2.2.0]hexano	0,10
26	Timol metil éter	0,53
27	Verbenona	0,72
28	β -Citral	0,04
29	Carvona	0,28
30	Acetato de bornilo	0,89
31	Timol	2,32

Composición del aceite esencial (% del aceite esencial total)		
Nº	Compuesto	%
32	Carvacrol	54,13
33	Acetato de α -terpineol	0,75
34	Eugenol	0,04
35	Acetato de timol	0,24
36	Acetato de nerilo	0,11
37	α -Copaeno	0,10
38	β -Burboneno	0,03
39	α -Gurjuneno	0,02
40	β -Cariofileno	3,06
41	Aromadendreno	0,15
42	α -Humuleno	0,47
43	γ -Muuroleno	0,10
44	α -Bisaboleno	0,26
45	γ -Cadineno	0,12
46	δ -Cadineno	0,27
47	Espatuleno	0,24
48	Óxido de cariofileno	1,29
49	Epiglobulol	0,80
50	Cubenol	0,03
51	tau.Cadinol	0,05
52	Epóxido de isoaromadendreno	0,28
	TOTAL	100

Ejemplo 7

La Fig. 6a proporciona un ejemplo de la capacidad antivírica de una mezcla de extracto preferida de la invención, mostrando la inhibición de unidades de formación de placa (ufp) de Virus del Herpes Simple (VHS) por ml de una muestra de células transfectadas. El efecto de una mezcla de extracto preferida de la invención sobre el Virus del Herpes Simple tipo 1 (VHS-1) inicialmente se determinó por ensayo de placa según los protocolos estándar. En resumen, las células BHK fueron infectadas por VHS-1 tipo silvestre en una multiplicidad de infección (MDI) 1 y se trataron, en paralelo, con diversas diluciones de la mezcla de extracto que oscilaban de 1 a 1/200. Las células se incubaron durante 24 horas, dejando suficiente tiempo para que el virus completara su ciclo vital. Posteriormente, los sobrenadantes de todos los pocillos se pasaron a células BHK frescas durante 1 hora y, a continuación, lo inóculos se separaron y reemplazaron con medio fresco que contenía suero humano anti-VHS-1. Se contó el número de placas víricas 48 horas después de la infección, que representan el número de unidades formadoras de placa por mililitro (ufp/ml).

La Fig. 6b presenta un diagrama de barras del % de las células infectadas víricas en presencia de una preparación de extracto preferida de la invención. El efecto antivírico se cuantificó por inmunofluorescencia indirecta, después del paso del sobrenadante anterior a las células BHK y tinción para una última proteína de VHS-1 (gG) 24 horas después de la infección. En cada tratamiento (dilución), el número de células infectadas se comparó con el número total de células y también relativamente con el número de células infectadas en ausencia del compuesto.

Ejemplo 8

La estabilidad de una preparación hidroalcohólica del extracto combinado más preferido se investigó en diferentes condiciones experimentales. El ensayo de Folin-Ciocalteu se usó para el análisis. Los resultados se presentan en la Fig. 7 como valor de porcentaje de la concentración fenólica inicial de la preparación. Las condiciones de ensayo eran las siguientes:

1. Temperatura ambiente, aire, luz ambiente
2. Temperatura ambiente, aire, oscuridad
3. 4 °C, aire, oscuridad
4. Temperatura ambiente, sellado, luz ambiente
5. Temperatura ambiente, sellado, oscuridad
6. 4 °C, sellado, oscuridad

Ejemplo 9

La estabilidad también se investigó del mismo extracto en un vehículo de aceite de oliva. El ensayo de Folin-Ciocalteu se usó para el análisis. Los resultados se presentan en la Fig. 8 como valor de porcentaje de la

concentración fenólica inicial de la preparación. Los valores del vehículo se sustrajeron sistemáticamente. Las condiciones de ensayo eran las siguientes:

1. Temperatura ambiente, aire, luz ambiente
2. Temperatura ambiente, aire, oscuridad
3. 4 °C, aire, oscuridad
4. Temperatura ambiente, sellado, luz ambiente
5. Temperatura ambiente, sellado, oscuridad
6. 4 °C, sellado, oscuridad

10

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende cantidades eficaces de extractos de:
 - 5 (a) *Coridothymus capitatus*;
 - (b) *Origanum dictamnus*; y
 - (c) al menos una de *Salvia fruticosa* o *Salvia pomifera*.
- 10 2. Una composición según la reivindicación 1 en la que dichos extractos son obtenibles por extracción hidroalcohólica de las hojas de la planta o hidrodestilación de las hojas de la planta.
3. Una composición según cualquier reivindicación precedente comprendiendo además uno o más vehículos, diluyentes, excipientes o adyuvantes farmacéuticamente aceptables.
- 15 4. Una composición según cualquier reivindicación precedente en la que los extractos están presentes en los siguientes porcentajes en volumen, basados en el volumen total de los extractos de las especies (a), (b) y (c): 40 a 80 % (a), 3 a 15 % (b) y 17 a 45 % (c).
- 20 5. Una composición según la reivindicación 4, que comprende 50 a 75 % del extracto de la especie (a), basado en el volumen total de los extractos de las especies (a), (b) y (c).
6. Una composición según cualquier reivindicación precedente que comprende 5 a 12 % del extracto de la especie (b), basado en el volumen total de los extractos de las especies (a), (b) y (c).
- 25 7. Una composición según cualquier reivindicación precedente que comprende 20 a 38 % del extracto de la especie (c), basado en el volumen total de los extractos de las especies (a), (b) y (c).
8. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en la que los extractos de las especies (a), (b) y (c) están presentes en la relación de cuatro partes en volumen del extracto de la especie (a), dos partes en volumen del extracto de la especie (c) y media parte en volumen del extracto de la especie (b).
- 30 9. Una combinación de los extractos de las especies (a), (b) y (c) como se definen en la reivindicación 1, para su uso en terapia.
- 35 10. Una combinación de los extractos de las especies (a), (b) y (c) como se definen en la reivindicación 1, para su uso en la prevención o el tratamiento de la gripe o infección por coronavirus.
11. Una combinación de los extractos de las especies (a), (b) y (c) como se definen en la reivindicación 1, para su uso en la prevención y el tratamiento de la especie de la gripe tipo A/H1N1.
- 40 12. El uso de los extractos de las especies (a), (b) y (c) como se definen en la reivindicación 1, para la producción de un medicamento para prevenir o tratar la gripe o infección por coronavirus.
13. Un proceso que comprende las siguientes etapas:
 - 45 1) proporcionar extractos de las especies (a), (b) y (c) como se definen en la reivindicación 1; y
 - 2) mezclar, en cualquier orden, los extractos y opcionalmente uno o más vehículos, diluyentes, excipientes o adyuvantes farmacéuticamente aceptables.
- 50 14. Un proceso como se define en la reivindicación 13 en el que los extractos se obtienen por extracción hidroalcohólica de las hojas de la planta o por hidrodestilación de las hojas de la planta.

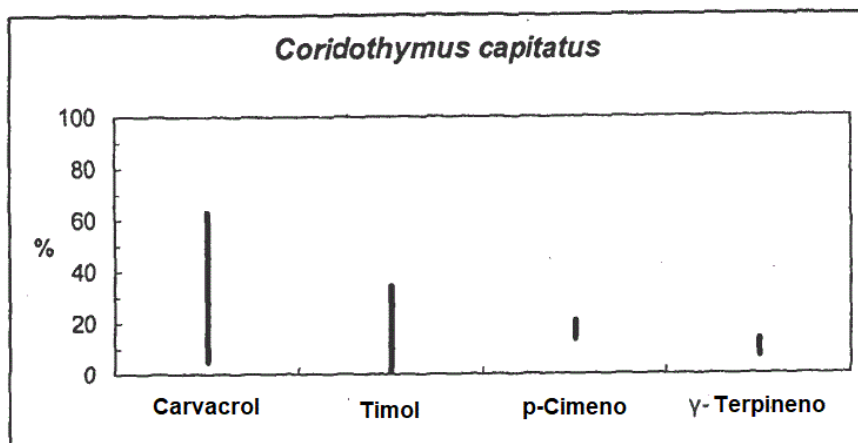


Fig. 1

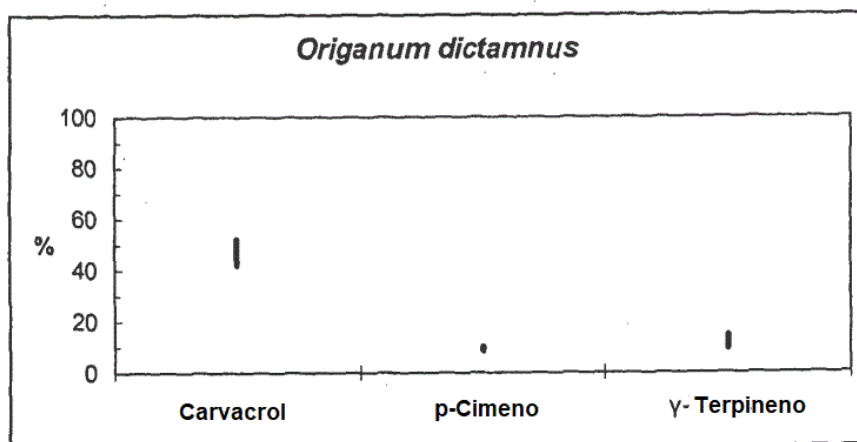


Fig. 2

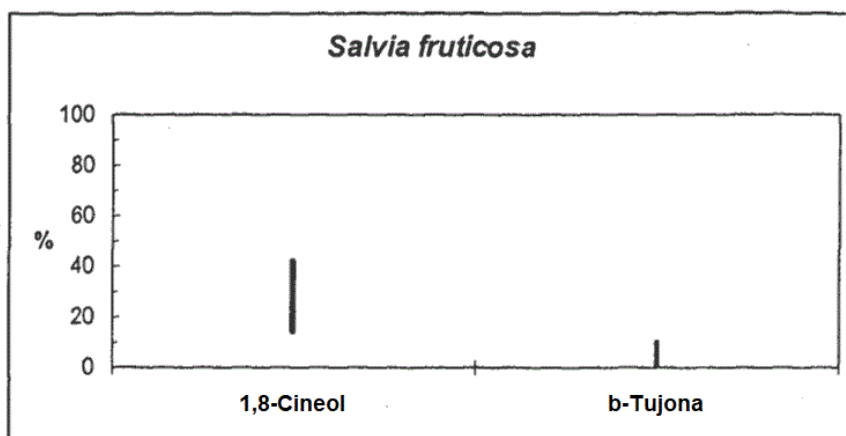


Fig. 3

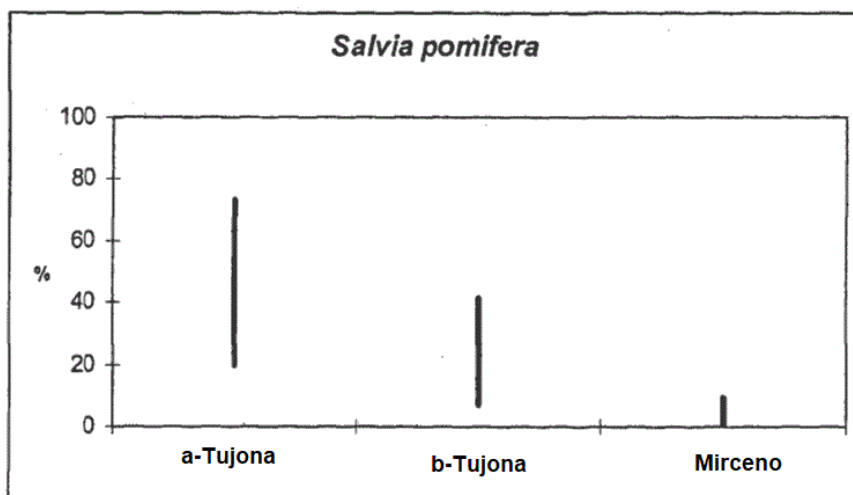


Fig. 4

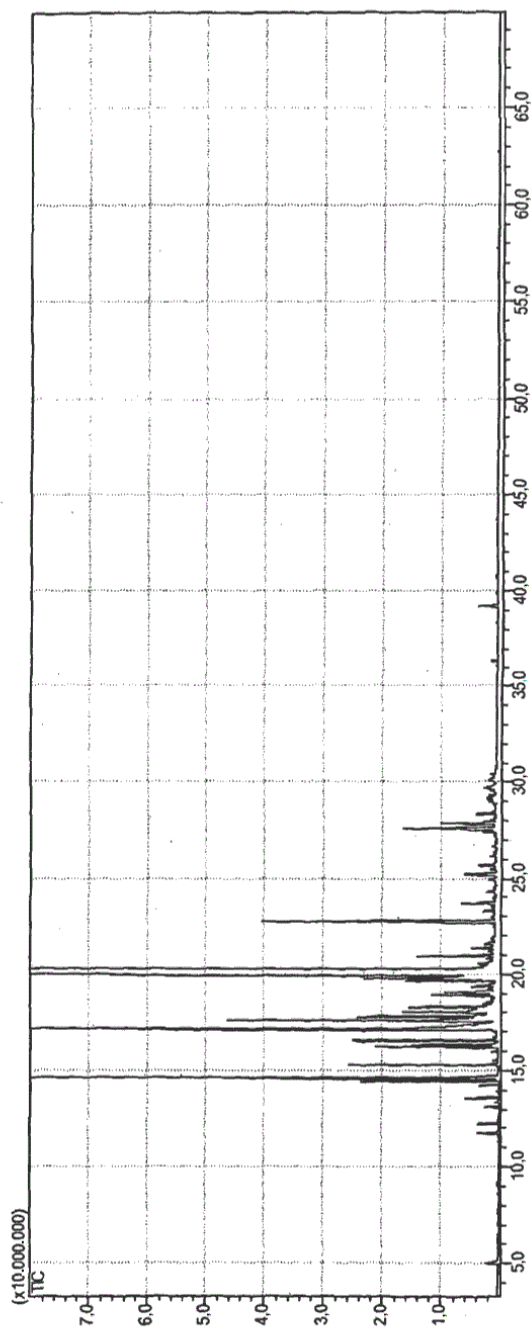


Fig. 5

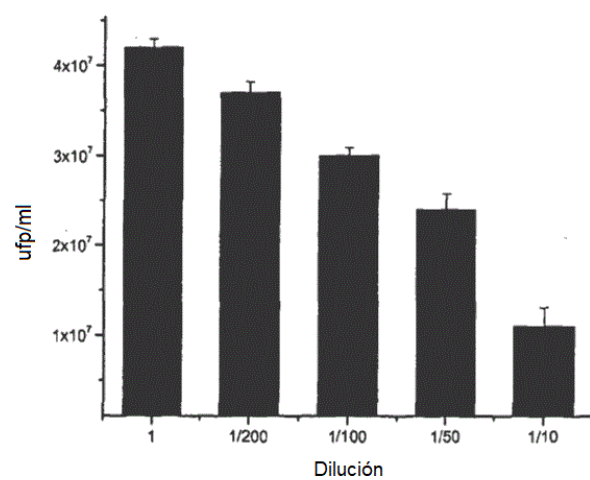


Fig. 6a

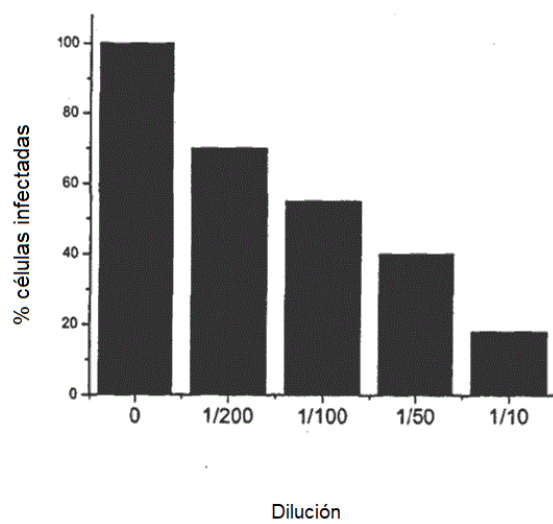


Fig. 6b

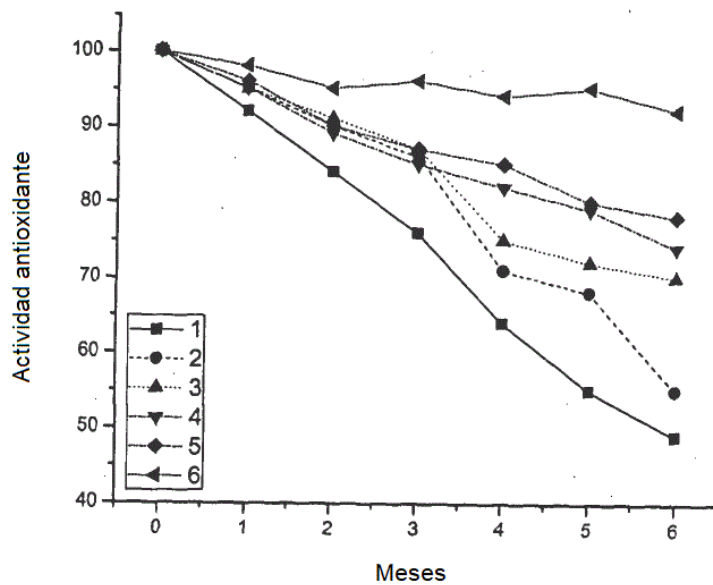


Fig. 7

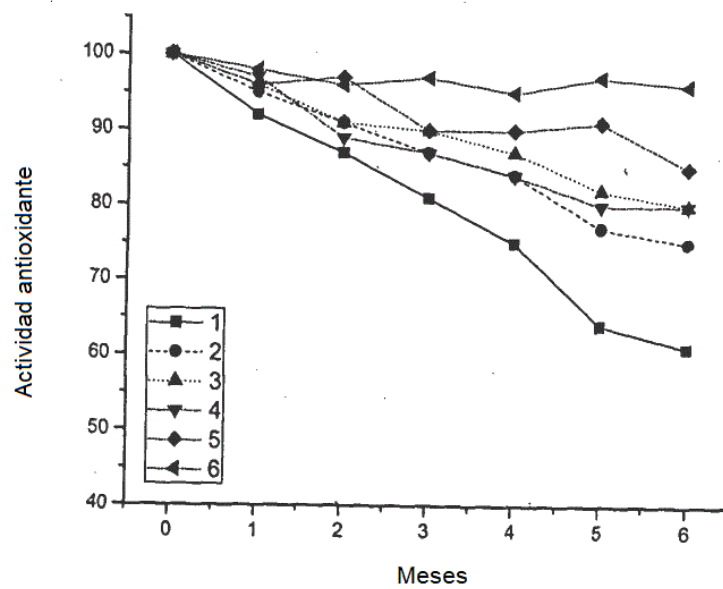


Fig. 8