

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 397 117**

51 Int. Cl.:

A61K 36/38 (2006.01)

A61K 36/58 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.07.2008** **E 08786725 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.10.2012** **EP 2185168**

54 Título: **Método para preparar un extracto de Hypericum en aceite de Nim y una sustancia así obtenida**

30 Prioridad:

01.08.2007 SM 200700032

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

04.03.2013

73 Titular/es:

MOSES S.R.L. (100.0%)

Via dei Paceri, 84/B

47891 Falciano , SM

72 Inventor/es:

MOSCONI, MARCO

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO FACES, José

ES 2 397 117 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

Método para preparar un extracto de Hypericum en aceite de Nim y una sustancia así obtenida.

CAMPO TECNICO

- 5 Esta invención se refiere a dispositivos médico-quirúrgicos, en particular se refiere a un método para la preparación de un extracto de Hypericum perforatum (Hypericum) en aceite de Nim y una sustancia así obtenida.

ANTECEDENTES DE LA TECNICA

Es conocido que el oleolito o el extracto de hypericum perforatum tiene efecto antiinflamatorio, antiséptico y cicatrizante en las heridas externas, úlceras y quemaduras.

- 10 Es conocido además que el aceite de nim tiene propiedades cicatrizantes, biocidas, antiinflamatorias, repelente de miasis y de no insectos.

Por ejemplo es conocido en la WO 2006/013607 que la mezcla de aceite de Nim y el extracto aceitoso de Hypericum perforatum añade las características bioactivas verificadas en los componentes individuales de la mezcla.

- 15 Dicho efecto de dilución evita pensar propiedades biológicas y biocidas equivalentes, de mezclas compositivas obtenibles individuales, ya que la propiedad biológica es molecular, depende de la estructura y depende de la dosis.

- 20 En el mencionado documento WO 2006/013607, para la modalidad de preparación indicada, el oleolito de hypericum no puede satisfacer ciertamente el criterio de reproducibilidad de los resultados del oleolito obtenidos, considerando la pérdida de las condiciones del proceso (temperatura, tiempo, grado de iluminación, agitación, proporción fármacos/aceite), para satisfacer el criterio de una reproducibilidad mínima de la composición molecular del oleolito.

Además en la preparación así ya obtenida a 16° C desarrolla turbiedad debido a los hidrocarburos, ácidos grasos, etc. precipitación modificando el esparcimiento y la facilidad de uso de la preparación. Este hecho disminuye la potencialidad en el espacio-tiempo, en relación con el clima.

- 25 Además la maceración espagírica usada en el proceso de extracción de acuerdo con el documento WO2006/013607 está sometida a la variabilidad del factor climático (luz, temperatura) y está sometida a tiempos de proceso variables.

- 30 La EP1197219 divulga un proceso para extraer aceite de hypericum de flores de H. perforatum con un aceite como el aceite de trigo, aceite de oliva, aceite de semillas de girasol aceite de colza, aceite de linaza, aceite de semillas de calabaza, aceite de sésamo, aceite de maíz, aceite de semillas de palma, aceite de cártamo y aceite de cacahuete.

Kulenova y otros, Acta Pharmaceutica, 50 (2000), páginas 29-37 divulga la extracción de flavonoide y quercitina en H. perforatum en extractos acuosos, acuosos-etanólicos y de aceite.

La FR 2864447 divulga una composición farmacéutica que comprende una mezcla de flores de Hypericum y aceite de oliva.

- 35 En el artículo publicado en el International Journal of Toxicology, 20 (Suppl. 2). 31-39, 2001, se describen la extracción de flores y hierbas de H. perforatum con 1,2-propilenglicol y de flores de Hypericum con 1,3-butilenglicol.

La EP 0415327 divulga extracto de hypericum erectum thunb preparado de hoja de tierra, tallo, raíz, fruta, semilla o flores de hypericum erectum thunb por extracción con un solvente orgánico.

DESCRIPCION DE LA INVENCION

- 40 El objeto de esta invención es proponer un método de extracción industrial de las sustancias bioactivas de las flores e infrutescencias (cápsulas) de Hypericum perforatum usando como solución de extracción del aceite de Nim sin usar otros aceites para la maceración.

Un objeto adicional de la invención es aumentar el método de extracción, por ejemplo, usando un solvente.

- 45 Un propósito adicional es obtener extractos de Hypericum directamente en concentrados de aceite de Nim y con un mayor rango de aplicabilidad en función de la temperatura.

un propósito adicional es además ofrecer un método muy fácil y económicamente ventajoso.

MEJOR MODO DE LLEVAR A CABO LA INVENCION

El objeto del método de la presente invención consiste en poner las flores de *Hypericum* frescas, congeladas, secadas, liofilizadas, y las infrutescencias (cápsulas), o sus mezclas en un reactor, que consiste de un contenedor de acero, equipado con un eje rotatorio central que lleva, insertadas en el eje, cuchillas de agitación, que pueden ser rotadas con velocidad variable.. El contenedor lleva una cubierta de cristal hermética permeable a las radiaciones en el campo del espectro visible.

El contenedor se calienta en una estado de vacío con presión no más baja de 0,04 atmósferas.

El valor de la proporción del peso de la solución del solvente/ peso de flores o cápsulas está entre 3 y 1 y entre 15 y 1 dependiendo del contenido de agua decreciente de las flores o cápsulas o de sus mezclas. Después de la introducción de las flores y/o cápsulas, se pone el solvente elegido entre:

a) aceite de Nim tal cual;

b) mezclas que incluyen aceite de Nim y un solvente o mezclas de solventes, como alcohol bencílico, etanol de 96°, alcohol de feniletilo, alcohol alfafeniletíl, alcohol etílico, alcohol isopropílico, alcohol octílico, glicoles como glicerina, propilenglicol, polietilenglicol, ésteres como el acetato de etilo, acetato de octilo, lactato de etilo, acetato de isopropilo, caprilato de etilo, etilfenilacetato, etilinooleato de etiloleato, etilaurato, trietilcitrato, acetato de feniletilo; triglicéridos como: trioleína, trilinoleína, tributirina, triacetina, tricaprilinea, tricaproina, tricaprilinea, aceites de parafina, siliconas, en proporción aceite de Nim - solventes entre 1:2 y 1:0,01.

Los solventes de extracción enumerados en los objetos a, b, solos o añadidos con componentes como siliconas, aceites de parafina, ésteres líquidos de triglicéridos a 4° C, pueden el fenómeno desfavorable de precipitación en la composición tópica durante la conservación, ampliando la aplicabilidad del intervalo hasta temperaturas cercanas a 0° C o menores.

Por lo tanto se obtiene el vacío, el calentamiento de la masa del solvente de extracción y la biomasa a temperaturas que varían entre 16° C y 100° C es activa y el eje de las cuchillas helicoidales se pone en rotación.

Se activa la irradiación y se mantiene el contacto entre la solución de extracción y la biomasa durante periodos de 1 hora hasta 400 horas.

Cuando el tiempo de extracción ha transcurrido, se manda el líquido de maceración, interponiendo uno o más filtros, en un recipiente teñido de ámbar de cristal oscuro y ahí dentro el producto de la maceración se conserva evitando el contacto con el oxígeno del aire. La cinética de extracción se supervisa por monitorización, por medio de cromatografía HPLC, las dos moléculas de la hipericina marcadora y derivados con 585 nanómetros y la hiperforina y derivados con 278 nanómetros.

Con este método se obtiene una composición como medicina antiinflamatoria, antiséptica y cicatrizante, por ejemplo en el tratamiento de heridas externas, úlceras, llagas y quemaduras, actuando además como repelente para la miasis y no insectos.

Características adicionales resultarán en gran medida de la descripción de alguna realización práctica de los ejemplos preferidos del método de preparación del extracto de acuerdo con la invención, los ejemplos dados en lo sucesivo son dados como indicativos y no como limitativos.

Ejemplo 1

Se introducen en el reactor 300 gramos de flores de *Hypericum* o cápsulas de *Hypericum perforatum* secadas, o congeladas, o liofilizadas, etc. y se obtiene el vacío tras el sellado hermético de la cubierta de cristal del reactor.

Después se introducen 4 kg de aceite de Nim claro, y cuando se completa la alimentación del solvente, comienza el agitador de múltiples cuchillas, la temperatura se eleva a 50° C y hay radiación.

Después de 220 horas se para el eje de mezclado, y simultáneamente se bloquea el calentamiento y la radiación y el extracto se transfiere a un recipiente de cristal teñido de ámbar.

Se insertan uno o dos cartuchos de filtrado para eliminar el material de suspensión en la tubería de de aducción del extracto. El extracto de *Hypericum* en aceite de Nim se conserva a oscuras a 20° C±1. El rendimiento del extracto fue de 2,85 kg igual al 71,25% del aceite de Nim introducido.

Ejemplo 2

Se introducen 300 gramos de flores de *Hypericum* liofilizadas (alrededor de 2 litros de volumen) de los cuales el 60% son infrutescencia en el reactor y se añaden 3,5 kg de la solución extractante, que consiste de aceite de Nim 41% 8peso/peso), 26% de acetato de etilo, 16% de alcohol de bencilo, 16% de etanol al 96%. Se obtiene el

vacio, se programa el calentamiento a 35° C y se ajusta la velocidad de la mezcla fijando la velocidad de rotación del eje que sostiene las cuchillas, radiando con lámparas de luz blanca, para un tiempo de extracción total de 180 horas.

Después de dicho periodo, se paran la agitación y la irradiación y el extracto se transfiere a un recipiente de cristal teñido de ámbar. El peso del extracto recuperado fue de 2,8 kg igual a un rendimiento del 80,3% de la mezcla extractante.

Ejemplo 3

Se colocan 800 gramos de cápsulas de Hypericum o flores de Hypericum frescas en el reactor, ambas 3,8 kg de la solución extractante del siguiente porcentaje de composición: 50% de aceite de Nim, 15% de alcohol fenil etílico, 20% de acetato de propilo, 10% de etanol a 96°, 2% de palmitato de isopropilo, 3% de aceite de parafina con el punto de congelación a -20° C y se obtiene el vacio. El calentamiento se fija a 65° C, se activa el agitador y, dada la irradiación, la extracción se continúa durante 120 horas. Se paran la agitación y la irradiación y la prueba continúa de acuerdo con el ejemplo 1 transfiriendo a un recipiente de cristal oscuro 2,3 kg del extracto igual a un rendimiento del 71,8%.

Ejemplo 4

Se colocan en el reactor 400 gr de flores frescas o cápsulas de Hypericum congeladas a -18° C en el reactor y después se añaden 3,5 kg de aceite de Nim. Se aplica el vacio y el calentamiento se fija a 98° C y el eje de agitación se pone en rotación a 20 revoluciones por hora, en presencia de irradiación. La extracción se lleva a cabo durante 1 hora, y después se para el aparato de mezclado y también se bloquean el calentamiento y la irradiación; el extracto de aceite de Hypericum perforatum se transfiere a un recipiente de cristal teñido de ámbar y se conserva a 20° C en oscuridad. el peso del extracto de aceite es de 2,5 kg con un valor de rendimiento de recuperación del 74,3%.

Ejemplo 5

Se introducen 350 gramos de flores Hypericum perforatum liofilizadas en el reactor y se añaden 3,00 kg de aceite de Nim como solvente extractante. Se aplica el vacio y el calentamiento se programa a 18° C con una velocidad de mezclado del eje de agitación programada a 15 revoluciones por hora, para un tiempo de extracción de 380 horas, irradiando con luz en el intervalo de 400-70 nanómetros. Después de ese tiempo, se paran la agitación y la irradiación y el extracto de aceite se transfiere de acuerdo con la metodología del ejemplo 1 en un recipiente de cristal teñido de ámbar. El peso del extracto de aceite de Hypericum perforatum fue 2,20 kg con un rendimiento de recuperación del 73,3%.

Ejemplo 6

Se introducen 300 gramos de biomasa que consiste de flores (60%) y de cápsulas (40%) de Hypericum perforatum frescas en el reactor y se aplica vacio hasta una depresión de 0,04 atmósferas.

Después de 10 minutos se añaden 3 Kg de solución extractante que consiste de aceite de Nim (60%), propilacetato (25%) - feniletalcohol (15%) a temperatura ambiente a la biomasa por succión bajo vacio. Con el calentamiento programado a 45° C y por radiación con luz blanca, el eje rotario de múltiples cuchillas arranca y la cinética de extracción se monitoriza por cromatografía HPLC a 278 nanómetros para las Hiperforinas y a 585 nanómetros para las Hipericinas. Después de 140 horas el contenido de estas moléculas llega a una placa, con una proporción de peso de Hiperforina a Hipericinas cercana a 15 a 1, y después se para el eje de mezclado, el calentamiento se bloquea y también la radiación, y finalmente el extracto se transfiere a un recipiente de cristal teñido de ámbar, por inserción en la tubería de aducción de cartuchos de filtración para retornar los materiales de la suspensión. el extracto de Hypericum recuperado fue de 2,6 kg con rendimiento del 86,6%; las Hiperofinas en el extracto conservadas a oscuras a 20° C + o -1, mostraron un tiempo de vida media propio notable de cerca de 15 meses por medición de cromatografía HPLC a 278 nanómetros.

Una ventaja es aumentar el método de extracción usando por ejemplo un solvente.

Una ventaja adicional es obtener extracto de Hypericum en concentrados de aceite de Nim.

REIVINDICACIONES

1. El método para preparar un extracto de Hypericum perforatum en aceite de Nim, **caracterizado por**:
 - combinar una cantidad de flores y/o cápsulas de Hypericum con una cantidad de aceite de Nim con una proporción de peso que varía de entre 1:3 y 1:15:
- 5
 - introducir en un reactor la mezcla de las cantidades de flores y/o cápsulas de Hypericum y de aceite de Nim;
 - mantener el vacío de la mezcla, bajo agitación durante un tiempo predefinido que varía entre una hora y 400 horas y la temperatura variando entre 16° C y 100° C.
2. El método de acuerdo con la reivindicación 1 **caracterizado por** proporcionar además la irradiación de la mezcla con luz en el espectro visible.
- 10 3. El método de acuerdo con la reivindicación 1 **caracterizado por** usar flores o cápsulas de Hypericum frescas, congeladas, liofilizadas o secadas.
4. El método de acuerdo con la reivindicación 1 **caracterizado porque** el vacío tiene una presión no más baja de 0,04 atmósferas.
- 15 5. El método de acuerdo con la reivindicación 1 **caracterizado porque** la agitación es variable entre 2 y 30 rotaciones por hora.
6. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores **caracterizado porque** la cantidad de aceite de Nim consiste de aceite de Nim y un solvente o una mezcla de solventes en donde el aceite de nim es al menos un 33% en peso del solvente o de la mezcla de solventes.
7. El método de acuerdo con la reivindicación 6 **caracterizado porque** el solvente es alcohol o glicoles o ésteres o triglicéridos o aceites de parafina, o siliconas o sus mezclas.
- 20 8. El método de acuerdo con la reivindicación 6 **caracterizado porque** el solvente es alcohol bencílico, etanol de 96°, alcohol de feniletilo, alcohol alfa-feniletilo, alcohol etílico, alcohol isopropílico, alcohol octílico, glicerina, propilenglicol, polietilenglicol, acetato de etilo, acetato de octilo, lactato de etilo, acetato de isopropilo, miristato de isopropilo, palmitato de isopropilo, caprilato de etilo, etilfenilacetato, etilinoleato de etiloleato, etilaurato, trietilcitrato, acetato de feniletilo, trioleína, trilinoleína, tributirina, triacetina, tricaprilinea, tricaproína, tricaprilinea o sus mezclas.
- 25 9. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores **caracterizado porque** el producto de la maceración es enviado, después de que ha transcurrido el tiempo de extracción, a un recipiente teñido de ámbar de cristal oscuro.
10. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores **caracterizado porque** el producto de la maceración se conserva evitando el contacto con el oxígeno del aire.
- 30 11. La composición obtenida por medio del método de cualquiera de las reivindicaciones 1-10.
12. La composición de acuerdo con la reivindicación 11 **caracterizado porque** el uso de la temperatura de la composición como loción líquida se baja al menos hasta 0° C.
13. la composición e acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11 a 12 **caracterizado porque** las flores o cápsulas de Hypericum son frescas o congeladas o secadas o liofilizadas o trituradas antes de la maceración.
- 35 14. El uso de la composición de acuerdo con las reivindicaciones 11 a 13 para preparar una medicina.