

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 973 285**

51 Int. Cl.:

A61K 36/752 (2006.01) **A61K 36/74** (2006.01)
A61K 36/8962 (2006.01) **A61P 37/08** (2006.01)
A61K 36/9066 (2006.01)
A61K 36/185 (2006.01)
A61K 36/28 (2006.01)
A61K 36/481 (2006.01)
A61K 36/534 (2006.01)
A61K 36/535 (2006.01)
A61K 36/61 (2006.01)
A61K 36/71 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.06.2017** **PCT/MY2017/000024**
87 Fecha y número de publicación internacional: **04.01.2018** **WO18004331**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.06.2017** **E 17761140 (7)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.12.2023** **EP 3474874**

54 Título: **Composición de extracto de perilla**

30 Prioridad:

28.06.2016 MY PI2016702386

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.06.2024

73 Titular/es:

WINDSTAR MEDICAL GMBH (100.0%)
Bessie-Coleman-Str. 13
60549 Frankfurt, DE

72 Inventor/es:

CHEW, AUDREY LI CHIN;
CHEN, QINGWEN;
TAN, BEE KWAN;
SCHELMANN, VOLKER y
MILLER, ALBRECHT JÖRG MATTHIAS

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 973 285 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

Composición de extracto de perilla

5 Campo técnico

La presente invención se refiere en general al uso de una combinación de un aceite de Perilla y aceite de sésamo para inhibir la activación de mastocitos. En particular, la presente invención se refiere al uso de una combinación de un aceite de *Perilla* y aceite de sésamo para prevenir la rinitis alérgica.

10 Antecedentes

Los mastocitos son granulocitos derivados de células madre mieloides. Los mastocitos son activados por los alérgenos a través de la reticulación con receptores de IgE en la superficie celular, lesión física a través de moléculas de patrón molecular asociadas a daño, agentes relacionados con patógenos a través de moléculas de patrón molecular asociadas a patógeno, diversos compuestos con sus receptores acoplados a proteína G asociada y proteínas de complemento. La activación de mastocitos provoca que se genere una ruta de señalización intracelular compleja, que tiene como resultado la desgranulación de mastocitos. Aquí es donde las moléculas almacenadas en los gránulos de mastocitos se liberan fuera de la célula. Esto incluye, por ejemplo, proteasas de serina (por ejemplo tripsina), histamina, serotonina y proteoglicanos (por ejemplo heparina). Los mastocitos desempeñan un papel en los sistemas inmunitario y neuroinmunitario, la cicatrización de heridas, angiogénesis y función de barrera hematoencefálica. Los mastocitos se han implicado así en numerosas enfermedades.

Por tanto, existe una demanda continua de composiciones que inhiban los mastocitos, que puedan, por ejemplo, tener efectos profilácticos y/o terapéuticos sobre trastornos asociados a la activación y/o desgranulación de mastocitos.

El documento US 7,384,656 B2 describe una composición y un método relacionado que previene, inhibe y/o mitiga una respuesta alérgica mediante la regulación por disminución de la producción de IgE, regulación por disminución de la unión de anticuerpos de IgE a receptores en células, y/o la inhibición de mediadores de alergia, por ejemplo, la liberación de histamina, prostoglandina D2, o luecotrieno C4. La composición comprende al menos uno de los siguientes ingredientes: luteolina de hoja o semilla de Perilla, Canela, Kiwi, Picao preto, Hesperidina, Cereza de Acerola, Guaco, Albahaca Santa, Kakadu, Solamum, Ácido Rosmarínico, Tinospora y Aframomum. El documento JP-A-2000316473 describe un método para producir un aceite comestible que comprende mezclar uno o más tipos de semillas seleccionadas entre semillas de linaza purificadas, semillas de Perilla ocimoides purificadas, semillas de Perilla frutescens críspa purificadas, semillas de Oenothera tetralopha purificadas, y/o semillas de borraja purificadas con semillas de sésamo purificadas preferentemente en una cantidad de un 10 a 80%, cocer al vapor la mezcla mediante un método convencional, exprimir la mezcla cocida, por ejemplo, mediante el uso de un expulsor, para obtener el aceite crudo exprimido, y posteriormente filtrar el aceite crudo exprimido, cuando se produce un aceite comestible caracterizado por un aroma, o someter el aceite crudo exprimido a un tratamiento de eliminación de gomosidad, tratamiento de desacidificación, tratamiento decolorante y tratamiento desodorizante, cuando se produce un aceite salado comestible, o similar, que tiene escaso aroma.

El documento JP H04 290822 divulga una combinación 1:1 de aceite de perilla y aceite de sésamo (grupo E en el Ejemplo 3) que se muestra que conduce a un efecto preventivo de alergia cuando se administra por vía oral en forma de cápsulas.

Sumario

La presente invención tiene como objetivo proporcionar una composición que tenga una combinación específica de principios activos, que actúe para inhibir la activación de mastocitos. En determinadas realizaciones, la presente invención tiene como objetivo proporcionar una composición que tenga una combinación específica de principios activos que actúen sinérgicamente para inhibir la activación de mastocitos y/o la desgranulación de mastocitos y/o la liberación de histamina de mastocitos.

Según un primer aspecto de la invención, se proporciona una composición que comprende un aceite de perilla y aceite de sésamo, en la que el aceite de perilla y el aceite de sésamo están presentes en la composición en una relación en peso de aproximadamente 1:1, para su uso en un método para prevenir la rinitis alérgica estacional o la rinitis alérgica perenne;

en forma de un pulverizador.

La composición puede inhibir la desgranulación de mastocitos. La composición puede inhibir la liberación de histamina procedente de mastocitos.

La composición puede reducir la liberación de histamina en al menos aproximadamente un 20% o al menos aproximadamente un 40% o al menos aproximadamente un 50%. Por ejemplo, la composición puede reducir la

concentración de histamina en el tejido de un sujeto en al menos aproximadamente un 20% o al menos aproximadamente un 40% o al menos aproximadamente un 50%.

La presente divulgación también proporciona un método para preparar una composición que comprende un aceite de *Perilla* y aceite de sésamo, comprendiendo el método combinar el aceite de *Perilla* y el aceite de sésamo.

Realizaciones de la invención se describen de forma adicional en la descripción detallada. Cualquier realización descrita en la presente memoria o cualquier combinación de realizaciones descritas en la presente memoria resulta aplicable a uno o más aspectos de la presente invención, a menos que se contradiga claramente por el contexto.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es un gráfico que muestra los porcentajes de reducción de histamina de la estirpe celular de HMC-1 cuando se trata con aceite de semilla de perilla, aceite de semilla de sésamo, cromolina y la combinación, en comparación con los controles respectivos.

La Figura 2 es un gráfico que muestra los porcentajes de reducción de histamina de la estirpe celular de HMC-1 cuando se trata con la combinación y cromolina, en comparación con los valores promedio de histamina de los aceites de perilla y sésamo.

Descripción detallada

En la siguiente divulgación, las referencias a "un extracto de *Perilla* spp." son a aceite de perilla, y las referencias a "otro extracto vegetal" son a aceite de sésamo.

La presente invención se basa, al menos en parte, en el sorprendente hallazgo de que una combinación de un extracto de *Perilla* spp. y otro extracto vegetal puede inhibir la activación de mastocitos. Por ejemplo, las realizaciones de la presente invención se basan en el sorprendente hallazgo de que un extracto de *Perilla* spp. y otro extracto vegetal pueden trabajar sinérgicamente para inhibir la activación de mastocitos. En determinadas realizaciones, se puede usar la combinación de un extracto de *Perilla* spp. y otro extracto vegetal para tratar trastornos asociados a la activación de mastocitos y/o desgranulación de mastocitos.

En lo sucesivo, la invención se describe según realizaciones preferidas de la presente invención y haciendo referencia a la descripción y los dibujos adjuntos. No obstante, se debe entender que limitar la descripción a las realizaciones preferidas de la invención es simplemente facilitar la discusión de la presente invención y se prevé que los expertos en la técnica puedan idear diversas modificaciones sin apartarse del alcance de la reivindicación adjunta.

Los términos utilizados de manera general anteriormente y en lo sucesivo en la presente memoria tienen preferentemente los significados indicados a continuación, a menos que se indique lo contrario, por lo que se pueden usar significados más específicos independientemente entre sí en realizaciones preferidas de las presentes invenciones en lugar de las definiciones generales, estos significados más específicos describen realizaciones especialmente preferidas de la invención.

Cuando la expresión "al menos uno/a" o "uno/a o más" aparece antes y a continuación en la presente memoria, hace referencia en particular a una cantidad de uno a diez, para la preferencia de uno a tres, y en particular uno o, además, dos, de las características citadas, tales como componentes, donde se indican intervalos, tales como intervalos de porcentaje en peso, estos incluyen los valores límite indicados; así, por ejemplo, "entre X e Y" significa "desde e incluyendo X hasta e incluyendo Y".

El término "producto" o "composición" puede significar en particular un producto farmacéutico o composición farmacéutica, en el sentido de una formulación, por lo que este término no se restringe a productos farmacéuticos adecuados para registro, o un producto médico o productos farmacéuticos ficticios. El "producto" o "composición" puede hacer referencia a un producto nutracéutico en el sentido de una formulación.

El término "antialérgico" se debe entender que hace referencia a un agente o medida que previene, inhibe o alivia una reacción alérgica.

El término "antiinflamatorio" se debe entender que hace referencia a un agente o medida que previene, inhibe o alivia una reacción inflamatoria.

La expresión "tratamiento terapéutico" o "método terapéutico", también incluye la profilaxis y el alivio de los síntomas en un sujeto, aunque no tratamientos cosméticos.

Esto se refiere al tratamiento terapéutico, y en particular a la profilaxis de trastornos relacionados con mastocitos, por ejemplo trastornos relacionados con la activación de mastocitos y/o la desgranulación de mastocitos.

Los componentes a los que se hace referencia anteriormente y en lo sucesivo en la presente memoria están seleccionados en particular entre los que se enumeran en la farmacopea, por ejemplo US Pharmacopoeia National Formulary, Pharmacopoea Europea, Pharmacopoea Helvetica, British Pharmacopoeia, German Pharmacopoeia, Japanese Pharmacopoeia, Chinese Pharmacopoeia, o suplementos, tales como por medio de decretos.

La presente divulgación se refiere a una composición que comprende un extracto de *Perilla* spp. y otro extracto vegetal. La composición puede, por ejemplo, comprender uno o más extractos vegetales adicionales. Por ejemplo, la composición puede comprender un tercer o cuarto o quinto o sexto extracto vegetal. La composición puede consistir, por ejemplo, esencialmente en o consistir en un extracto de *Perilla* spp. y otro extracto vegetal. La composición puede, por ejemplo, consistir esencialmente en o consistir en un extracto de *Perilla* spp. y otro extracto vegetal y un tercer extracto vegetal y opcionalmente un cuarto, quinto o sexto extracto vegetal y otro extracto vegetal y un tercer extracto.

El término "extracto" abarca extracto acuoso, extracto no acuoso, extractos alcohólicos, evaporación, destilación (por ejemplo, por agua, vapor, hidrodifusión, cohobación, rectificación, fraccionada, etc.), expresión/prensado en frío, extracción supercrítica de CO₂, diluciones, concentrados vegetales, aceites vegetales, maceraciones vegetales, exudados vegetales, resinas vegetales, polvos vegetales y gránulos vegetales y cualquier combinación de dos o más de los mismos. No obstante, la invención no se debe interpretar como limitada a dichas realizaciones. El extracto de *Perilla* spp. puede proceder, por ejemplo, de *Perilla frutescens* (también conocida como perilla, albahaca china y bistec de ternera), *Perilla citrodora*, *Perilla hirtella*, *Perilla setoyensis* o una combinación de dos o más de los mismos.

El otro extracto vegetal y el tercer, cuarto, quinto o sexto extractos vegetales opcionales pueden, por ejemplo, cada uno de manera independiente, ser un extracto vegetal antiinflamatorio o antialérgico. El otro extracto vegetal y el tercer, cuarto, quinto o sexto extractos vegetales opcionales pueden, por ejemplo, cada uno de manera independiente, ser un extracto estabilizador de mastocitos. El otro extracto vegetal y el tercer, cuarto, quinto o sexto extractos vegetales opcionales pueden, por ejemplo, cada uno de manera independiente, ser un extracto vegetal medicinal o terapéutico o nutricional o beneficioso para la salud.

El tercer, cuarto, quinto o sexto extractos vegetales opcionales pueden, por ejemplo, proceder cada uno de manera independiente, de *Nigella* spp. (por ejemplo, *Nigella sativa* que también se conoce como comino negro, alcaravea negra o semilla de hinojo), *Urtica* spp. (por ejemplo, ortiga), *Astragalus* spp. (por ejemplo, veza lechera), *Petasites* spp. (por ejemplo, mantequilla), *Citrus* spp. (por ejemplo, limón), *Uncaria* spp. (por ejemplo, uña de gato), *Lavandula* spp. (por ejemplo, lavanda), *Mentha* spp. (por ejemplo, menta), *Eucalyptus* spp. (por ejemplo, *Eucalyptus globulus* que también se conoce como goma azul de Tasmania, goma azul del sur o goma azul), *Matricaria* spp. (por ejemplo, manzanilla alemana), *Rosmarinus* spp. (por ejemplo, romero), *Curcuma* spp. (por ejemplo, cúrcuma), *Allium* spp. (por ejemplo, ajo), o una combinación de dos o más cualquiera de los mismos. El otro (segundo) extracto vegetal procede de *Sesamum* spp.

El extracto de *Perilla* spp., el otro extracto vegetal y los extractos vegetales opcionales tercero, cuarto, quinto y sexto se pueden obtener, por ejemplo, cada uno de manera independiente a partir de la raíz de semilla, hoja o planta entera como se enumera en la descripción anterior. En determinadas realizaciones, cada uno de los extractos vegetales procede de manera independiente (por ejemplo, todos) de la semilla de la planta.

El extracto de *Perilla* spp. es aceite de perilla y el otro extracto vegetal es aceite de sésamo. En determinadas realizaciones, el extracto de *Perilla* spp. es aceite de perilla procedente de semilla de la planta de *Perilla* spp., y el otro extracto vegetal es aceite de sésamo. En determinadas realizaciones, el extracto de *Perilla* spp. es aceite de semilla de *Perilla frutescens* y el otro extracto vegetal es aceite de semilla de *Sesamum indicum*.

El extracto de *Perilla* spp. es aceite de perilla y el otro extracto vegetal es aceite de sésamo y la relación en peso de aceite de perilla con respecto a aceite de sésamo está dentro del intervalo de aproximadamente 1:1.

El extracto de *Perilla* spp. y el otro extracto vegetal pueden, por ejemplo, estar presentes en la composición en una cantidad en peso de aproximadamente un 5% a aproximadamente un 99,5% o de aproximadamente un 10% a aproximadamente un 95% o de aproximadamente un 20% a aproximadamente un 90% o de aproximadamente un 30% a aproximadamente un 80% o de aproximadamente un 40% a aproximadamente un 70% o de aproximadamente un 50% a aproximadamente un 60%. Por ejemplo, el extracto de *Perilla* spp. y el otro extracto vegetal pueden, por ejemplo, estar presentes en la composición en una cantidad en peso de aproximadamente un 20% a aproximadamente un 60% o de aproximadamente un 25% a aproximadamente un 55% o de aproximadamente un 30% a aproximadamente un 50% o de aproximadamente un 35% a aproximadamente un 45%.

La composición se puede administrar en forma de una composición que comprende cualquier componente adicional adecuado.

Las composiciones adoptan la forma de pulverizaciones.

Las técnicas y formulaciones generalmente se pueden encontrar en Remington, The Science and Practice of Pharmacy, Mack Publishing Co., Easton, PA, última edición.

La expresión "composición farmacéutica" o "medicamento" en el contexto de la presente invención significa una composición que comprende (una cantidad farmacéuticamente eficaz de) un extracto de *Perilla* spp. y otro extracto vegetal, y adicionalmente uno o más vehículos y/o excipientes farmacéuticamente aceptables. La composición farmacéutica puede contener además ingredientes seleccionados entre, por ejemplo, diluyentes, adyuvantes, excipientes, vehículos, contraiones, agentes conservantes, agentes emulsionantes, agentes de suspensión, agentes colorantes, agentes conservantes, agentes gelificantes, agentes perfumantes, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos, agentes tamponadores.

Las composiciones pueden comprender no más de aproximadamente un 50% p/p de vehículo y/o excipiente farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, no más de aproximadamente un 45% p/p de vehículo y/o excipientes farmacéuticamente aceptables o no más de aproximadamente un 40% p/p de vehículo y/o excipientes farmacéuticamente aceptables, o no más de aproximadamente un 35% p/p de vehículo y/o excipientes farmacéuticamente aceptables. Por ejemplo, la composición farmacéutica puede comprender al menos aproximadamente un 1% p/p, o al menos aproximadamente un 10% p/p, o al menos aproximadamente un 15% p/p, o al menos aproximadamente un 20% p/p, o al menos aproximadamente un 25% p/p, o al menos aproximadamente un 30% p/p de un vehículo y/o excipientes farmacéuticamente aceptables.

Las preparaciones en forma líquida incluyen disoluciones, suspensiones y emulsiones, por ejemplo, agua o disoluciones de agua/propilenglicol (para administración tópica). Se pueden formular preparaciones líquidas o semi-sólidas en disolución acuosa de polietilenglicol.

El principio(s) activo(s), es decir, extractos vegetales, se pueden mezclar con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como agua y/o cualquiera de los siguientes: disolvente tal como propilenglicol, miristato de isopropilo, alcohol; humectante tal como glicerol; conservantes tales como fenoxietanol, caprilglicol, etilhexilglicerina, cloruro de benzalconio, sorbato de potasio, EDTA disódico, benzoatos y parabenos; modificadores de viscosidad/espesantes tales como gomas, aceite de soja, poliacrilatos (por ejemplo, poliacrilato de sodio, polímero Carbopol 980) y alginatos; agentes tamponadores tales como fosfato monopotásico, hidrógeno fosfato dipotásico y glicerina; agentes gelificantes o emulsionantes tales como bentonita, goma de xantano, carragenina, polisorbato 80, polisorbato 20, gelatina, alcohol cetearílico, lecitina, monoestearato de glicerol, antioxidantes tales como tocoferoles y ácido cítrico; agentes colorantes; reguladores de pH y tensioactivos.

La composición puede comprender además otros agentes biológicamente activos, por ejemplo, agentes biológicamente activos adecuados para inhibir la activación de mastocitos o adecuados para prevenir o tratar una enfermedad o trastorno asociado a la activación de mastocitos o desgranulación de mastocitos. Por ejemplo, la composición puede comprender además otros agentes activos antialérgicos.

La composición o composición farmacéutica puede comprender además un ingrediente nutriente seleccionado del grupo que consiste en vitaminas y minerales, y combinaciones de los mismos. La vitamina puede ser una o más de vitamina A, vitamina D, vitamina E, vitamina K, tiamina, riboflavina, piridoxina, cianocobalamina, carotenoides (incluyendo beta-caroteno, zeaxantina, luteína y licopeno), niacina, ácido fólico, ácido pantoténico, biotina, vitamina C, colina, inositol, y sales y derivados de los mismos. El mineral puede ser uno cualquiera o más de calcio, fósforo, magnesio, hierro, cinc, manganeso, cobre, cobalto, boro, yodo, sodio, potasio, molibdeno, selenio, cromo, flúor y cloruro.

En determinadas realizaciones, los componentes de extracto vegetal tienen un efecto sinérgico en la inhibición de la activación de mastocitos y/o la desgranulación de mastocitos y/o la liberación de histamina de mastocitos.

Los mastocitos son activados por los alérgenos a través de la reticulación con receptores de IgE en la superficie celular, lesión física a través de moléculas de patrón molecular asociadas a daño, agentes relacionados con patógeno a través de moléculas de patrón molecular asociadas a patógeno, diversos compuestos con sus receptores acoplados a proteína G asociada y proteínas de complemento. La activación de mastocitos provoca que se produzca una ruta de señalización intracelular compleja, que tiene como resultado la desgranulación de mastocitos. Aquí es donde las moléculas almacenadas en los gránulos de mastocitos se liberan fuera de la célula. Esto incluye, por ejemplo, proteasas de serina (por ejemplo tripsina), histamina, serotonina y proteoglicanos (por ejemplo heparina). La inhibición de la activación de mastocitos puede incluir, por ejemplo, una cualquiera o más de estas etapas. Por ejemplo, las composiciones divulgadas en la presente memoria pueden ser útiles para inhibir la desgranulación de mastocitos. Por ejemplo, las composiciones divulgadas en la presente memoria pueden ser útiles para inhibir la liberación de histamina desde el mastocito.

De este modo, en determinadas realizaciones, la composición se puede usar para reducir la liberación de histamina en al menos aproximadamente un 20%. Por ejemplo, la composición puede reducir la liberación de histamina en al menos aproximadamente un 30% o al menos aproximadamente un 40% o al menos aproximadamente un 50% o al menos aproximadamente un 60% o al menos aproximadamente un 70% o al menos aproximadamente un 75% o al menos aproximadamente un 80% o al menos aproximadamente un 85% o al menos aproximadamente un 90% o al menos aproximadamente un 95%. Por ejemplo, la composición puede reducir la liberación de histamina hasta en un

100%, por ejemplo hasta un 99% o hasta un 98%. Esto se puede determinar, por ejemplo, midiendo el contenido de histamina en el medio de cultivo celular, por ejemplo como se describe en los ejemplos a continuación.

También se divulga el uso de un extracto de *Perilla* spp. Y otro extracto vegetal en la fabricación de un medicamento o composición farmacéutica. El medicamento o composición farmacéutica es para prevenir un trastorno alérgico.

Los trastornos alérgicos abarcan trastornos causados por hipersensibilidad del sistema inmunitario. En general, los trastornos alérgicos están provocados por hipersensibilidad a un alérgeno que causa escasa reacción en la mayoría de los sujetos. Los alérgenos que pueden estar relacionados con trastornos alérgicos pueden derivar, por ejemplo, de alimentos, látex, medicamentos, polen y otros animales (por ejemplo, pelo de animal, picaduras de insecto). Los trastornos alérgicos abarcan trastornos alérgicos de la cavidad nasal, incluyendo rinitis alérgica estacional y rinitis alérgica perenne. Los trastornos alérgicos también incluyen conjuntivitis alérgica, dermatitis alérgica de contacto, dermatitis atópica y asma alérgica. La anafilaxis es una reacción alérgica grave. En la presente invención, el trastorno alérgico es un trastorno alérgico de la cavidad nasal, concretamente rinitis alérgica estacional y/o rinitis alérgica perenne.

La composición puede reducir la concentración de histamina en el tejido de un sujeto en al menos aproximadamente un 20%. Por ejemplo, la composición puede reducir la concentración de histamina en el tejido del sujeto en al menos aproximadamente un 30% o al menos aproximadamente un 40% o al menos aproximadamente un 50% o al menos aproximadamente un 60% o al menos aproximadamente un 70% o al menos aproximadamente un 75% o al menos aproximadamente un 80% o al menos aproximadamente un 85% o al menos aproximadamente un 90% o al menos aproximadamente un 95%. Por ejemplo, la composición puede reducir la concentración de histamina en el tejido de un sujeto hasta en un 100%, por ejemplo hasta un 99% o hasta un 98%.

La concentración de histamina en el tejido del sujeto se puede medir mediante cualquier método conocido por el experto en la técnica. Por ejemplo, la concentración de histamina se puede determinar mediante muestreo de microdiálisis seguido de cuantificación con estuches de ELISA disponibles comercialmente o por HPLC. Por ejemplo, la concentración de histamina en un punto localizado se puede determinar usando muestras de tejido tales como fracciones homogeneizadas de tejido. Por ejemplo, la concentración de histamina se puede determinar usando tejido procedente de un punto en el que un alérgeno ha entrado en contacto con mastocitos o un punto de muestreo (por ejemplo, piel, revestimiento de mucosa (tracto respiratorio, gastrointestinal), sangre, órganos, médula ósea, etc.).

La composición o la composición farmacéutica divulgada en la presente memoria puede comprender además un fármaco antialérgico o sustancia antialérgica farmacéuticamente activa, por ejemplo, un antihistamínico o un estabilizador de mastocitos adicional (por ejemplo, cromoglicato, etc.). La composición o composición farmacéutica puede comprender además una antihistamina, incluyendo H₁-antihistamina (por ejemplo azelastina, olopatadina, triprolidina, bilastina, cetirizina, pirilamina, etc.), H₂-antihistamina (por ejemplo cimetidina, famotidina, etc.) y H₃-antihistamina (por ejemplo tioperamida, etc.). La antihistamina se opone a la actividad de los receptores de histamina en el sujeto y además mejora el efecto inhibitorio de la activación de mastocitos del aceite antialérgico y componente oleoso (aceite de perilla y aceite de sésamo) en la composición o la composición farmacéutica. La azelastina se puede usar como antihistamina en la composición, ya que tiene un triple modo de acción, es decir, efecto de antihistamina, efecto estabilizador de mastocitos y efecto antiinflamatorio. Por ejemplo, la composición o la composición farmacéutica puede comprender de aproximadamente un 0,1% en peso a aproximadamente un 50% en peso, o de aproximadamente un 0,01% en peso a aproximadamente un 10% en peso, o de aproximadamente un 10% en peso a aproximadamente un 40% en peso, o de aproximadamente un 20% en peso a aproximadamente un 30% en peso de antihistamina en peso de la composición descrita en la presente memoria.

En determinadas realizaciones, el sujeto es una persona. En otras realizaciones, el sujeto es un mamífero distinto de una persona, tal como primates no humanos (por ejemplo, simios, monos y lémures), animales de compañía tales como gatos o perros, animales de trabajo y deportivos tales como perros, caballos y ponis, animales de granja tales como cerdos, ovejas, cabras, ciervos, bueyes y ganado vacuno, y animales de laboratorio tales como roedores (por ejemplo, conejos, ratas, ratones, hámsteres, jerbos o cobayas).

En determinadas realizaciones, la composición se administra diariamente al sujeto (por ejemplo, por vía oral o tópica administrada diariamente al sujeto). La cantidad de composición administrada puede variar dependiendo de los requisitos del sujeto. Para aplicaciones terapéuticas, la cantidad de composición administrada puede variar dependiendo de los resultados deseados, requisitos del sujeto y gravedad de la afección que está siendo objeto de tratamiento. La determinación de la cantidad/dosificación apropiada para una situación particular está dentro de la habilidad de la técnica. Por ejemplo, para aplicaciones terapéuticas, un médico o veterinario que tenga experiencia habitual en la técnica puede determinar y prescribir fácilmente la cantidad eficaz de composición farmacéutica requerida. La cantidad/dosificación diaria total se puede dividir y administrar en partes durante el día si se desea.

En general, la dosis diaria adecuada de agentes activos en la composición es la cantidad que representa la dosis más baja eficaz para producir el efecto deseado, por ejemplo, un efecto terapéutico, y/o para inhibir la activación de mastocitos y/o para inhibir la desgranulación de mastocitos y/o para inhibir la liberación de histamina de los mastocitos. Se contempla que se pueda utilizar un amplio intervalo de dosis, debido a la naturaleza no tóxica de la composición.

El experto en la técnica comprende que la dosis o dosificación adecuada varía típicamente de un sujeto a otro, y depende de factores tales como la gravedad de las condiciones de salud del sujeto al comienzo de la administración de la composición. Por ejemplo, la dosis de agentes activos (es decir, extractos vegetales) en la composición puede ser de hasta 15 g por día, por ejemplo, hasta aproximadamente 10 g por día, o hasta aproximadamente 5 g por día.

- 5 En determinadas realizaciones, las dosis de agentes activos en la composición están dentro del intervalo de 100 mg a aproximadamente 3 g por día, que se pueden administrar como dos o tres o más subdosis administradas por separado a intervalos apropiados durante todo el día, opcionalmente en formas de dosificación unitaria. En determinadas realizaciones, la dosis de agentes activos en la composición puede ser de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 3 g de cada componente de extracto por día, por ejemplo, de aproximadamente 500 mg a aproximadamente 3 g de cada componente por día, o de aproximadamente 750 mg a aproximadamente 2,5 g de cada componente por día, o de aproximadamente 1000 mg a aproximadamente 2000 mg de cada componente por día. En determinadas realizaciones, la composición se puede administrar dos o tres veces al día, opcionalmente antes, con o después de una comida. En determinadas realizaciones, cada dosis de agentes activos no es mayor que aproximadamente 5 g, por ejemplo, no mayor que aproximadamente 3 g, por ejemplo, no mayor que aproximadamente 2,5 g. Cada dosis de los extractos vegetales en la composición se puede combinar con otros agentes convencionales para inhibir la activación de mastocitos.

- Las composiciones y composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria se pueden preparar combinando un extracto de *Perilla* spp. Y un segundo extracto vegetal y opcionalmente uno o más de los otros ingredientes descritos en la presente memoria, tales como uno o más extractos vegetales adicionales, agentes biológicamente activos y excipientes y/o vehículos y/o diluyentes farmacéuticos. Los componentes se combinan en cantidades adecuadas para obtener una composición que tiene la cantidad deseada de cada componente. Cada componente se puede combinar con uno o más de otros componentes en cualquier orden y combinación adecuada para obtener el producto deseado. Dichos métodos son bien conocidos en la técnica, por ejemplo, métodos conocidos en la industria farmacéutica.

- Las preparaciones se pueden fabricar según métodos convencionales y conocidos, que incluyen en particular la mezcla de los componentes, si se requiere etapa a etapa y/o bajo movimiento y/o calentamiento del fluido, por ejemplo mediante agitación.

- La presente invención se describe ahora con más detalle con referencia a los siguientes ejemplos no limitantes.

Ejemplos Ejemplo 1: Ensayo de mastocitos

- 35 Se cultivaron estirpes celulares de mastocitos, es decir, células HMC1 (proporcionadas por Dr. Joseph H. Butterfield, Mayo Clinic, Rochester, MN, EE. UU.), en medio de Dulbecco modificado de Isocove (IMDM) que contenía un 10% de suero bovino fetal (FBS), L-glutamina 2 mM, 50 μ M de 2-mercaptoetanol, 100 U/ml de penicilina y 100 μ g/ml de estreptomicina. Las células se mantuvieron a 37 °C en CO₂ al 5% en atmósfera humidificada.

- 40 Se determinó el porcentaje de células vivas mediante tinción con azul de tripano. Se preparó una dilución 1:10 con 50 μ l de suspensión celular y 450 μ l de azul de tripano y se contó el número de células vivas y muertas en un hemocitómetro. Se transfirieron 10⁶ células vivas a tubos Eppendorf de cierre seguro, se centrifugaron suspensiones de células (200 g, 5 min) y se descartó el sobrenadante.

- 45 Se determinó el efecto del aceite de perilla, aceite de sésamo y una combinación de aceite de perilla y aceite de sésamo (relación 1:1) en el vehículo Kolliphor ELP (aceite de ricino hidrogenado con polioxilo-35). También se sometieron a ensayo el control positivo Cortiolyti en disolución salina tampón fosfato (PBS), los vehículos PBS y ELP a modo de controles.

- 50 Después de añadir 100 μ l de IgE (100 ng/ml en PBS o ELP) a los sedimentos celulares, las células se incubaron durante 12 horas durante la noche, a 37 °C. Las células se incubaron después durante 2 horas, a 37 °C con dos concentraciones diferentes de compuestos, es decir, 250 μ g/ml y 500 μ g/ml. Después de la centrifugación (200 g, 5 min) se desechó el sobrenadante y se incubó de nuevo el sedimento celular durante 1 hora, a 37 °C con 100 μ l de anti-IgE (1 μ g/ml en PBS o ELP). Para el tiempo de incubación final de 6 horas, a 37 °C, se añadieron 300 μ l de medio HMC1. Las células se centrifugaron de nuevo (200 g, 5 min) y el sobrenadante, se recogió y almacenó como alícuotas de 300 μ l a -20°C para las mediciones ELISA. Los sedimentos celulares se resuspendieron en 100 μ l de medio HMC1 para determinar la viabilidad celular.

- Se determinó la viabilidad de las células (porcentaje de células vivas) mediante tinción con azul de tripano (dilución 1:10 con 50 μ l de suspensión celular y se prepararon 450 μ l de azul de tripano y se contó el número de células vivas y muertas en un hemocitómetro).

- La concentración de histamina en el sobrenadante recogido se determinó por medio de ELISA, usando un estuche obtenido a partir de IBL International según las directrices del fabricante. Cada muestra se midió dos veces, debido a los límites de medición esperados, las muestras tratadas con vehículo (PBS, ELP) se diluyeron 1:2.

El análisis estadístico se llevó a cabo con el software GraphPad Prism (Versión 5,01) (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EE.UU.) usando el ensayo de t Student A de dos colas no emparejadas. Se consideró estadísticamente significativo un valor P menor que 0,05. Los resultados se muestran en las Figuras 1 y 2, así como en las Tablas 1 y 2 a continuación.

Tabla 1

Sumario de liberación de mediador de histamina a partir de células HMC-1. La diferencia significativa comparada con control negativo fue a $P < 0,05$.

Tratamiento	Vehículo	Concentración	Histamina (ng/ml) media $\pm$ SD (n=3)	Valor-P	Reducción de Histamina (%)
Aceite de Perilla (P)	Kolliphor ELP	250 μ g/ml	134,04 $\pm$ 7,62	0,0009	48,46
		500 μ g/ml	143,09 $\pm$ 6,39	0,0012	44,98
Aceite de sésamo		250 μ g/ml	130,28 $\pm$ 6,40	0,0008	49,91
(S)		500 μ g/ml	130,27 $\pm$ 11,50	0,0010	49,91
Promedio de P+S		250 μ g/ml	132,16	n.a.	49,18
		500 μ g/ml	136,68	n.a.	49,18
Combinación (relación 1:1)		250 μ g/ml	107,51 $\pm$ 12,49	0,0046	58,66
		500 μ g/ml	105,99 $\pm$ 0,43	0,0031	59,25
Control			n.a.	260,06 $\pm$ 23,62	n.a.
Cromolina	PBS	250 μ g/ml	121,05 $\pm$ 0,73	0,0006	57,61
		500 μ g/ml	127,70 $\pm$ 13,32	0,0013	55,28
Control			n.a.	285,54 $\pm$ 14,08	n.a.

Tabla 2.

Reducción de histamina comparada con la liberación de mediador de histamina promedio de aceite de perilla y aceite de sésamo de células HMC-1, que muestra efecto de mejora de la combinación. La diferencia significativa en comparación con los valores promedio de aceite de perilla y aceite de sésamo fue de $P < 0,05$.

Tratamiento	Concentración	Reducción de histamina (%)	Valor P
Combinación	250 μ g/ml	18,65	0,0185
	500 μ g/ml	22,46	0,0092
	250 μ g/ml	8,41	0,0668
	500 μ g/ml	6,75	0,0728

Comparando la liberación de histamina promedio de aceite de perilla y aceite de sésamo con la combinación, la combinación mostró liberación de histamina significativamente reducida y por tanto estabilización de mastocitos a 250 y 500 μ g/ml ($p=0,0185$ y $p=0,0092$) respectivamente.

Cuando las células HMC-1 se trataron individualmente con aceite de perilla o aceite de sésamo, el porcentaje de reducción de histamina logrado fue menor que el de Cromolina. Cuando se trató con la combinación, el porcentaje de reducción de histamina fue mayor que el tratamiento con Cromolina (Figura 1). El tratamiento con la combinación aumentó el porcentaje de reducción de histamina en un 18,7 – 22,5%, en comparación con el tratamiento con compuestos individuales, mientras que el tratamiento con Cromolina solo difirió en un 6,8 – 8,4% de reducción de histamina, en comparación con el tratamiento con compuestos individuales.

Hay una diferencia de aproximadamente 2 veces y 3 veces entre la combinación y Cromolina a concentraciones de 250 μ g/ml y 500 μ g/ml, respectivamente. Se puede concluir que la combinación tuvo un efecto estabilizador mejorado de mastocitos, que aumentó el porcentaje de reducción de histamina en comparación con el tratamiento con compuestos individuales, y alcanzó un efecto final que fue mejor que Cromolina.

Ejemplo 2: Formulación antialérgica (no abarcada por las reivindicaciones)

Las Tablas 3 – 5 muestran formulaciones de píldoras antialérgicas en cápsula de cubierta dura o blanda.

Tabla 3.

Ingrediente	Porcentaje (%) en peso
Aceite de perilla	49,75
Aceite de sésamo	49,75
Tocoferol	0,5

Tabla 4

Ingrediente	Porcentaje (%) en peso
Aceite de perilla	20,5
Extracto de Urtica	13,8
Extracto de Astragalus	122
Aceite de Nigella	18,5
Aceite de soja	30
Lecitina	5

5

Tabla 5.

Ingrediente	Porcentaje (%) en peso
Extracto de perilla	35,3
Extracto de Urtica	25,4
Extracto de Astragalus	24,8
Maltodextrina	14,5

10

Tabla 6.

Ingrediente	Porcentaje (%) en peso
Aceite de perilla	49,0
Aceite de sésamo	49,0
Clorhidrato de cetirizina	1,0
Ácido cítrico	1,0

Las Tablas 7 y 8 muestran una formulación de gel tópico antialérgico.

Tabla 7.

15

Ingrediente	Porcentaje (%) en peso
Aceite de perilla	15
Aceite de sésamo	5
EDTA disódico	0,1
Mentol	0,5
Propilenglicol	12
Polímero de carbopol 980	0,85
Polisorbato 80	1,5
Miristato	2,0
Ácido cítrico	0,1
Agua	62,95

Tabla 8.

Ingrediente	Porcentaje (%) en peso
Aceite de perilla	15
Aceite de sésamo	5
EDTA disódico	0,1
Mentol	0,5
Propilenglicol	12
Polímero de carbopol 980	0,85
Polisorbato 80	1,5
Miristato	2,0
Ácido cítrico	0,1
Clorhidrato de azelastina	2,0
Agua	60,95

Las Tablas 9 y 10 muestran una formulación de loción antialérgica.

Tabla 9.

5

Ingrediente	Porcentaje (%) en peso
Aceite de perilla	10
Aceite de sésamo	20
Aceite de menta	0,1
Agua	62,5
Glicerina	5
Goma de xantano	0,5
Carragenano	0,3
Tocoferol	0,5
Fenoxietanol	1
Etilhexilglicarina	0,1

Tabla 10.

Ingrediente	Porcentaje (%) en peso
Aceite de perilla	5
Aceite de sésamo	35
Agua purificada	40,9
Glicerina	10
Ácido cítrico	2
Alcohol cetearílico	1
Polisorbato 20	1
Aloe vera	5
Aceite de vainilla	0,1
Sorbato de potasio	1

10 La Tabla 11 muestra una formulación de pomada antialérgica.

Tabla 11.

Ingrediente	Porcentaje (%) en peso
Aceite de perilla	20

Ingrediente	Porcentaje (%) en peso
Aceite de sésamo	20
Mentol	5
Base de pomada	55

La Tabla 12 muestra una formulación de parche de gel antialérgico.

Tabla 12.

5

Ingrediente	Porcentaje (%) en peso
Aceite de perilla	35
Aceite de sésamo	5
Agua	20
Glicerina	20
Propilenglicol	10
Ácido hialurónico	7
Sorbato de potasio	1
Poliacrilato de sodio	2

Las Tablas 13, 14 y 15 muestran formulaciones de píldoras antialérgicas en un comprimido.

Tabla 13.

10

Ingrediente	Porcentaje (%) en peso
Extracto de perilla	38,5
Extracto de Urtica	30,8
Extracto de Astragalus	15,4
Croscarmelosa sódica	7,7
Celulosa	6,8
Dióxido de silicio	0,5
Estearato de magnesio	0,3

Tabla 14.

Ingrediente	Porcentaje (%) en peso
Extracto de perilla	25,3
Extracto de Urtica	25,3
Extracto de Astragalus	25,3
Croscarmelosa sódica	1,5
Celulosa microcristalina	20,6
Dióxido de silicio	0,5
Estearato de magnesio	1,5

Tabla 15

15

Ingrediente	Porcentaje (%) en peso
Extracto de perilla	25,3
Extracto de Urtica	25,3
Extracto de Astragalus	25,3
Croscarmelosa sódica	1,5

ES 2 973 285 T3

Ingrediente	Porcentaje (%) en peso
Celulosa microcristalina	20,1
Dióxido de silicio	0,5
Estearato de magnesio	1,5
Bilastina	0,5

REIVINDICACIONES

1. Una composición en forma de pulverización, que comprende un aceite de perilla y aceite de sésamo, en la que el aceite de perilla y el aceite de sésamo están presentes en la composición en una relación en peso de aproximadamente 1:1 para su uso en un método para prevenir rinitis alérgica estacional o rinitis alérgica perenne.
2. La composición para su uso según la reivindicación 1, en la que la composición es una composición farmacéutica, que comprende además opcionalmente un vehículo, excipiente, diluyente y/o aditivo farmacéuticamente aceptable.

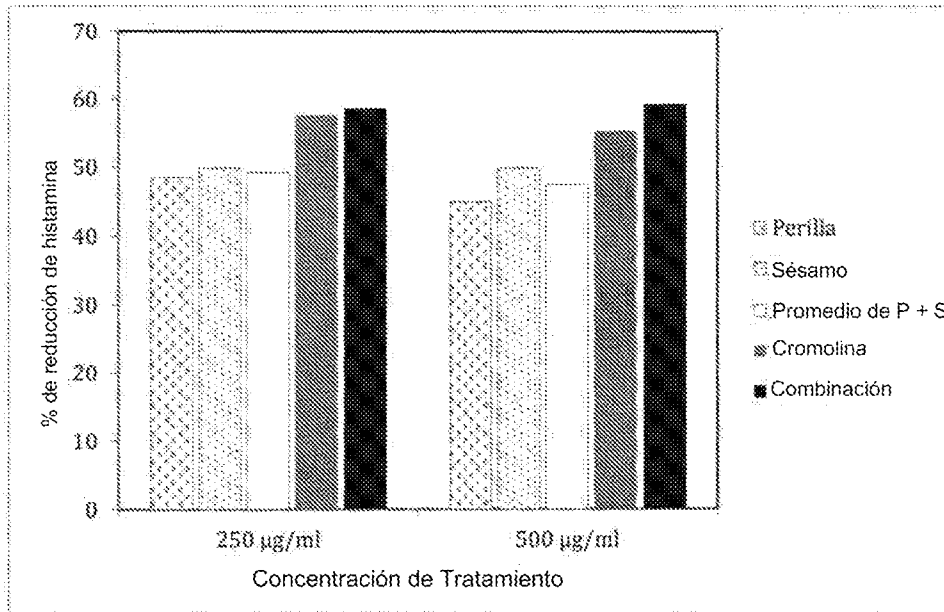


FIGURA 1

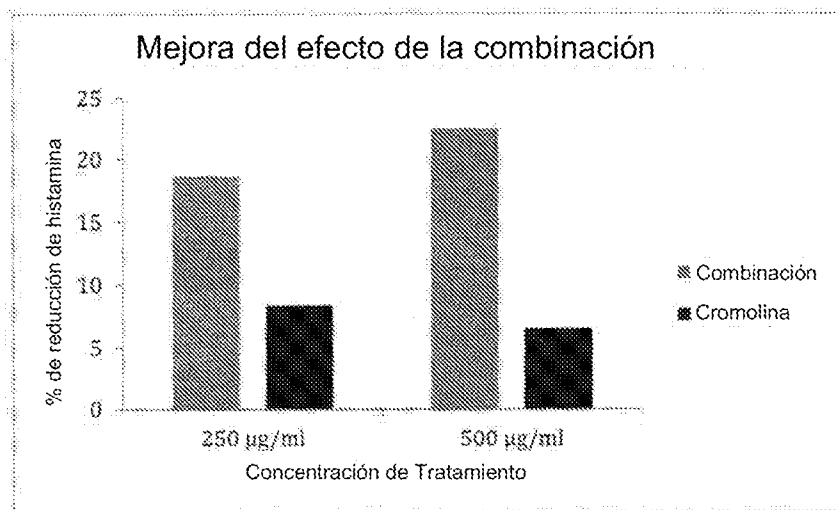


FIGURA 2