

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 014 157**

51 Int. Cl.:

A61K 36/23	(2006.01)	A61K 36/28	(2006.01)
A61P 1/02	(2006.01)		
A61P 1/04	(2006.01)		
A61P 15/02	(2006.01)		
A61P 17/02	(2006.01)		
A61P 31/22	(2006.01)		
A61P 43/00	(2006.01)		
A61K 36/185	(2006.01)		
A61P 17/00	(2006.01)		
A61P 29/00	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.03.2013 PCT/IB2013/051970**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **19.09.2013 WO13136270**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.03.2013 E 13718907 (2)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.01.2025 EP 2825185**

54 Título: **Nuevos métodos y composiciones para el tratamiento de enfermedades**

30 Prioridad:

14.03.2012 US 201261610480 P

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

21.04.2025

73 Titular/es:

**IZUN PHARMACEUTICALS CORPORATION
(100.00%)
Rockefeller Plaza Center - 7th Floor 1230 Avenue
of the Americas
New York, NY 10020, US**

72 Inventor/es:

**ROSENBLUH, AMY DEBRA;
NUSSBAUM, GABRIEL JAY y
ROTMAN, AVNER**

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

Observaciones:

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

ES 3 014 157 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

Nuevos métodos y composiciones para el tratamiento de enfermedades

5 CAMPO TÉCNICO

[0001] Las formas de realización de la invención se refieren a nuevas composiciones de extractos de hierbas, métodos para su preparación y los extractos para su uso en el tratamiento de enfermedades.

10 ANTECEDENTES

[0002] Las composiciones terapéuticas que comprenden extractos de hierbas de las especies de plantas *Sambucus nigra*, *Echinacea purpurea* y *Centella asiatica* se han descrito en la Patente de los Estados Unidos Número 7.563.466, en WO2010011541A2 y en WO2009078022A2.

15 RESUMEN

[0003] Un aspecto de las formas de realización de la invención se refiere a proporcionar nuevas composiciones terapéuticas que comprenden extractos de hierbas de las especies de plantas *Sambucus nigra*, *Echinacea purpurea* y *Centella asiatica* como se especifica en la reivindicación 1. Las composiciones exhiben una actividad terapéutica aumentada para el tratamiento de varias enfermedades inflamatorias, en particular, enfermedades inflamatorias de la mucosa o la piel en relación con las composiciones identificadas previamente. Además, las composiciones exhiben una mayor solubilidad en relación con las composiciones identificadas previamente.

[0004] Una forma de realización de la invención proporciona una composición que comprende extractos de las especies de plantas *Sambucus nigra*, *Echinacea purpurea* y *Centella asiatica*, como se especifica en la reivindicación 2.

[0005] Una forma de realización de la invención proporciona métodos para preparar una composición terapéutica acuosa que comprende extractos de las especies vegetales mencionadas anteriormente, utilizando al menos dos extracciones.

[0006] Una forma de realización de la invención proporciona métodos para tratar enfermedades, afecciones o traumatismos como se especifica en la reivindicación 12, que pueden mejorarse mediante la reparación de tejidos, que comprenden la administración de composiciones que comprenden extractos de las especies vegetales.

[0007] En la discusión, a menos que se indique lo contrario, adjetivos como "sustancialmente" y "aproximadamente" que modifican una condición o relación característica de una característica o características de una forma de realización de la invención, se entiende que significan que la condición o característica se define dentro de tolerancias que son aceptables para el funcionamiento de la forma de realización para una aplicación para la que está destinada. A menos que se indique lo contrario, la palabra "o" en la especificación y las reivindicaciones se considera que es el "o" inclusivo en lugar del "o" exclusivo, e indica al menos uno de, o cualquier combinación de elementos que une.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

[0008]

Las figuras 1a y 1b muestran diagramas de flujo que representan esquemas sintéticos para la fabricación de composiciones que comprenden extractos de las especies de plantas *Echinacea purpurea*, *Sambucus nigra* y *Centella asiatica* de acuerdo con formas de realización de la invención;

La figura 2a muestra un gráfico que compara los efectos de un extracto de hierbas según las formas de realización de la invención con los efectos de un extracto convencional sobre la inhibición de la actividad de la enzima convertidora de interleucina 1 β (ICE), un indicador de inflamación, en varias concentraciones;

La figura 2b muestra un gráfico que compara los efectos de un extracto de hierbas según las formas de realización de la invención con los efectos de un extracto convencional sobre la liberación de colágeno de las células, un indicador de la cicatrización de heridas en varias concentraciones;

La figura 2c muestra un gráfico que compara los efectos de un extracto de hierbas según las formas de realización de la invención con los efectos de un extracto convencional sobre la inhibición del factor nuclear kappaB (NF κ B), un indicador de inflamación, en varias concentraciones;

La figura 2d muestra un gráfico que compara los efectos de un extracto de hierbas según las formas de realización de la invención con los efectos de un extracto convencional sobre la inhibición de la actividad del óxido nítrico (ON) en las células, un indicador de inflamación, en varias concentraciones;

La figura 3 muestra un gráfico que representa el efecto beneficioso de las formulaciones de extractos según las formas de realización de la invención sobre la reducción de las puntuaciones de mucositis en hámsteres en un modelo de -mucositis oral inducida por radiación; y

La figura 4 muestra un gráfico que representa el efecto de las composiciones según las formas de realización de la invención sobre las puntuaciones de mucositis oral en seis pacientes humanos.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0009] En la siguiente descripción detallada, se describirán nuevos métodos de fabricación de composiciones que comprenden extractos de hierbas. Además, se describe la caracterización química y biológica que muestra cualidades mejoradas de nuevas composiciones de hierbas. Se describe un modelo animal que muestra un efecto antiinflamatorio aumentado de composiciones de acuerdo con formas de realización de la invención. Se describe un ensayo clínico que muestra el efecto de composiciones de acuerdo con formas de realización de la invención en el tratamiento de seres humanos. Se proporcionan métodos de tratamiento que utilizan las nuevas composiciones de hierbas.

Ejemplo 1a: Síntesis de composiciones.

[0010] La figura 1a muestra un diagrama de flujo que representa el esquema sintético 100 para sintetizar varias composiciones que comprenden extractos de las especies vegetales *Sambucus nigra*, *Echinacea purpurea* y *Centella asiatica*. El esquema sintético 100 comprende los bloques 10, 20 y 30 que comprenden mezclar *Sambucus nigra*, *Echinacea purpurea* y *Centella asiatica* respectivamente con una solución hidroalcohólica (una solución que comprende agua y un alcohol). Los bloques 12, 22 y 32 comprenden la eliminación de materia vegetal insoluble y disolvente para formar extractos secos de *Sambucus nigra*, *Echinacea purpurea* y *Centella asiatica* respectivamente. El bloque 40 comprende la combinación de extractos de hierbas secas de los bloques 12, 22 y 32.

[0011] La solución hidroalcohólica del bloque 10, 20 y/o 30 comprende 70 % de etanol. En una forma de realización, la relación de disolvente a planta en el bloque 10, 20 y/o 30 es de entre aproximadamente 6 y aproximadamente 10 partes en peso de disolvente por una parte en peso de material vegetal. En una forma de realización, la relación de disolvente a planta en el bloque 10, 20 y/o 30 es de entre aproximadamente 8:1 en peso. En una forma de realización, la solución hidroalcohólica se mezcla durante aproximadamente 8 horas. En una forma de realización, el proceso de extracción es multietapa. En una forma de realización, la solución hidroalcohólica se mezcla a una temperatura de aproximadamente 30 a 40 grados C (Celsius). En una forma de realización, se añade un excipiente a la solución hidroalcohólica antes de la eliminación del disolvente y la materia vegetal. En una forma de realización, el excipiente es un vehículo, por ejemplo, maltodextrina. En una forma de realización, el excipiente es sílice anhidra coloidal. En una forma de realización, la proporción de extracto de hierbas a excipiente es de aproximadamente 7:3.

[0012] En una forma de realización de la invención, el disolvente se elimina en el bloque 12, 22 y/o 32 mediante secado por pulverización.

[0013] Los extractos de hierbas de *Sambucus nigra*, *Echinacea purpurea*, *Centella asiatica* se combinan en una proporción de peso de 70: 10: 20 respectivamente.

[0014] El esquema sintético 100 comprende además el bloque 42, que comprende combinar agua con el extracto de hierbas combinado del bloque 40. En una forma de realización, el agua se combina en una proporción de 3 a 14 litros (L) de agua por cada kilogramo (kg) de extracto de hierbas. En una forma de realización, el agua se combina en una proporción de 9L de agua por cada kg de extracto de hierbas. En una forma de realización, la mezcla de agua y extracto de hierbas se mezcla durante aproximadamente 6 a aproximadamente 24 horas. En una forma de realización, la mezcla de agua y extracto de hierbas se mezcla durante aproximadamente 12 horas.

[0015] El esquema sintético 100 comprende además el bloque 44, que comprende combinar alcohol con la mezcla formada en el bloque 42. En una forma de realización de la invención, el alcohol comprende etanol. En una forma de realización, se utiliza etanol al 96 % o al 100 % para formar una mezcla alcohólica que tiene una concentración de etanol al 70 %.

[0016] En una forma de realización de la invención, la mezcla alcohólica del bloque 44 se agita durante aproximadamente 6 a aproximadamente 24 horas, preferiblemente durante aproximadamente 12 horas.

[0017] El esquema sintético 100 comprende además el bloque 46, que comprende la eliminación de materiales insolubles de la mezcla alcohólica formada en el bloque 44. En una forma de realización de la invención, los materiales insolubles se eliminan de la mezcla alcohólica utilizando centrifugación, filtración, sedimentación o una combinación de cualquiera de estos métodos.

[0018] El esquema sintético 100 comprende además el bloque 48, que comprende la eliminación de alcohol para formar una solución herbaria acuosa. En una forma de realización de la invención, el alcohol se puede eliminar por destilación o por evaporación utilizando un evaporador rotatorio. En una forma de realización de la invención, el alcohol es etanol y se elimina utilizando un evaporador rotatorio a una temperatura de menos de 30 grados C.

[0019] El esquema sintético 100 comprende además el bloque 50, que comprende la eliminación de agua de la solución acuosa del bloque 48 para formar un polvo herbario seco. La eliminación de agua se puede lograr, de acuerdo con formas de realización de la invención, utilizando liofilización (secado por congelación) o secado por pulverización.

[0020] La figura 1b muestra un diagrama de flujo que representa el esquema sintético 200 para sintetizar varias composiciones que comprenden extractos de las especies vegetales *Sambucus nigra*, *Echinacea purpurea* y *Centella asiatica*. El esquema sintético 200 comprende el bloque 40, que comprende la combinación de extractos de hierbas secas de los bloques 12, 22 y 32 en el esquema sintético 100 como se describe.

[0021] En el bloque 40, los extractos de hierbas de *Sambucus nigra*, *Echinacea purpurea*, *Centella asiatica* se combinan en una relación de peso de 70:10:20 respectivamente.

[0022] El esquema sintético 200 comprende además el bloque 62, que comprende combinar alcohol con el extracto de hierbas combinado del bloque 40. En una forma de realización, el alcohol se utiliza en una proporción de aproximadamente 3 a aproximadamente 14 L de alcohol, preferiblemente aproximadamente 9 L de alcohol por cada kg de extracto de hierbas. En una forma de realización, la mezcla de alcohol y extracto de hierbas se mezcla durante aproximadamente 12 horas. El etanol es 96 % -100 % etanol.

[0023] El esquema sintético 200 comprende además el bloque 64, que comprende combinar agua con la mezcla formada en el bloque 62. El agua se utiliza para alcanzar una concentración de 70 % de etanol.

[0024] En una forma de realización de la invención, se agita la mezcla alcohólica del bloque 64. En una forma de realización, la mezcla se agita durante aproximadamente 6 horas a aproximadamente 24 horas, preferiblemente durante aproximadamente 12 horas.

[0025] El esquema sintético 200 comprende además el bloque 66, que comprende la eliminación de materiales insolubles de la mezcla alcohólica formada en el bloque 64. En una forma de realización de la invención, los materiales insolubles se eliminan de la mezcla alcohólica utilizando centrifugación, filtración, sedimentación o cualquier combinación de estos métodos.

[0026] El esquema sintético 200 comprende además el bloque 68, que comprende la eliminación de alcohol para formar una solución herbaria acuosa. En una forma de realización de la invención, el alcohol se puede eliminar mediante destilación o evaporación, por ejemplo, mediante un evaporador rotatorio. En una forma de realización de la invención, el alcohol es etanol y se elimina mediante un evaporador rotatorio a una temperatura inferior a 30 grados C.

[0027] El esquema sintético 200 comprende además el bloque 70, que comprende la eliminación de agua de la solución acuosa del bloque 68 para formar un polvo herbario seco. La eliminación de agua se puede lograr, de acuerdo con formas de realización de la invención, utilizando liofilización (secado por congelación) o secado por pulverización.

Ejemplo 1b: Síntesis del extracto N.

[0028] El esquema sintético 100 descrito en el ejemplo 1a se siguió con los siguientes detalles, de acuerdo con una forma de realización de la invención.

[0029] *Sambucus nigra* (sumidades floridas) se mezcló con 70 % de etanol (relación de solvente a planta 8:1) de acuerdo con el bloque 10. Tras eliminar la materia vegetal insoluble y secar el solvente de acuerdo con el bloque 12, se formaron 3,29 kg de extracto de *Sambucus nigra* seco.

[0030] *Echinacea purpurea* (rizoma y raíces) se mezcló con 70 % de etanol (relación de solvente a planta 8:1) de acuerdo con el bloque 20. Tras eliminar la materia vegetal insoluble y secar el solvente de acuerdo con el bloque 22, se formaron 470 g (gramos) de extracto seco de *Echinacea purpurea*.

[0031] *Centella asiatica* (partes aéreas) se puso en contacto con etanol al 70 % (relación de solvente a planta 8:1) de acuerdo con el bloque 30. Tras eliminar la materia vegetal insoluble y secar el solvente de acuerdo con el bloque 32, se formaron 940 g de extracto seco de *Centella asiatica*.

[0032] Los tres extractos secos de las tres hierbas (proporción de 70:10:20 en peso) se combinaron de acuerdo con el bloque 40. De acuerdo con el bloque 42, se añadieron 47 L de agua y la mezcla se agitó durante 12 horas. Se añadieron 113,9 L de etanol al 96 % a la mezcla para formar 160,9 L de una mezcla alcohólica de etanol al 70 % de acuerdo con el bloque 44. La mezcla se filtró de acuerdo con el bloque 46 y se eliminó el material insoluble. El etanol se evaporó de acuerdo con el bloque 48 y la solución se secó por pulverización de acuerdo con el bloque 50 para formar 3,2 kg de un polvo herbario seco, denominado Extracto N. El rendimiento de este proceso (porcentaje en peso relativo a los extractos secos añadidos de acuerdo con el bloque 40) fue del 68,7 %.

Ejemplo 1c: Síntesis del Extracto P

[0033] Los tres extractos secos de las tres hierbas (proporción de 70:10:20 en peso) se combinaron de acuerdo con el bloque 40 del esquema 100. A continuación, se siguió el esquema 200 para la producción del Extracto P. De acuerdo con el bloque 62, se añadió etanol (100 %) en una proporción de 9 g de etanol por cada 1 g de extracto seco. La mezcla se agitó durante 12 horas. A continuación, se añadió agua lentamente hasta alcanzar una concentración final de 70 % de

etanol, de acuerdo con el bloque 64. La mezcla se centrifugó de acuerdo con el bloque 66 y se eliminó el material insoluble. El etanol se evaporó utilizando un evaporador rotatorio al vacío de acuerdo con el bloque 68 y la solución se liofilizó de acuerdo con el bloque 70 para formar un polvo herbario seco, designado como Extracto P. El rendimiento del Extracto P (porcentaje en peso relativo a los extractos secos añadidos de acuerdo con el bloque 40) fue del 75 %.

Ejemplo comparativo 1d: Síntesis del extracto D.

[0034] Los tres extractos secos de las tres hierbas (proporción de 70:10:20 en peso) se combinaron de acuerdo con el bloque 40 del esquema 100. Se formó una mezcla acuosa de acuerdo con el bloque 42 como se describe en el ejemplo 1b y la mezcla se mezcló durante aproximadamente 17 -a 20 horas. Los materiales insolubles se eliminaron de la solución centrifugando la solución acuosa y filtrándola con un filtro de 0,2 micrones. El agua se eliminó del filtrado mediante liofilización durante la noche. La mezcla de hierbas secas se denominó Extracto D.

Ejemplo comparativo 1e: Síntesis del extracto B.

[0035] Se preparó un extracto de hierbas según el ejemplo 1a hasta el bloque 40. El extracto de hierbas combinado se denominó Extracto B.

Ejemplo comparativo 1f: Síntesis del extracto M:

[0036] Se preparó un extracto de hierbas según el ejemplo 1a (hasta el bloque 40). Se añadió etanol al 100 % al extracto de hierbas combinado y se agitó durante 12 horas. Se añadió agua a la mezcla etanólica hasta que la concentración de etanol fue del 30 %. A continuación, se eliminó el etanol utilizando un evaporador rotatorio y, a continuación, se eliminó el agua mediante liofilización. El extracto resultante se denominó Extracto M.

Ejemplo 2: Análisis químico de composiciones según formas de realización de la invención

[0037] Los extractos según formas de realización de la invención comprenden múltiples compuestos biológicamente activos, incluidos los antiinflamatorios. Se realizó un análisis cuantitativo de HPLC (cromatografía líquida de alto rendimiento) para identificar diferencias químicas entre el extracto D y el extracto N.

[0038] El análisis de HPLC se realizó utilizando una columna Phenomenex Synergi Hydro-RP 80A de 4 micrómetros utilizando ácido fosfórico 0,01 molar en agua y acetonitrilo como disolventes de fase móvil. La detección se realizó utilizando un detector de matriz de diodos.

[0039] Uno de los compuestos antiinflamatorios identificados en los extractos según las formas de realización de la invención, que se origina a partir de la hierba *Sambucus nigra*, es la naringenina. Se preparó un marcador utilizando naringenina (obtenida de Sigma) para cuantificar la cantidad de naringenina en muestras de extractos de hierbas.

[0040] Se realizó un análisis HPLC de los extractos D y N de varios lotes. Antes de realizar el análisis, los extractos D y N se diluyeron a soluciones al 1 % en un disolvente de 50 % acetonitrilo/50 % agua. Los resultados se resumen en la Tabla 1 a continuación, con el contenido de naringenina expresado en términos de porcentaje de extracto.

Tabla 1

Lote	Contenido de naringenina (porcentaje del extracto)
Extracto D N°1	0,044
Extracto D N°2	0,02
Extracto D N°3	0,047
Extracto N N°1	0,09
Extracto N N°4	0,09
Extracto N N°5	0,10
Extracto N N°6	0,12

[0041] Se analizó el extracto P y se encontró que tenía un contenido de naringenina similar al del extracto N.

[0042] Como es evidente en la tabla 1, la concentración de naringenina fue consistentemente más alta en el Extracto N que en el Extracto D, lo que indica que el Extracto N tiene propiedades antiinflamatorias mejoradas en relación con el Extracto D.

Ejemplo 3: Prueba in vitro de composiciones según formas de realización de la invención

[0043] Las cualidades biológicas del Extracto D y del Extracto N se compararon en una variedad de modelos in vitro.

Ejemplo 3a: Ensayo de ICE

[0044] La ICE (enzima convertidora de interleucina 1 β o ICE-caspasa-1) es parte de una familia de proteasas específicas del ácido cisteína aspártico que desempeña un papel clave en la inflamación. La inhibición de la ICE por los Extractos D y N se determinó para concentraciones de extracto de 2,5, 1,25 y 0,625 mg/ml (miligramos por mililitro) utilizando el siguiente método.

[0045] Un sustrato peptídico con la estructura Ac-YVAD-AMC es un sustrato fluorogénico para ICE, que contiene el fluorocromo 7-amino-4-metil cumarina (AMC). El AMC se libera de este sustrato tras la escisión por ICE. La intensidad de la señal de fluorescencia producida tras la escisión es proporcional a la actividad de ICE presente en la muestra. Se utilizó un inhibidor selectivo conocido de ICE, Ac-YVAD-CHO, como referencia para la inhibición potencial. Se utilizó una placa negra de 96 pocillos con un lector de placas de fluorescencia para detectar la fluorescencia de las muestras.

[0046] Los resultados del ensayo ICE se muestran en la Figura 2a. En todas las concentraciones probadas, la inhibición de ICE utilizando el Extracto N fue superior al Extracto D. Los resultados sugieren que el Extracto N tiene una actividad antiinflamatoria aumentada en relación con el Extracto D.

Ejemplo 3b: Ensayo de liberación de colágeno

[0047] Los colágenos son proteínas que son abundantes en el tejido conectivo y tienen un papel importante en la cicatrización de heridas. Los agentes que causan la liberación de colágeno en fibroblastos dérmicos (células que ayudan en la fabricación de tejido conectivo) pueden ser útiles como agentes de cicatrización de heridas. Los efectos de los Extractos D y N sobre la liberación de colágeno en fibroblastos dérmicos se probaron utilizando el siguiente procedimiento.

[0048] Se utilizaron fibroblastos de prepucio humano en un ELISA tipo sándwich (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas) basado en un par de anticuerpos que reconocen el colágeno humano tipo 1. Los anticuerpos utilizados fueron colágeno anti tipo 1 de cabra: anticuerpo de captura - sin marcar (comprado a Southern Biotech, EE. UU., Cat. #1310 -01) y conjugado de anticuerpo de detección-biotina (comprado a Southern Biotech, EE. UU., Cat. #131008).

[0049] Se probaron los efectos de los extractos D y N sobre la liberación de colágeno utilizando concentraciones de 1,5, 0,75, 0,38 y 0,19 mg/ml. Los resultados del ensayo de liberación de colágeno se muestran en la Figura 2b. En todas las concentraciones analizadas, el extracto N fue más eficaz para inducir la producción de colágeno que el extracto D, lo que indica que el extracto N tiene mayores capacidades de cicatrización de heridas que el extracto D.

Ejemplo 3c: ensayo del reportero NF κ B

[0050] La proteína NF κ B juega un papel clave en la inflamación, la respuesta inmune, la proliferación celular y la protección contra la apoptosis.

[0051] La línea celular de macrófagos murinos RAW264.7 (obtenida de la American Type Culture Collection) se transdujo con un constructo de gen reportero de luciferasa NF- κ B y se utilizó en el ensayo para determinar los efectos inhibidores de los extractos D y N sobre la inducción de la proteína NF- κ B en células que contenían el constructo del gen reportero de luciferasa NF- κ B. Se utilizó lipopolisacárido (LPS) para inducir el gen reportero de luciferasa NF- κ B y se analizaron los extractos para determinar la actividad inhibidora. Se utilizó calceína AM (derivado acetometoxi de calceína) como colorante fluorescente para determinar el número de células RAW264.7 para la normalización. Como la luminiscencia en el modelo está correlacionada con la expresión de la proteína NF- κ B, la inhibición de la expresión se puede determinar mediante la correlación con la inhibición de la luminiscencia.

[0052] Las composiciones con un alto porcentaje de inhibición en el modelo indican su uso potencial para reducir la inflamación mediante la inhibición de la proteína NF- κ B en mamíferos. Se probaron los efectos de los extractos D y N sobre el indicador de luciferasa NF- κ B a concentraciones de 1, 0,25 y 0,12 mg/ml y se muestran en la figura 2c. En las dos concentraciones más bajas, el extracto N fue más eficaz en la inhibición de la inducción del indicador de luciferasa NF- κ B que el extracto D, lo que indica que el extracto N tiene propiedades antiinflamatorias mejoradas en relación con el extracto D y es eficaz en dosis más bajas.

Ejemplo 3d: Ensayo de liberación de óxido nítrico

[0053] El óxido nítrico (ON) es una molécula efectora y mensajera fisiológica importante que está involucrada en la inflamación. La inhibición de la producción de ON en las células puede ser indicativa de las cualidades antiinflamatorias de las composiciones. Los extractos D y N se probaron para determinar las cualidades inhibidoras del ON de acuerdo con el siguiente ensayo.

[0054] Se utilizaron células RAW264.7 para el ensayo. La presencia de ON se midió utilizando el sistema de reactivos de Griess que mide el nitrito, uno de los dos productos de descomposición primarios estables y no volátiles del ON. El nitrito reacciona con sulfanilamida y diclorhidrato de N-1-naftiletilendiamina (NED) en condiciones ácidas (ácido fosfórico) para producir un compuesto azo fluorescente que se detecta mediante un lector de placas. Se utilizó LPS para inducir la

inflamación en células RAW264.7, y se probó la inhibición de la inflamación utilizando 1,0, 0,5, 0,25 y 0,13 mg/ml de los extractos D y N.

[0055] Las composiciones con un alto porcentaje de inhibición en el modelo indican un uso potencial de las composiciones para reducir la inflamación mediante la inhibición de la producción de ON en mamíferos. Los efectos de los extractos D y N sobre la producción de ON se muestran en la figura 2d. En todas las concentraciones, el extracto N fue más eficaz en la inhibición de la producción de ON que el extracto D, lo que indica que el extracto N tiene propiedades antiinflamatorias mejoradas en relación con el extracto D.

Ejemplo 3e: -Ensayo ELISA de IL 11 (interleucina 11).

[0056] Se realizó un ensayo para evaluar el efecto de los extractos de hierbas sobre la liberación inducida por citocinas de IL 11 en fibroblastos, lo que indica un efecto protector de la mucosa. El ensayo se realizó en fibroblastos gingivales humanos.

[0057] Las líneas celulares de fibroblastos gingivales se sembraron en 150 µl (microlitros) de medio de crecimiento en placas de cultivo de tejido de 96 pocillos, con una densidad de siembra inicial de 104 células/pocillo, y se cultivaron durante 24 horas. Se retiró el medio de crecimiento y luego se activaron las células de fibroblastos gingivales con una concentración final de 2,0 ng/ml (nanogramos por mililitro) de TGF-β (factor de crecimiento transformante beta) añadido en 150 µl de medio BSA (albúmina de suero bovino). También se añadieron extractos de hierbas a concentraciones de 0,5 mg/ml, y los cultivos se incubaron durante 24 horas adicionales. También se probó el TGF-β solo para determinar el grado de sinergia entre el extracto de hierbas y el factor de crecimiento.

[0058] Se extrajo una muestra de medio acondicionado (100 µl) para la determinación de la concentración de IL-11 y las células de fibroblastos gingivales, junto con los 50 µl restantes, se analizaron en un ensayo de viabilidad celular luminiscente para normalizar los resultados. Se incluyó un control negativo, sin la adición de citocinas. El efecto de los materiales de muestra en la producción de IL-11 se midió mediante el ensayo ELISA de acuerdo con las instrucciones del fabricante, empleando un kit disponible comercialmente (R&D Systems, Cat. N° DY 218, MN, EE. UU.).

[0059] Se determinaron los resultados de la producción de IL-11 en términos de pg/ml (picogramo/mililitro) para cada extracto, tanto en presencia como en ausencia de TGF-β. A continuación, se calcularon estos resultados para determinar las unidades de sinergia, que representan (concentración de IL-11 en presencia de TGF-β y extracto) / (concentración de IL-11 en presencia de TGF-β solo) + (concentración de IL-11 en presencia de extracto solo). Un valor de 1 en la fórmula anterior indica que el valor obtenido para el TGF-β + el extracto, añadidos a las células en conjunto, es el mismo que la suma de los valores obtenidos para cada uno de estos añadidos a las células de fibroblastos gingivales por separado. Este es un efecto aditivo. Los valores superiores a 1 indican un efecto sinérgico del extracto de hierbas.

Tabla 2:

Extraer muestra	Unidades de sinergia
B	2,2
D	1,5
M (a)	0,9
M (b)	0,9
N (a)	1,8
N (b)	1,8
P (a)	1,9
P (b)	1,7

[0060] Como se puede observar en la tabla 2, los extractos N y P mostraron actividad sinérgica, pero el extracto M no mostró actividad sinérgica.

Ejemplo 4: Prueba in vivo de composiciones según formas de realización de la invención utilizando un modelo de mucositis oral (MO) en hámsteres.

[0061] Se asignaron aleatoriamente hámsteres dorados sirios machos ("hámsteres") que pesaban aproximadamente 95 g a dos grupos de control de vehículo de ocho hámsteres cada uno y a cuatro grupos de artículos de prueba de seis hámsteres cada uno. El día 0 del estudio, se administró a cada hámster una dosis de radiación aguda de 40 Gy (gray) dirigida a la bolsa de la mejilla bucal izquierda. Los artículos de prueba se administraron por vía tópica tres veces al día los días -1 (el día anterior a la dosis de radiación) a 20. Se evaluó la condición del hámster diariamente y se midieron los pesos corporales una vez al día desde el día 1 hasta el día 25. Se evaluó la mucositis los días 7, 10, 13, 16, 19, 22 y 25. Se compararon la duración y la gravedad de la mucositis entre los grupos de tratamiento y el grupo de control sin tratamiento para determinar el impacto del artículo de prueba en el curso de la mucositis.

[0062] Mucositis en hámsteres se puntuó de acuerdo con la tabla 3:

Puntaje:	Descripción:
0	Bolsa completamente sana. Sin eritema ni vasodilatación.
1	Eritema y vasodilatación de leves a severos. Sin erosión de la mucosa.
2	Eritema y vasodilatación intensos. Erosión de las superficies de la mucosa, dejando zonas denudadas. Disminución del punteado de la mucosa.
3	Formación de úlceras blanquecinas en uno o más lugares. Las úlceras pueden tener un aspecto amarillento/grisáceo debido a la pseudomembrana. El tamaño acumulado de las úlceras debe ser igual a aproximadamente $\frac{1}{4}$ de la bolsa. Eritema y vasodilatación graves.
4	El tamaño acumulado de las úlceras debe ser igual a aproximadamente la mitad de la bolsa. Pérdida de flexibilidad. Eritema y vasodilatación graves.
5	Prácticamente toda la bolsa está ulcerada. Pérdida de flexibilidad (la bolsa sólo se puede extraer parcialmente de la boca).

[0063] A dos grupos de control del vehículo se les administró solución salina o propilenglicol (PG). A los cuatro grupos de tratamiento se les administraron los tratamientos de la siguiente manera:

- Grupo 1: Extracto B al 1 % en 100 % de PG
- Grupo 2: Extracto M al 1 % en 100 % de PG
- Grupo 3: Extracto N al 1 % en 100 % de PG
- Grupo 4: Extracto N al 1 % disuelto en solución salina seguido de un minuto de agitación con vórtice.

[0064] Se administraron 0,2 ml de las composiciones ensayadas tres veces al día a cada hámster. Se sumó el número total de días en los que un hámster exhibió una puntuación elevada por encima de tres para cada grupo y se expresó como un porcentaje del número total de días puntuados para cada grupo. Los resultados se muestran en la Figura 3.

[0065] El extracto N en solución salina tuvo un efecto significativo ($p=0,024$) en la reducción de la puntuación de mucositis en relación con el grupo de control de solución salina. De manera similar, el extracto N en PG tuvo un efecto significativo ($p=0,003$) en la reducción de la puntuación de mucositis en relación con el grupo de control de PG. Los extractos B y M no mostraron una reducción en las puntuaciones de los hámsteres por debajo de 3 en relación con el grupo de control de PG.

[0066] Los resultados de este ensayo indican que el Extracto N puede ser eficaz en el tratamiento de MO en humanos. Este efecto fue evidente en formulaciones de Extracto N basadas en agua (solución salina) o PG.

Ejemplo 5: Solubilidad mejorada de composiciones según formas de realización de la invención

[0067] Se realizó una prueba de solubilidad para diferenciar entre el Extracto B y el Extracto N.

[0068] Se prepararon soluciones de extracto utilizando los extractos B y N en concentraciones de 1 % (gramos por litro) en agua. Durante la agitación, ambas soluciones estaban turbias. El extracto B tenía partículas que se podían discernir a simple vista y que flotaban durante la agitación en una solución bastante clara. El extracto N tenía partículas no discernibles, aunque la solución estaba turbia, lo que daba una dispersión más homogénea. La turbidez se midió utilizando un turbidímetro Micro 100 fabricado por HF Scientific y se expresó en términos de unidades de turbidez nefelométrica (NTU). Como se puede ver en la tabla siguiente, hubo una diferencia significativa en la turbidez de las dos formulaciones, y las partículas más grandes en B se sedimentaron mucho más rápidamente que las de N.

Tabla 4:

Tiempo	B turbidez (NTU)	N turbidez (NTU)	B turbidez % relativa al tiempo 0	N turbidez % relativa al tiempo 0
0 minutos	285	410	-	-
15 minutos	215	410	75	100
30 minutos	154	401	54	98
55 minutos	128	378	45	92
90 minutos	119	376	42	92
18 horas	33,5	137	12	33

[0069] Se prepararon soluciones en 100 % de PG a una concentración del 5 % (gramos por litro). El extracto N pareció disolverse completamente, pero el extracto B estaba turbio. Se midió la turbidez después de la agitación y se determinó que era de 385 NTU para el extracto B y de 14,7 NTU para el extracto N. Después de reposar durante la noche, se sedimentaron grandes cantidades de sedimento de la suspensión del extracto B y no se observó ningún sedimento en la mezcla transparente del extracto N.

[0070] Estas pruebas indican que el Extracto N tiene mayor solubilidad y forma suspensiones más estables que el Extracto B en agua. Además, las soluciones de PG se pueden formular con el extracto N a una concentración del 5 al 20 % (en peso), mientras que el extracto B no proporciona soluciones estables a estas concentraciones. El Extracto N se puede formular de manera viable en PG sin la necesidad de agentes solubilizantes adicionales.

Ejemplo 6a: Composiciones farmacéuticas que comprenden extractos según formas de realización de la invención

[0071] Se agitaron 2,601 kg de Extracto N durante 12 horas con 10,379 kg de PG y 26,01 g de sucralosa para formar una solución concentrada. Se mezclaron 2,5 g de solución concentrada con 47,5 ml de solución salina para preparar un enjuague bucal.

Ejemplo 6b: Composiciones farmacéuticas que comprenden extractos según formas de realización adicionales de la invención

[0072] En formas de realización adicionales de la invención, la composición de la presente invención comprende además un extracto de las especies de plantas *Hypericum perforatum* y *Commiphora molmol*, *Uncaria tomentosa*, *Thymus vulgaris*, *Matricaria recutita*, *Salix alba*, *Calendula officinalis*, *Usnea barbata*, *Ligusticum porterii-osha*, *Gaultheria procumbens*, *Camellia sinensis*, *Vaccinium myrtillus*, *Melissa officinalis*, *Allium sativum*, *Camellia sinensis*, *Hamamelis virginiana* o *Krameria triandra*.

[0073] En formas de realización adicionales de la invención, las composiciones farmacéuticas pueden prepararse en forma de parches, ungüentos, pastas, lociones, cremas, pastillas, caramelos, chicles, soluciones, geles, espumas y aerosoles. Las composiciones farmacéuticas pueden prepararse, de acuerdo con formas de realización de la invención, en forma de composiciones de liberación inmediata o de liberación retardada.

Ejemplo 7a: Métodos de tratamiento que utilizan composiciones de acuerdo con formas de realización de la invención

[0074] La MO se encuentra entre las afecciones más frecuentemente notificadas y potencialmente más debilitantes asociadas con la quimioterapia y el tratamiento de radiación del cáncer, con una incidencia que varía del 10 % al 75 % en pacientes que reciben quimioterapia o radioterapia, del 70 al 90 % en receptores de trasplante de médula ósea y >95 % de los pacientes que reciben una combinación de radiación y quimioterapia para cánceres de cabeza y cuello (HNC). La otitis media se ha asociado con un mayor uso de analgésicos y antibióticos, días febriles, necesidad de sonda gástrica o nutrición parenteral, duración de la hospitalización, visitas no planificadas y a urgencias y gastos médicos totales, todo lo cual tiene un impacto negativo en la salud y los resultados económicos. Aproximadamente 500.000 pacientes desarrollan otitis media anualmente en los Estados Unidos y se considera que es en gran medida inevitable.

[0075] Se lleva a cabo un estudio comparativo, de dosis fija, controlado con placebo, aleatorizado y doble ciego que prueba los efectos del enjuague bucal según el ejemplo 6a en MO en pacientes sometidos a CRT (quimioterapia-radioterapia) para HNC. Los pacientes son asignados aleatoriamente para recibir enjuague bucal activo o un placebo según un programa de aleatorización 1:1. La dosis de enjuague es de 15 ml de enjuague bucal al 1 %, como se describe en el ejemplo 6, con una frecuencia de tres veces al día. El placebo se prepara utilizando PG, sucralosa y colorante alimentario, diluidos en solución salina.

[0076] Aproximadamente 104 sujetos reciben tratamiento durante aproximadamente 7-9 semanas, simultáneamente con CRT y se extiende hasta la resolución de la mucositis grave. Los sujetos están programados para recibir un curso continuo de irradiación de haz externo administrada mediante radioterapia de intensidad modulada o planificación 3D. La dosis de prescripción acumulada está entre 50-70 Gy. Un mínimo del 25 % de la cavidad oral recibe una dosis de 50 Gy o más. La radioterapia se administra simultáneamente con quimioterapia con cisplatino en una dosis de 60-100 mg/m² (miligramos por metro cuadrado), administrada una vez cada 21 días, o 30-40 mg/m², administrada una vez a la semana.

[0077] La seguridad se evalúa por toxicidad general basada en signos vitales y exámenes físicos. La eficacia se evalúa por proporción de pacientes en el grupo de tratamiento activo versus el grupo placebo que obtienen una puntuación de 3 a 4 según la escala de toxicidad oral de la OMS (Organización Mundial de la Salud) para MO a una dosis de radiación acumulada de 50 Gy.

[0078] La escala de toxicidad oral de la OMS para OM es la siguiente: Grado 0: Sin mucositis ni lesiones mucosas. Grado 1: Eritema, sensibilidad mucosa y dolor. Grado 2: Ulceración, capacidad para ingerir alimentos sólidos. Grado 3: Ulceración, ingesta oral limitada a líquidos. Grado 4: Ulceración, alimentación oral imposible.

[0079] En una sección abierta del ensayo, se trató a siete pacientes con la composición farmacéutica descrita en el Ejemplo 6a. En la Figura 4 se muestra un gráfico que muestra la puntuación MO en relación con la dosis de radiación acumulada. Los pacientes 5 y 6 tuvieron puntuaciones superpuestas durante el curso del tratamiento y están representados por una línea.

[0080] En la población de pacientes analizada, se espera que aproximadamente el 75 % de los pacientes que reciben dosis acumuladas equivalentes de radiación en la cavidad oral, basándose en datos históricos, desarrollen MO de grado

3-4. Uno de los pacientes abandonó el ensayo después de una duración muy corta de tratamiento debido a una aparente reacción alérgica a uno de los componentes de la composición. De los 6 pacientes restantes, se consideró que 4 habían respondido favorablemente al tratamiento, ya que la puntuación en estos pacientes no superó 1 durante todo el tratamiento. Un paciente adicional se consideró un respondedor parcial ya que el desarrollo de MO del paciente se retrasó hasta después de que el paciente recibió una dosis acumulada de >40 Gy de radiación.

[0081] Los resultados de la sección de etiqueta abierta del ensayo muestran que las composiciones preparadas según las formas de realización de la invención son eficaces para tratar a pacientes con riesgo de desarrollar MO, incluidos pacientes que han recibido radiación en la cavidad oral. Se esperan resultados similares del ensayo completo.

Ejemplo 7b: Uso de composiciones según las formas de realización de la invención en un paciente que padece MO.

[0082] Un paciente de aproximadamente 80 años de edad que sufría cáncer de páncreas fue tratado de forma intermitente con quimioterapia y radiación durante un período de 3 años. Se le diagnosticó al paciente que sufría MO y fue tratado con la composición Q (preparación descrita a continuación) durante un período de aproximadamente 2 -a 3 semanas. No se reconoció ninguna mejora significativa del MO.

[0083] La composición Q se preparó utilizando el siguiente método. Se prepararon extracciones etanólicas de las hierbas Sambucus nigra, Echinacea purpurea y Centella asiatica y luego se combinaron en una proporción de 85:5:10. A continuación, la mezcla se extrajo con agua en una proporción de 9 L de agua por cada 1 kg de extracto de hierbas combinado. Se eliminó el material insoluble y se filtró la fase soluble. Luego, la fase soluble se formuló en una composición Q mediante la combinación con agua, EDTA disódico, benzoato de sodio, cloruro de cetilpiridinio monohidrato, aceite de ricino hidrogenado PEG 40 al 90 %, ácido S-láctico, sorbitol, PG, aroma y erioglaucina. La concentración de contenido sólido en la fase soluble en la composición Q fue del 1 %.

[0084] Después de un período de 2 a 3 semanas, se detuvo la administración de la composición Q y luego se administró al paciente una composición de acuerdo con el ejemplo 6. El paciente experimentó una disminución medible del dolor y una reducción del tamaño de las áreas ulceradas en un período de 25 horas.

[0085] Además de tratar la MO, se pueden tratar otras enfermedades relacionadas con la inflamación de la mucosa utilizando extractos según formas de realización de la invención. La mucosa tratada utilizando extractos según formas de realización de la invención puede incluir mucosa bucal, esofágica, gástrica, intestinal, nasal, olfativa, oral, bronquial, uterina, endometrial, vaginal o del pene. Las enfermedades inflamatorias según la forma de realización de la invención incluyen enfermedad inflamatoria intestinal, proctitis inducida por radiación y vaginitis atrófica.

[0086] Las composiciones que comprenden extractos según las formas de realización de la invención se pueden utilizar para el tratamiento o la prevención de una variedad de enfermedades e indicaciones. En una forma de realización de la invención, la composición está destinada a utilizarse en el tratamiento de enfermedades de la mucosa oral. En una forma de realización de la invención, la composición terapéutica está destinada a utilizarse en el tratamiento de una enfermedad de la mucosa oral seleccionada del grupo que consiste en enfermedad periodontal, gingivitis, ulceración aftosa, traumatismo mecánico, traumatismo térmico, liquen plano, pénfigo ampolloso, pénfigo vulgar, dermatitis herpetiforme, quelitis angular y herpes recurrente.

[0087] En una forma de realización de la invención, la composición terapéutica está destinada a usarse en el tratamiento de lesiones cutáneas. En una forma de realización de la invención, la composición terapéutica está destinada a usarse en el tratamiento de traumatismos dérmicos. En otra forma de realización preferida, la composición terapéutica está destinada a usarse en el tratamiento de picaduras de insectos y otras irritaciones superficiales locales.

[0088] En una forma de realización de la invención, la composición terapéutica está destinada a utilizarse en el tratamiento de lesiones anales. En una forma de realización de la invención, la composición terapéutica está destinada a utilizarse en el tratamiento de una lesión anal asociada con una afección seleccionada del grupo que consiste en fisuras anales, hemorroides e irritación no específica.

[0089] En una forma de realización de la invención, la composición terapéutica está destinada a usarse en el tratamiento de lesiones vaginales. En una forma de realización de la invención, la composición terapéutica está destinada a usarse en el tratamiento de una lesión vaginal asociada con vaginitis atrófica.

[0090] En el presente documento se describen métodos de tratamiento que comprenden la administración de entre 1 mg y 1,5 g de un extracto de hierbas por día. En formas de realización de la invención, la dosis diaria es de 625 mg/día. En formas de realización, la dosis diaria es de 450 mg/día. Otra forma de realización es de 900 mg/día.

[0091] Además, de acuerdo con una forma de realización de la invención, se proporciona un método para preparar una composición terapéutica acuosa como se especifica en la reivindicación 1. Opcionalmente, la composición terapéutica acuosa se seca adicionalmente para formar una composición terapéutica seca. Opcionalmente, los materiales insolubles se separan de la mezcla alcohólica utilizando centrifugación, filtración o sedimentación. Opcionalmente, el alcohol se separa de la mezcla alcohólica utilizando vacío. Opcionalmente, la composición terapéutica acuosa se seca mediante

secado por pulverización o liofilización. Opcionalmente, el método comprende además combinar la composición terapéutica seca con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. Opcionalmente, el excipiente se selecciona del grupo que consiste en: propilenglicol, polietilenglicol, glicerina y aceite esencial. Los extractos de hierbas hidroalcohólicos de *Sambucus nigra*, *Echinacea purpurea* y *Centella asiatica* se preparan mezclando la materia vegetal en un disolvente que comprende aproximadamente un 70 % de etanol. Opcionalmente, la materia vegetal se mezcla durante aproximadamente 8 horas. Opcionalmente, la relación de materia vegetal a disolvente es aproximadamente 1:8. Opcionalmente, el método comprende además eliminar el disolvente de la mezcla de materia vegetal y disolvente para formar un extracto herbario hidroalcohólico.

[0092] Además, de acuerdo con una forma de realización de la invención, se proporciona una composición terapéutica acuosa que comprende un extracto de hierbas que comprende extractos de hierbas hidroalcohólicos de cada uno de los siguientes: *Sambucus nigra*, *Echinacea purpurea* y *Centella asiatica*, comprendiendo el extracto una concentración de naringenina de 0,09 %, 0,10 % o 0,12 %. Opcionalmente, el extracto de hierbas tiene solubilidad en una solución al 20 % en propilenglicol. La proporción de *Sambucus nigra*: *Echinacea purpurea*: *Centella asiatica* es de aproximadamente 7:1:2.

[0093] Se describe además una composición farmacéutica que comprende un extracto de hierbas que comprende extractos de hierbas hidroalcohólicos de cada uno de *Sambucus nigra*, *Echinacea purpurea* y *Centella asiatica*, comprendiendo el extracto una concentración de naringenina de 0,09 %, 0,10 % o 0,12 %. Opcionalmente, la composición farmacéutica comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable. Opcionalmente, el vehículo comprende propilenglicol. Opcionalmente, la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1 está en forma de enjuague bucal, parche, pomada, pasta, loción, crema, pastilla, caramelo, chicle, solución, gel, espuma o aerosol.

[0094] Además, de acuerdo con una forma de realización de la invención, se proporciona una composición terapéutica acuosa que comprende un extracto de hierbas que comprende extractos de hierbas hidroalcohólicos de cada uno de *Sambucus nigra*, *Echinacea purpurea* y *Centella asiatica*, comprendiendo el extracto una concentración de naringenina de 0,09 %, 0,10 % o 0,12 % para su uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en mucositis oral, enfermedad inflamatoria intestinal, proctitis inducida por radiación, vaginitis atrófica, enfermedad periodontal, gingivitis, ulceración aftosa, traumatismo mecánico, traumatismo térmico, liquen plano, pénfigo ampoloso, pénfigo vulgar, dermatitis herpetiforme, quelitis angular y herpes recurrente. Opcionalmente, la cantidad de extracto herbario administrada está entre 1 mg y 1,5 g por día.

[0095] En la descripción y reivindicaciones de la presente solicitud, cada uno de los verbos, "comprender", "incluir" y "tener", y sus conjugados, se utilizan para indicar que el objeto u objetos del verbo no son necesariamente una lista completa de componentes, elementos o partes del sujeto o sujetos del verbo.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para preparar una composición terapéutica acuosa, comprendiendo dicho método:

5 obtener extractos herbales mezclando materia vegetal de cada uno de Sambucus nigra, Echinacea purpurea y Centella asiatica en donde la materia vegetal es

a. sumidades floridas de Sambucus nigra;

b. rizoma y raíces de Echinacea purpurea;

10 c. partes aéreas de Centella asiatica.

con 70 % de etanol en agua y eliminando la materia vegetal insoluble y el solvente para formar extractos secos, y combinando los extractos secos,

15 en una proporción de 70 % de extracto de Sambucus nigra, 10 % de extracto de Echinacea purpurea y 20 % de extracto de Centella asiatica;

poner en contacto los extractos herbales combinados con agua,

agregar luego etanol al 96 % para formar una mezcla etanólica que tenga una concentración de etanol al 70 %;

20 separar los materiales insolubles y el etanol de la mezcla etanólica para producir una composición terapéutica acuosa.

2. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque la composición terapéutica acuosa se seca adicionalmente para formar una composición terapéutica seca.

25 3. Procedimiento según la reivindicación 2, caracterizado porque la composición terapéutica seca se combina con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

4. Procedimiento según la reivindicación 3, caracterizado porque el excipiente es de 5 a 20 % de propilenglicol en agua.

5. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque la materia vegetal se mezcla durante 8 horas.

30 6. Composición terapéutica acuosa obtenida mediante un método según la reivindicación 1, comprendiendo la composición un extracto herbario que comprende extractos herbarios hidroalcohólicos de cada uno de los siguientes: Sambucus nigra, Echinacea purpurea y Centella asiatica, comprendiendo el extracto 0,09 %, 0,10 % o 0,12 % de naringenina.

35 7. Composición terapéutica acuosa según la reivindicación 6 en forma de enjuague bucal.

40 8. Composición terapéutica acuosa según la reivindicación 6 para su uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en mucositis oral, enfermedad inflamatoria intestinal, proctitis inducida por radiación, vaginitis atrófica, enfermedad periodontal, gingivitis, ulceración aftosa, traumatismo mecánico, traumatismo térmico, liquen plano, pénfigo ampolloso, pénfigo vulgar, dermatitis herpetiforme, quelitis angular y herpes recurrente.

45 9. Composición terapéutica acuosa según la reivindicación 6 para su uso en el tratamiento de la mucositis oral asociada a la quimiorradioterapia.

50 10. Composición terapéutica acuosa para uso en el tratamiento de la mucositis oral asociada a quimiorradioterapia según la reivindicación 9, en la que el extracto de hierbas se administra como un enjuague bucal al 1 %.

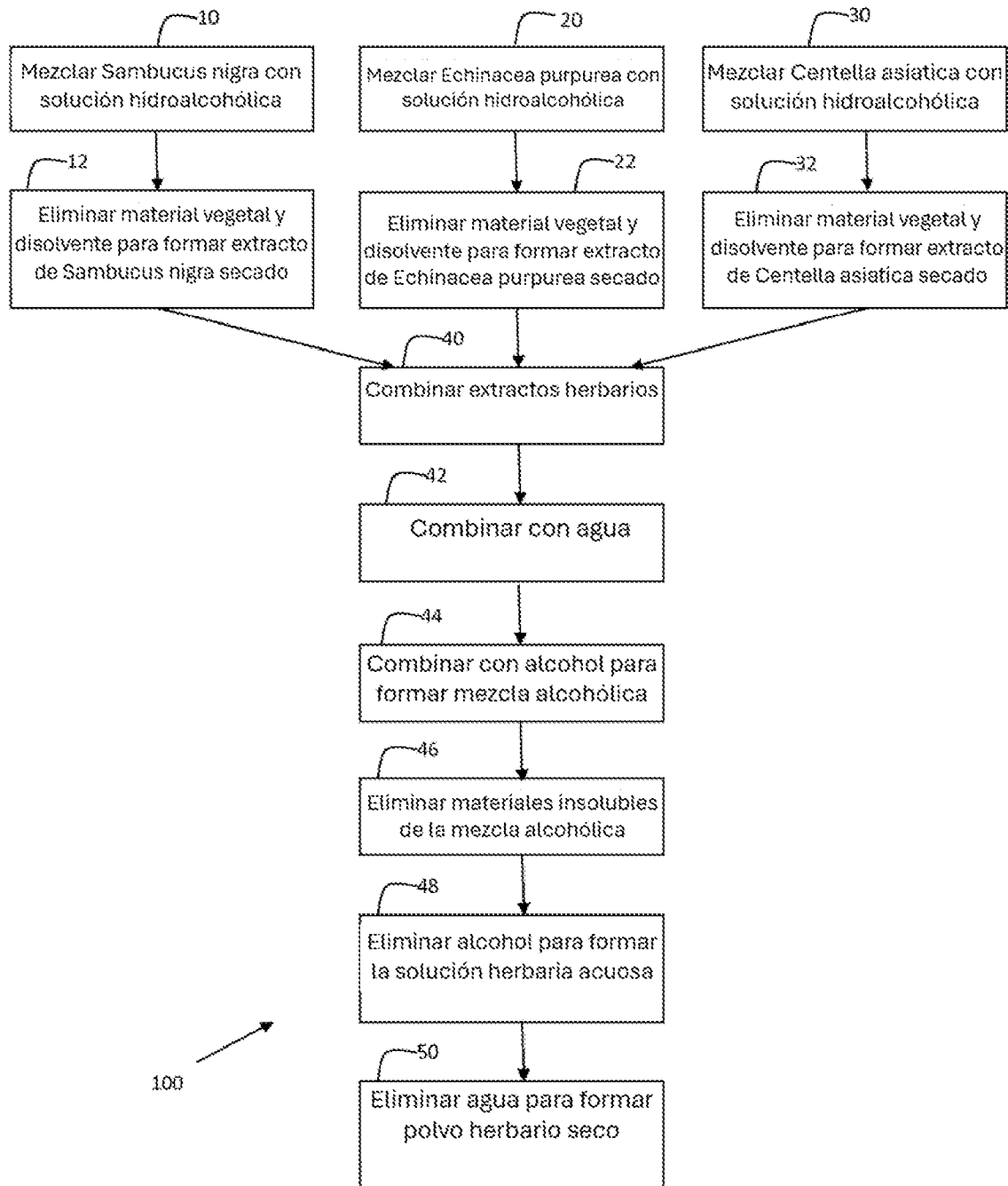


Fig. 1a

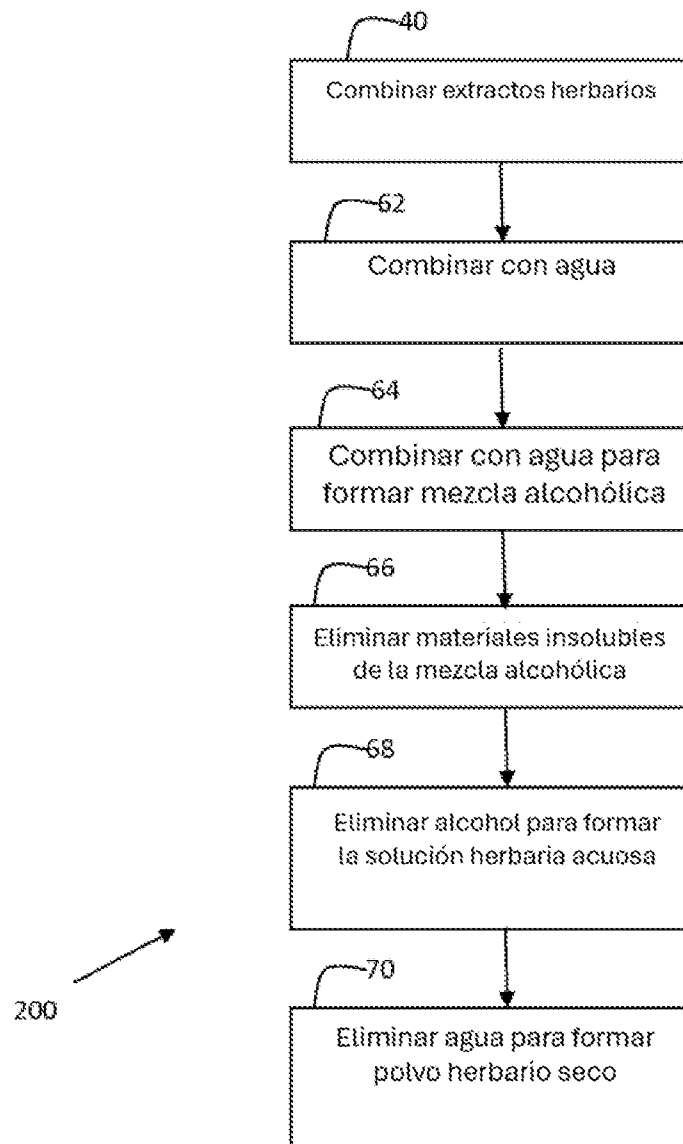
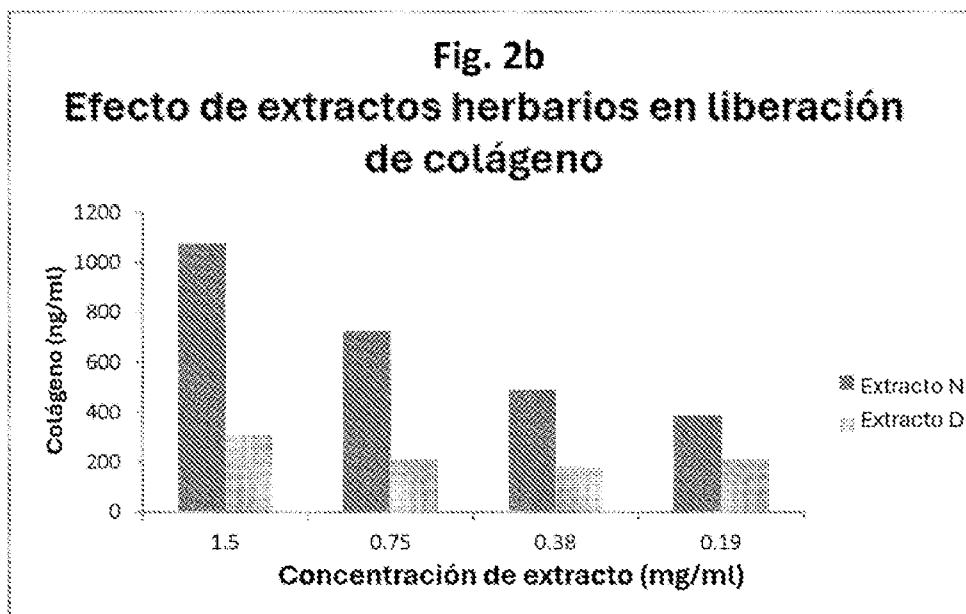
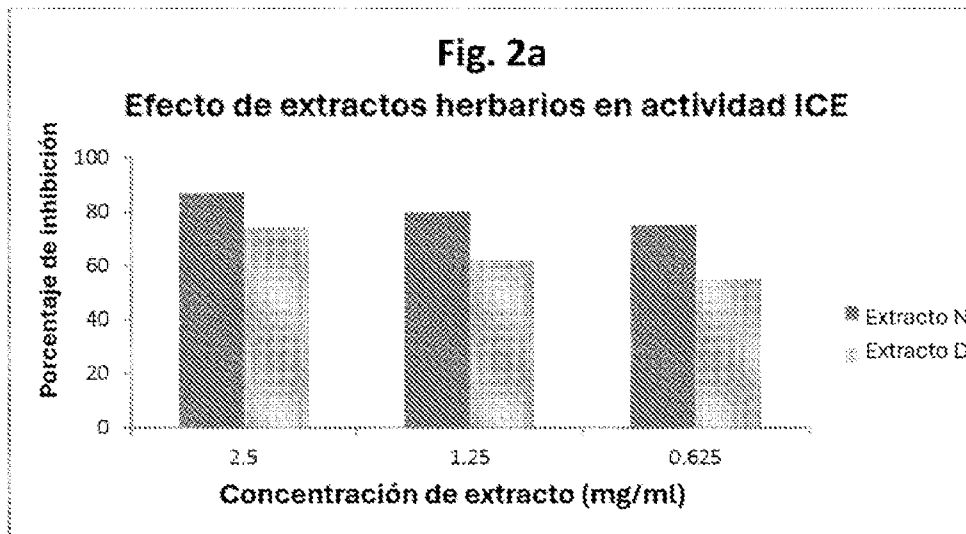
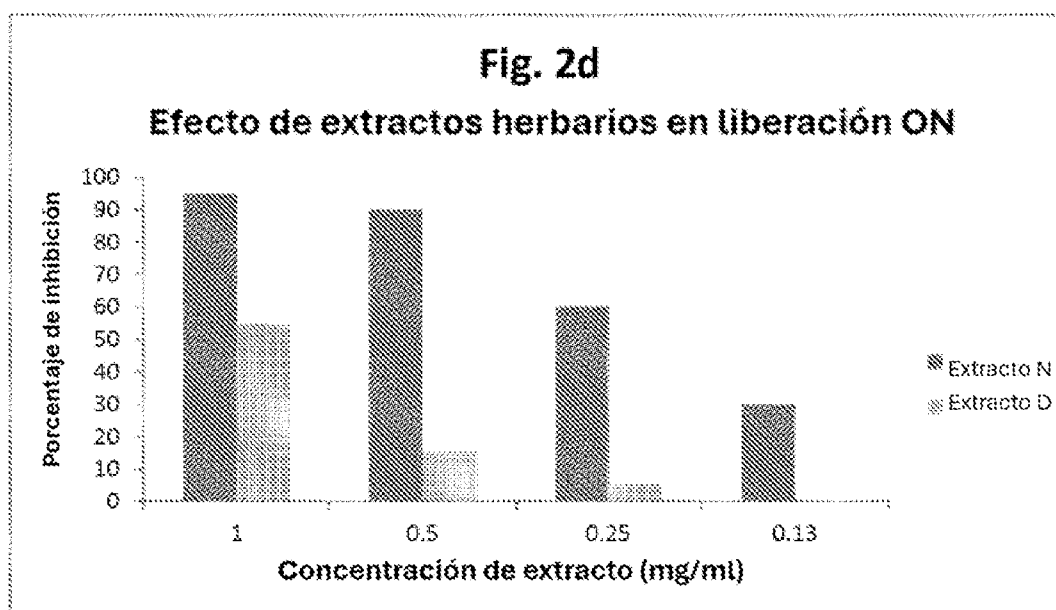
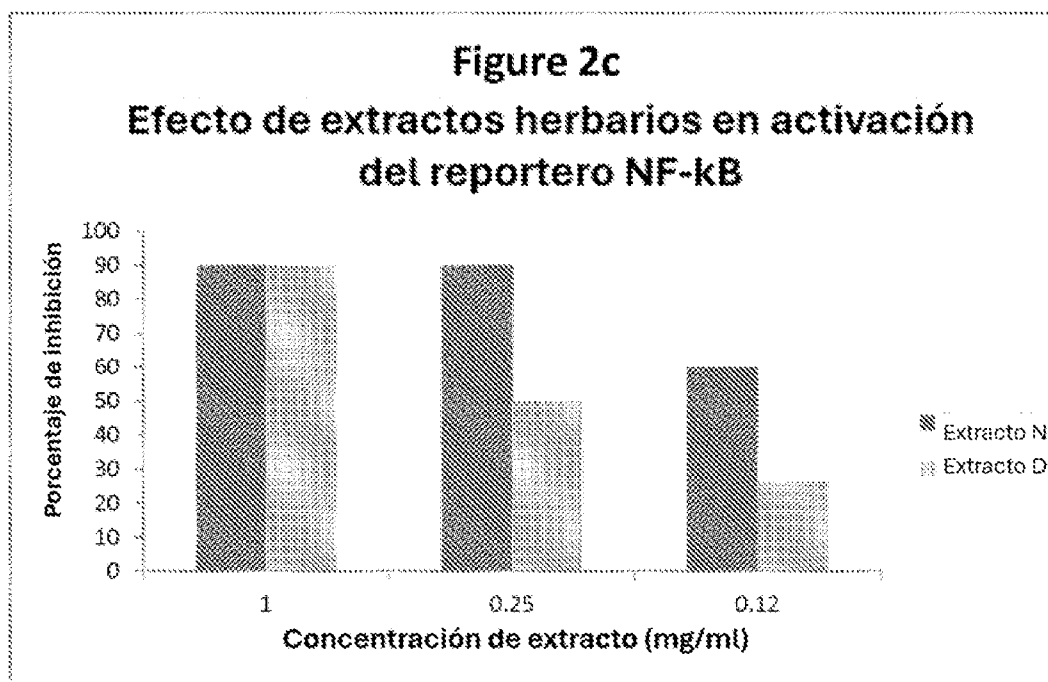


Fig. 1b





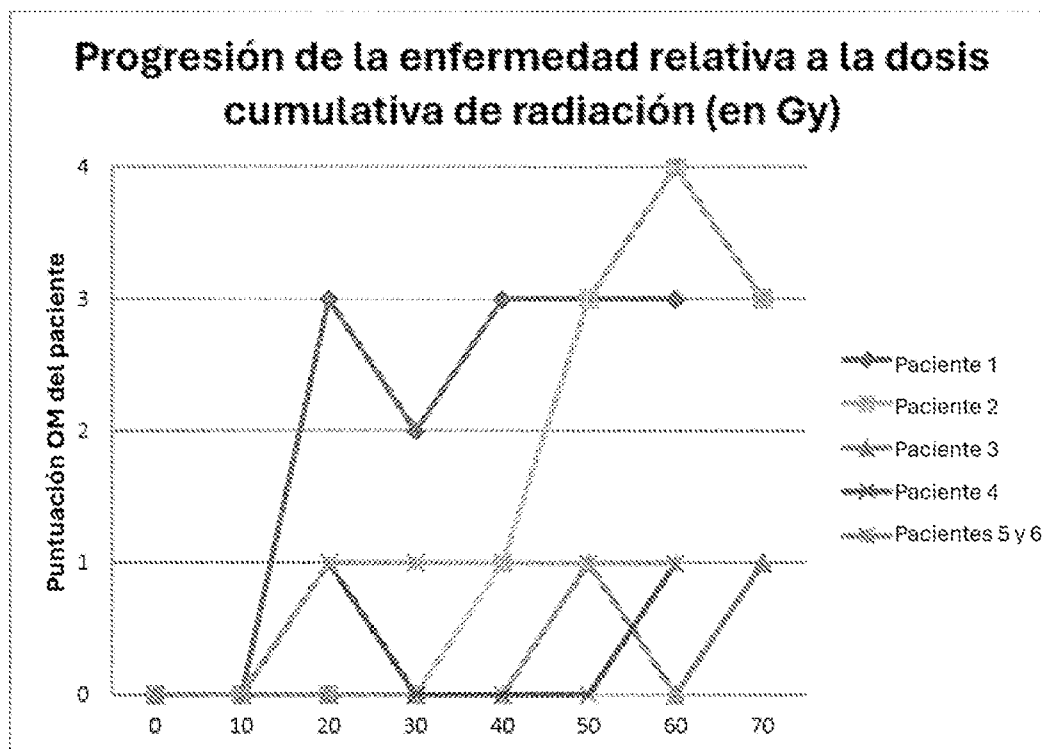
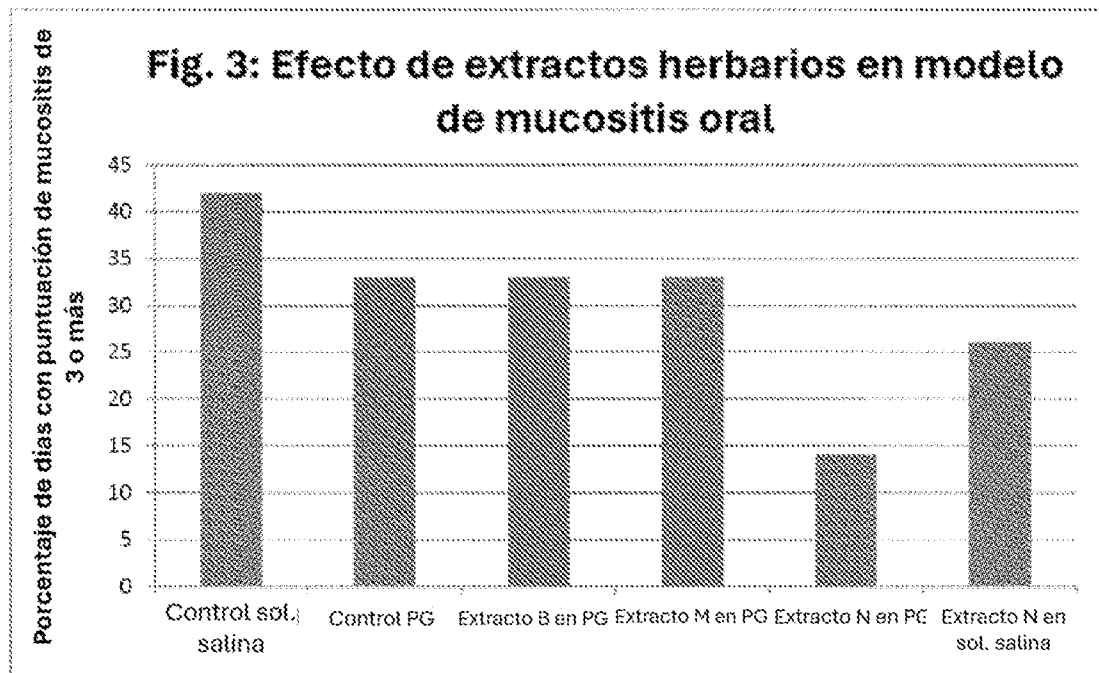


Fig. 4