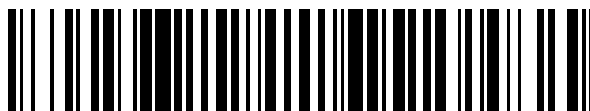


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 715 290**

51 Int. Cl.:

A61K 36/77 (2006.01)

A61K 36/537 (2006.01)

A61K 36/8988 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.03.2012 PCT/KR2012/002330**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.10.2012 WO12134194**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.03.2012 E 12762802 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.12.2018 EP 2691102**

54 Título: **Composiciones de hierbas para el tratamiento de enfermedades neurológicas y mejora del deterioro de la memoria**

30 Prioridad:

29.03.2011 KR 20110028086

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

03.06.2019

73 Titular/es:

**VIROMED CO., LTD. (100.0%)
203dong Institute of Basic Science Bldg. College
of Natural Science Seoul National University
Gwanak-ro 1 Gwanak-gu
Seoul 151-747, KR**

72 Inventor/es:

**LEE, DOO SUK;
KIM, DONG SIK y
KIM, SEON HEE**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

Observaciones:

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

ES 2 715 290 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composiciones de hierbas para el tratamiento de enfermedades neurológicas y mejora del deterioro de la memoria

5 Antecedentes de la invención

Campo de la invención

10 La presente divulgación se relaciona con una composición de hierbas para prevenir o tratar enfermedades neurológicas o mejorar la función cerebral o cognitiva. Más particularmente, se relaciona con una composición de hierbas para proteger las células nerviosas y mejorar las enfermedades neurológicas, que incluye un extracto de fruta de Euphoria longan, salvia roja y Gastrodia elata.

15 Antecedentes de la técnica

La demencia se refiere a la pérdida severa de la capacidad cognitiva global sin trastorno de la conciencia, lo que lleva a la pérdida de la capacidad mental (intelectual) y la capacidad para actividades sociales. La demencia puede ser causada por varias causas y está acompañada por deterioro de la memoria, impedimento del habla, alteración de la capacidad visuoespacial, apraxia, agnosia, deterioro de la capacidad de cálculo, degeneración lobar frontotemporal, alteración de la función ejecutiva o similares.

20 La demencia se puede clasificar en demencia de Alzheimer, demencia vascular y otra demencia de acuerdo con la aparición. La enfermedad de Alzheimer es la principal causa de demencia, que representa alrededor del 50-60%. Se sabe que el deterioro de la función cognitiva y el daño de las células nerviosas en pacientes con demencia están relacionados con trastornos en el transporte, la generación, la secreción y la eliminación de neurotransmisores. Los neurotransmisores representativos son la acetilcolina y el glutamato. Se informa que los pacientes con demencia muestran disminución y función reducida del neurotransmisor acetilcolina en los tejidos del cerebro, lo cual es importante en el aprendizaje y la memoria. El glutamato es un importante neurotransmisor excitador que desempeña un papel clave en el aprendizaje y la memoria en el sistema nervioso central. Se sabe que el exceso de glutamato acumulado alrededor de las células nerviosas puede causar estrés oxidativo al inhibir la síntesis del glutatión antioxidante en las células nerviosas o inducir la muerte de las células nerviosas al causar la entrada de iones de calcio a través del receptor N-metil-D-aspartato (NMDA). Dado que las causas de la demencia son diversas, los medicamentos para la demencia se dirigen a varias rutas. Un ejemplo típico es el inhibidor de la acetilcolinesterasa (AChE) que inhibe la reducción del neurotransmisor acetilcolina directamente involucrado en el deterioro de la función cognitiva. Tacrina (Cognex®), donepezil (Aricept®), rivastigmina (Exelon®) y galantamina (Reminyl®) son ejemplos. Sin embargo, la tacrina tiene el efecto adverso de la hepatotoxicidad (Leonard, World Psychiatry 3: 84-88 (2004)), el donepezilo tiene efectos adversos que incluyen náuseas, vómitos y diarrea (Burns et al., Dement Geriatr Cogn Disord 10: 237-244 (1999)), rivastigmina tiene efectos adversos colinérgicos centrales y periféricos a altas concentraciones (Leonard, World Psychiatry 3: 84-88, 2004) y galantamina tiene efectos adversos en el tracto gastrointestinal (Tariot et al., Neurology 54: 2269-2276 , 2000). Otros medicamentos incluyen memantina (Ebixa®) que actúa sobre el receptor de glutamato (Reisberg et al., Am J Geriatr Psychiatry 10: 1-122 (2002)), así como medicamentos antiinflamatorios y antioxidantes. Sin embargo, dado que las causas de la demencia son diversas y no están completamente aclaradas, los tratamientos con los medicamentos son solo temporales o limitados. Además, aunque muchas patentes sobre composiciones para mejorar la memoria se publican y expiden en Corea, todavía no existe una cura segura. En consecuencia, existe una gran necesidad de desarrollar un medicamento para la demencia que tenga un excelente efecto de prevenir y tratar el deterioro de la función cognitiva con menos efectos adversos.

50 A lo largo de la especificación, se hace referencia y se citan varias publicaciones y documentos de patente.

Resumen de la invención

55 Se han explorado materiales naturales capaces de prevenir o tratar enfermedades neurológicas, especialmente demencia o deterioro de la memoria, que pueden absorberse rápidamente en el cuerpo humano sin efectos adversos. Como un resultado, descubrieron que una composición que incluye un extracto de fruta de Euphoria longan, salvia roja y Gastrodia elata mejora el deterioro de la memoria y protege efectivamente las células nerviosas de las sustancias que causan enfermedades neurológicas, particularmente la demencia.

60 La presente divulgación está dirigida a proporcionar una composición farmacéutica para uso en la prevención o el tratamiento de enfermedades neurológicas.

La presente divulgación también está dirigida a proporcionar una composición de alimentos para mejorar la función cerebral o cognitiva.

65 La presente divulgación también está dirigida a proporcionar un método para mejorar la función cerebral o cognitiva.

Otras características y aspectos serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada, dibujos y reivindicaciones.

Breve descripción de los dibujos

5 La Fig. 1 muestra el efecto del tratamiento del cerebro de un ratón macho con donepezilo, extracto de *Gastrodia elata* o HX107M sobre la actividad de la acetilcolinesterasa (AChE).

10 La Fig. 2 muestra el efecto del tratamiento del cerebro de un ratón macho con donepezilo, HX107M, HX107N, incluyendo la raíz de *ophiopogon* sobre la actividad de AChE.

La Fig. 3 muestra el efecto de la administración oral de donepezil, HX107N o extracto de salvia roja sobre la actividad de AChE en el cerebro de un ratón macho.

15 La Fig. 4 muestra el efecto de HX107N en la mejora de la capacidad de aprendizaje y la memoria en la prueba de la sonda después de la administración de β amiloide en el ventrículo cerebral. Los símbolos # y ## respectivamente denotan significancia en $p < 0.05$ y $p < 0.01$ y * denota comparación con el grupo no tratado en $p < 0.05$.

20 La Fig. 5 muestra el efecto de HX107N sobre la mejora en la capacidad de aprendizaje y memoria en la prueba de evitación pasiva después de la administración de β amiloide en el ventrículo cerebral. Los símbolos # y ## respectivamente denotan significancia en $p < 0.05$ y $p < 0.01$ y * denota comparación con el grupo no tratado en $p < 0.05$.

25 La Fig. 6 muestra el efecto de HX107N sobre la inhibición del daño cerebral en el examen histológico después de la administración de β amiloide en el ventrículo cerebral.

Descripción detallada de la invención

30 En un aspecto general, la presente divulgación proporciona una composición farmacéutica para uso en la prevención o el tratamiento de enfermedades neurológicas que comprende: (a) un extracto de una mezcla de fruta de *Euphoria longan*, salvia roja y *Gastrodia elata* como ingrediente activo; y (b) un portador farmacéuticamente aceptable.

35 En otro aspecto general, la presente divulgación proporciona una composición alimenticia que comprende un extracto de fruta de *Euphoria longan*, salvia roja y *Gastrodia elata* como un ingrediente activo.

40 Se han explorado materiales naturales capaces de prevenir o tratar enfermedades neurológicas, especialmente demencia o deterioro de la memoria, que pueden absorberse rápidamente en el cuerpo sin efectos adversos. Como un resultado, se descubrió que una composición que incluye un extracto de fruta de *Euphoria longan*, salvia roja y *Gastrodia elata* mejora el deterioro de la memoria y protege efectivamente las células nerviosas de las sustancias que causan enfermedades neurológicas, en particular la demencia.

45 La presente composición comprende un extracto de una mezcla de fruta *Euphoria longan*, salvia roja y *Gastrodia elata* como ingrediente activo. Un experto en la técnica apreciará que la frase utilizada aquí "un extracto de una mezcla de fruta de *Euphoria longan*, salvia roja y *Gastrodia elata*" abarca no solo un extracto obtenido de una mezcla de fruta de *Euphoria longan*, salvia roja y *Gastrodia elata*, pero también una mezcla de extractos obtenidos de fruta de *Euphoria longan*, salvia roja y *Gastrodia elata*, respectivamente. Preferiblemente, la frase "un extracto de una mezcla de fruta de *Euphoria longan*, salvia roja y *Gastrodia elata*" se refiere a un extracto obtenido de una mezcla de fruta de *Euphoria longan*, salvia roja y *Gastrodia elata*.

50 Las características y efectos específicos de la fruta de *Euphoria longan*, salvia roja y *Gastrodia elata* utilizados en la presente divulgación son los siguientes.

55 La fruta de *Euphoria longan* se obtiene secando el arilo de *Euphoria longan* Steud., un árbol de hoja perenne en la familia Sapindaceae. Hace mucho tiempo que se sabe que es efectivo para fortalecer el corazón y el páncreas, reponer el Qi y la sangre y tranquilizar la mente. De acuerdo con el libro sobre plantas medicinales, Shennong Bencaojing, la fruta de *Euphoria longan* controla el siniestro Qi de las cinco vísceras, tranquiliza la mente, aumenta el apetito y promueve la digestión (Chang-Min Kim et al., Grand Dictionary of Chinese Medicine, 3194-3196, 2004).

60 La salvia roja (*Salvia miltiorrhiza* BGE) es una planta perenne en la familia Lamiaceae. Se sabe que la raíz seca y el rizoma de salvia roja son efectivas para tratar el dolor de pecho e hipocondríaco, el dolor entumecido causado por el viento y la humedad, el dolor abdominal y la hinchazón y el dolor menstrual al promover el flujo de sangre y eliminar la estasis (Hocheol Kim, Herbal Pharmacology, 332-333, 2004).

65 *Gastrodia elata* es una hierba perenne saprófita en la familia Orchidaceae. El tubérculo seco de *Gastrodia elata* BL se ha utilizado para tratar diversas enfermedades convulsivas y trastornos del sistema nervioso tal como dolor de

cabeza, mareos, entumecimiento, etc. mediante la regulación del Qi del hígado (Chang-Min Kim et al., Grand Dictionary of Chinese Medicine, 4105-4110, 2004; Byung-Soo Kang et al., Herbology, 504-505, 2000).

Como se usa aquí, el término "extracto de fruta de *Euphoria longan*" se refiere a un extracto obtenido del arilo de *Euphoria longan* Steud. El término "extracto de salvia roja" se refiere a un extracto obtenido de varias partes (por ejemplo, raíz, rizoma, fruta, tallo, hoja y flor) de salvia roja. Específicamente, el extracto de salvia roja puede ser un extracto obtenido de la raíz o rizoma de salvia roja. El término "extracto de *Gastrodia elata*" se refiere a un extracto obtenido de varias partes (por ejemplo, raíz, tubérculo, fruta, tallo, hoja y flor) de *Gastrodia elata*. Específicamente, el extracto de *Gastrodia elata* se refiere a un extracto obtenido del tubérculo de *Gastrodia elata*.

El extracto usado en la presente divulgación puede obtenerse usando solventes de extracción conocidos en la técnica, específicamente, (a) agua, (b) alcohol inferior C₁-C₄ anhidro o acuoso (por ejemplo, metanol, etanol, propanol, butanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol, etc.), (c) una mezcla del alcohol inferior con agua, (d) acetona, (e) acetato de etilo, (f) cloroformo, (g) 1,3-butilen glicol, (h) hexano, (i) éter dietílico o (j) acetato de butilo.

Los extractos de fruta de *Euphoria longan*, salvia roja y *Gastrodia elata* de la presente divulgación también incluyen los obtenidos después de la purificación de los extractos obtenidos utilizando los solventes descritos anteriormente. Por ejemplo, se incluyen los extractos obtenidos después de varios procesos de purificación, tal como la filtración a través de una membrana de ultrafiltración que tienen un valor de corte de peso molecular predeterminado, la separación mediante diversas técnicas cromatográficas (con base en el tamaño, la carga, la hidrofobicidad o la afinidad), etc., en los extractos de fruta de *Euphoria longan*, salvia roja y *Gastrodia elata* de la presente divulgación.

Los extractos de fruta de *Euphoria longan*, salvia roja y *Gastrodia elata* de la presente divulgación pueden prepararse en la forma de polvo mediante procesos adicionales tales como destilación bajo presión reducida seguido de liofilización o secado por aspersión.

En una realización a manera de ejemplo de la presente divulgación, la mezcla usada en la composición de la presente divulgación comprende además una planta para mejorar la circulación sanguínea. La planta para mejorar la circulación sanguínea incluye cualquiera conocida como efectiva para tonificar o mejorar la circulación sanguínea para permitir una absorción rápida y efectiva de la composición de la presente divulgación en el cuerpo.

Más específicamente, la mezcla usada en la composición de la presente divulgación puede comprender además una planta para mejorar la circulación sanguínea que se selecciona de un grupo que consiste en raíz de *Ophiopogon*, cúrcuma, *Cnidium officinale*, *Angelica gigas*, grano de melocotón, cártamo, *Achyranthes japonica*, *Caesalpinia sappan*, incienso, agripalma, *Curcuma longa*, rizoma de caña, acacia de tres espinas y mirra (Byung-Soo Kang et al., Herbology, 408-441, 2000). Más específicamente, la planta para mejorar la circulación sanguínea utilizada en la presente divulgación puede ser una raíz de *ophiopogon* o una cúrcuma.

Entre las plantas para mejorar la circulación sanguínea, se describirán con detalle la raíz de *ophiopogon* y la cúrcuma.

La raíz de *Ophiopogon* es la raíz tuberosa seca de *Liriope platyphylla* Wang et Tang u *Ophiopogon japonicas* Ker Gawl, que son perennes en la familia Liliaceae. La raíz de *ophiopogon* es de naturaleza húmeda y se sabe que trata la tos seca, la hematemesis, la acidez, la hidrodipsomanía o similares al generar líquido corporal, humedecer la sequedad y enfriar el Qi excesivo del corazón (Chang-Min Kim et al., Grand Dictionary of Chinese Medicine, 1262-1269, 2004; Byung-Soo Kang et al., Herbology, 588-589, 2000). Además, se sabe que trata la tos seca causada por la sequedad de los pulmones, hematemesis, hemoptisis, fiebre causada por falta de energía y fatiga, sed, sequedad de garganta y boca causada por la fiebre y estreñimiento (Chang-Min Kim et al., Grand Dictionary of Chinese Medicine, 1264, 2004). Además, se sabe que la raíz de *ophiopogon* tiene un efecto antioxidante, promueve la circulación sanguínea en las arterias coronarias, mejora la contracción de los músculos del corazón y aumenta la inmunidad (Patente Coreana No. 10-0894415) y también se sabe que tiene un efecto desintoxicante al tratar color amarillo en los ojos y ennegrecimiento del cuerpo causado por la fiebre (Publicación de Patente Coreana No. 10-2004-15828).

Más específicamente, la raíz de *ophiopogon* incluida adicionalmente en la composición de la presente divulgación puede ser la raíz de *Ophiopogon japonicas*.

La cúrcuma es la raíz tuberosa de *Curcuma longa* Linne, *Curcuma aromatica* Salisbury o *Curcuma zedoaria* (Berg.) Rosc. de la familia Zingiberaceae, y contiene curcumina, turmerona, zingibereno, etc. Tradicionalmente, se sabe que la cúrcuma promueve la secreción de jugo gástrico, promueve la micción, tiene un efecto desintoxicante, promueve la regeneración de las células del hígado y tiene efectos antiinflamatorios y antioxidantes. (Chang-Min Kim et al., Grand Dictionary of Chinese Medicine, 3282-3286, 1997). Además, se sabe que la cúrcuma ayuda a la circulación sanguínea y elimina la estasis (Byung-Soo Kang et al., Herbology, 408-441, 2000).

En una realización a manera de ejemplo de la presente divulgación, la planta para mejorar la circulación sanguínea ayuda a la circulación sanguínea y muestra un efecto desintoxicante cuando se administra en el cuerpo.

La planta para mejorar la circulación sanguínea usada en la presente divulgación ayuda a la circulación sanguínea al promover el flujo sanguíneo, mejorar la contracción de los músculos del corazón o eliminar la estasis y tiene un efecto desintoxicante al controlar o eliminar las sustancias tóxicas absorbidas o acumuladas en el cuerpo.

5 El contenido de la raíz de ophiopogon o cúrcuma del extracto en la composición de la presente divulgación no está particularmente limitado siempre que se consiga el efecto deseado de mejora de la circulación sanguínea o desintoxicación. Los expertos en la técnica podrán determinar el contenido de la planta incluida adicionalmente para adaptarse al propósito de la presente divulgación.

10 Específicamente, la raíz de ophiopogon o cúrcuma del extracto se puede incluir en una cantidad de 1-99% en peso, más específicamente 10-80% en peso, más específicamente 30-70% en peso, con base en el peso total de la mezcla, pero no se limita a ésta.

15 La composición farmacéutica de la presente divulgación comprende una cantidad farmacéuticamente efectiva de un extracto de fruta de Euphoria longan, salvia roja y Gastrodia elata. Como se usa aquí, el término "cantidad farmacéuticamente efectiva" se refiere a una cantidad suficiente para lograr el efecto o la actividad del extracto de fruta de Euphoria longan, salvia roja y Gastrodia elata y no está particularmente limitado siempre que el propósito de la presente divulgación se pueda lograr.

20 Específicamente, en la composición de la presente divulgación, la fruta de Euphoria longan puede incluirse en una cantidad de 1-99% en peso, más específicamente 10-80% en peso, más específicamente 20-60% en peso, con base en el peso total de la mezcla, el Gastrodia elata se puede incluir en una cantidad de 0.1-99% en peso, más específicamente 1-80% en peso, más específicamente 5-60% en peso, con base en el peso total de la mezcla, y la salvia roja se puede incluir en una cantidad de 0.1-99% en peso, más específicamente 0.5-80% en peso, más específicamente 1-50% en peso, con base en el peso total de la mezcla, aunque no se limita a la misma.

30 Cuando la composición de la presente divulgación se prepara como una composición farmacéutica, la composición farmacéutica de la presente divulgación comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable. El vehículo farmacéuticamente aceptable incluido en la composición farmacéutica de la presente divulgación puede ser uno usado comúnmente en la técnica. Los ejemplos incluyen lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidón, goma de acacia, fosfato de calcio, alginato, gelatina, silicato de calcio, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, agua, jarabe, celulosa de metilo, hidroxibenzoato de metilo, hidroxibenzoato de propilo, talco, estearato de magnesio, aceite mineral, etc., pero no están limitados a ellos. La composición farmacéutica de la presente divulgación puede incluir adicionalmente, además de los componentes descritos anteriormente, un lubricante, un agente humectante, un edulcorante, una fragancia, un emulsionante, un agente de suspensión, un conservante, o similares. Los vehículos y formulaciones farmacéuticamente aceptables adecuados se describen en detalle en Remington's Pharmaceutical Sciences (19^a ed., 1995).

40 La composición farmacéutica de la presente divulgación se puede administrar por vía oral o parenteralmente, específicamente por vía oral.

45 Una dosificación apropiada de la composición farmacéutica de la presente divulgación puede determinarse de diversas maneras dependiendo de factores tales como el método de preparación, el método de administración, la edad, el peso corporal y el sexo del paciente, el estado patológico, la dieta, el tiempo de administración, la vía de administración, la rata de excreción o sensibilidad de respuesta. Una dosificación general de la composición farmacéutica de la presente divulgación para un adulto es de 0.001-1000 mg/kg.

50 La composición farmacéutica de la presente divulgación puede prepararse en una forma de dosificación unitaria o una forma de dosificación múltiple junto con un vehículo y/o excipiente farmacéuticamente aceptable de acuerdo con un método que puede ser empleado fácilmente por los expertos en la técnica. La formulación puede estar en la forma de solución en medio aceitoso o acuoso, suspensión, jarabe, emulsión, extracto, polvo, gránulo, tableta o cápsula, y puede incluir además un dispersante o estabilizador.

55 La composición de la presente divulgación también puede proporcionarse como una composición alimenticia.

60 Cuando la composición de la presente divulgación se prepara como una composición de alimentos, la composición de la presente divulgación puede comprender, además del extracto de la mezcla de fruta de Euphoria longan, salvia roja y Gastrodia elata como ingrediente activo, ingredientes comúnmente añadidos para la preparación de alimentos. Por ejemplo, se pueden agregar proteínas, carbohidratos, grasas, nutrientes, condimentos o sabores. El carbohidrato puede ser, por ejemplo, un azúcar tal como un monosacárido, por ejemplo glucosa, fructosa, etc., un disacárido, por ejemplo maltosa, sacarosa, oligosacárido, etc. o un polisacárido, por ejemplo dextrina, ciclodextrina, etc. o un alcohol de azúcar tal como xilitol, sorbitol, eritritol, etc. El sabor puede ser un sabor natural [taumatina, extracto de stevia (por ejemplo, rebaudiósido A, glicirricina, etc.)] o un sabor sintético (sacarina) aspartame, etc.).

65 Por ejemplo, cuando la composición alimenticia de la presente divulgación se prepara como una bebida, puede comprender además, además del extracto de la mezcla de fruta de Euphoria longan, salvia roja y Gastrodia elata,

ácido cítrico, jarabe de maíz con alta fructuosa, azúcar, glucosa, ácido acético, ácido málico, zumo de fruta, extracto de eucommia, extracto de azufaifo, extracto de regaliz o similares.

5 La composición de la presente divulgación se puede usar para prevenir o tratar diversas enfermedades neurológicas. Específicamente, la composición de la presente divulgación se puede usar para prevenir o tratar una enfermedad nerviosa degenerativa o un trastorno mental.

10 Más específicamente, la enfermedad nerviosa degenerativa puede ser demencia, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson o esclerosis lateral amiotrófica.

10 Como se usa aquí, el término "demencia" se refiere a una enfermedad, trastorno o condición caracterizada por una pérdida severa de la capacidad cognitiva. La demencia se puede clasificar en demencia de Alzheimer, demencia vascular y otras demencias.

15 La composición de la presente divulgación es efectiva en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. La acumulación excesiva de péptido β amiloide está asociada con la enfermedad de Alzheimer. Disminuir el β amiloide en el espacio neurítico retrasa el progreso de la enfermedad de Alzheimer. Aunque el proceso de formación de β amiloide no se ha dilucidado por completo científicamente, la composición de la presente divulgación puede prevenir o tratar la enfermedad de Alzheimer mediante la inhibición de la lesión nerviosa perjudicial del β amiloide, como se demuestra en los siguientes ejemplos.

25 La demencia vascular es la segunda forma más común de demencia. Esta enfermedad es causada por el estrechamiento o bloqueo de los vasos sanguíneos que suministran sangre al cerebro. Además, los golpes repetidos pueden conducir a la demencia vascular. La composición de la presente divulgación puede ser útil en el tratamiento de la demencia vascular.

Más específicamente, el trastorno mental puede ser depresión, esquizofrenia o trastorno de estrés postraumático. La depresión es un trastorno mental que puede ser causado por el estrés. A menudo conduce a un resultado extremo, como el suicidio, y se reconoce como una enfermedad muy importante debido a la alta recaída y al rápido aumento. Los trastornos de los neurotransmisores cerebrales tal como la adrenalina, la dopamina o la serotonina se conocen como la causa de la depresión. La depresión también se acompaña de daño cerebral tal como atrofia del hipocampo, neurogénesis suprimida en adultos o similares. Si bien los antidepresivos tricíclicos (TCA) son actualmente conocidos como antidepresivos representativos, tienen muchos efectos adversos. En particular, la amitriptilina, que se prescribe ampliamente dentro y fuera de Corea, tiene varios efectos adversos. En la década de 35 1980, se desarrolló en Estados Unidos el inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina (ISRS), fluoxetina. Con la reducción de los efectos adversos, la mejora en el cumplimiento y la reducción del fracaso del tratamiento se ubicó en el séptimo lugar entre los 20 medicamentos más vendidos del mundo en 1996. Sin embargo, los SSRI no muestran una gran diferencia con los TCA en términos de efecto y tienen graves problemas de interacción con los medicamentos. El extracto de fruta de Euphoria longan, salvia roja y Gastrodia elata de la presente divulgación previene la degeneración de las células piramidales en el giro dentado del hipocampo por lesión nerviosa, por ejemplo, causado por el β amiloide, como se demuestra en los siguientes ejemplos. Esto sugiere el potencial de la composición de la presente divulgación como antidepresivo.

45 En otro aspecto general, la presente divulgación proporciona una composición alimenticia para mejorar la función cerebral o cognitiva que comprende un extracto de fruta de Euphoria longan, salvia roja y extracto de Gastrodia elata como un ingrediente activo.

50 En otro aspecto general, la presente divulgación proporciona un método para mejorar la función cerebral o cognitiva, que comprende: administrar a un sujeto una composición que comprende un extracto de fruta de Euphoria longan, salvia roja y Gastrodia elata como un ingrediente activo.

55 En una realización a manera de ejemplo de la presente divulgación, la mezcla usada en la composición de la presente divulgación comprende además una planta para mejorar la función cerebral o cognitiva seleccionada de la capacidad de aprendizaje, la memoria y la concentración. Más específicamente, la mezcla usada en la composición de la presente divulgación puede comprender además una planta para mejorar el deterioro de la memoria.

60 El deterioro de la memoria precede a la enfermedad de Alzheimer. La deficiencia de acetilcolina debido a la degeneración de las células nerviosas colinérgicas es una causa importante y el aumento de la actividad de la acetilcolinesterasa (AChE) agrava el síntoma. Aunque los inhibidores de la AChE (tacrina, donepezilo, rivastigmina y galantamina) se han desarrollado como tratamiento para la enfermedad de Alzheimer, es difícil regenerar directamente las células del cerebro o inhibir el daño a las células del cerebro. Dado que la composición de la presente divulgación que comprende el extracto de fruta de Euphoria longan, salvia roja y Gastrodia elata como un ingrediente activo reduce la actividad de AChE y suprime el daño a los nervios causado por lesiones nerviosas con pocos efectos adversos para el cuerpo humano, puede ser muy usado útilmente para mejorar el deterioro de la memoria.

65

Efectos ventajosos

Las características y ventajas de la presente divulgación pueden resumirse como sigue:

- 5 (a) La presente divulgación proporciona una composición para prevenir o tratar enfermedades neurológicas que comprenden un extracto de fruta de Euphoria longan, salvia roja y Gastrodia elata. Dado que protege a las células nerviosas de las lesiones nerviosas causadas por, por ejemplo, el β amiloide, es muy efectivo para prevenir o tratar enfermedades neurológicas, especialmente la demencia.
- 10 (b) La composición de la presente divulgación tiene un efecto muy superior de mejorar la memoria.
- (c) La composición de la presente divulgación se puede absorber rápidamente en el cuerpo humano con pocos efectos adversos.

Se describirán ahora los ejemplos y experimentos.

15 **Ejemplos**

Diseño experimental

20 Se realizaron varios experimentos para investigar el efecto de un extracto de fruta de Euphoria longan, salvia roja y Gastrodia elata en el tratamiento de la demencia y la mejora del deterioro de la memoria. Con el fin de evaluar el efecto de HX107M (véase Ejemplo 1 de Prueba) en la neurotransmisión colinérgica relacionada con el deterioro de la memoria encontrado en pacientes con demencia, se midió la inhibición de la actividad de la acetilcolinesterasa (AChE). Además, utilizando un modelo de rata en el que se indujo daño de las células nerviosas mediante la administración del péptido β amiloide, conocido por inducir demencia, en el ventrículo cerebral, se evaluó el efecto de HX107N en la capacidad de aprendizaje y la memoria mediante la prueba del laberinto de agua y la prueba de evitación pasiva y se identificó el daño de las células nerviosas por examen histológico.

30 Ejemplo 1 de Preparación: Preparación de la mezcla de extracto de fruta de Euphoria longan, salvia roja y Gastrodia elata

Todas las hierbas utilizadas se adquirieron en un mercado especializado en hierbas (HUMANHERB, Corea). La fruta seca de Euphoria longan, salvia roja y Gastrodia elata se mezclaron con la proporción en peso descrita en la Tabla 1. Después de agregar 10 equivalentes en peso de agua, la extracción por reflujo se realizó a aproximadamente 90-100°C durante 3 horas. El extracto se filtró, se concentró a 60°C y se liofilizó para obtener el extracto en forma de polvo.

[Tabla 1]

Mezcla de extracto	Fruta de Euphoria longan	Gastrodia elata	Salvia roja
No. 1	3	1	3
No. 2	2.9	4	0.1
No. 3	5.4	0.1	1.5

40 La Tabla 1 muestra las proporciones en peso de las tres hierbas.

Ejemplo 2 de preparación: Preparación de extractos individuales.

45 Después de agregar 10 equivalentes en peso de agua a frutos secos de Euphoria longan, salvia roja o Gastrodia elata (10 g cada uno), la extracción por reflujo se realizó a aproximadamente 90-100°C durante 3 horas. Los extractos se filtraron, se concentraron a 60°C y se liofilizaron para obtener cuatro extractos en forma de polvo.

50 Ejemplo 3 de Preparación: Preparación de una mezcla de extracto que comprende además una hierba para mejorar la circulación sanguínea

55 Se mezclaron Ophiopogon japonicas o cúrcuma seca con fruta de Euphoria longan, salvia roja y Gastrodia elata en una proporción en peso de 5:3: 3:1. Después de agregar 10 equivalentes en peso de agua, la extracción por reflujo se realizó a aproximadamente 90-100°C durante 3 horas. El extracto se filtró, se concentró a 60°C y se liofilizó para obtener el extracto en forma de polvo.

[Tabla 2]

ES 2 715 290 T3

Mezcla de Extracto	Fruta de Euphoria longan	Salvia roja	Gastrodia elata	Ophiopogon japonicas	Cúrcuma
No. 4	3	3	1	0	5
No. 5	3	3	1	5	0

La Tabla 2 muestra las proporciones en peso de las cinco hierbas.

Ejemplo 1 de Prueba: efecto de inhibición de la actividad de AChE de acuerdo con la proporción de mezcla de extractos

La prueba de actividad de AChE se realizó de acuerdo con el método de Ellman (Ellman et al., Biochem Pharmacol 7: 88-95 (1961)) utilizando extractos de las mezclas preparadas en el Ejemplo 1 de Preparación. Con el fin de obtener AChE, se extrajo el cerebro de un ratón ICR macho de 5 semanas de edad (Orient Bio, Corea) después de la aclimatación durante una semana. El cerebro se homogeneizó a 10 equivalentes en volumen del cerebro utilizando un regulador de fosfato de sodio de 12.5 mM (pH 7.0). El homogeneizado se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos a 4°C y se obtuvo el sobrenadante. Para la prueba de actividad de AChE in vitro, se agregaron un regulador, yoduro de acetiltiocolina 75 mM y 5,5'-ditiobis 10 mM (ácido 2-nitrobenzoico) (DNTB) a una microplaca de 96 pocillos y la placa se trató con cada extracto a 5 mg/mL y 10 mg/mL. Luego, después de agregar el sobrenadante obtenido del ratón a la placa, la reacción se incubó a temperatura ambiente durante 10 minutos en la oscuridad. Una vez completada la reacción, se midió el cambio en la absorbancia a 405 nm durante 40 minutos con intervalos de 2 minutos. El extracto No.1 tuvo el mejor efecto y fue nombrado HX107M.

[Tabla 3]

	5 mg/mL	10 mg/mL
No. 1	32.88	50.50
No. 2	11.40	22.28
No. 3	22.22	39.56

La Tabla 3 muestra el efecto de inhibición de la actividad de AChE (%) de acuerdo con las proporciones de mezcla de los extractos.

Ejemplo 2 de Prueba: Comparación del efecto de inhibición de la actividad de AChE de HX107M y extracto de Gastrodia elata

La prueba de actividad de AChE se realizó de acuerdo con el método de Ellman (Ellman et al., Biochem Pharmacol 7: 88-95, (1961)) utilizando HX107M y extracto de Gastrodia elata. Con el fin de obtener AChE, se extrajo el cerebro de un ratón ICR macho de 5 semanas de edad (Orient Bio, Corea) después de la aclimatación durante una semana. El cerebro se homogeneizó a 10 equivalentes en volumen del cerebro utilizando un regulador de fosfato de sodio 12.5 mM (pH 7.0). El homogeneizado se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos a 4°C y se obtuvo el sobrenadante. Para la de actividad de AChE in vitro, se agregaron un regulador, yoduro de acetiltiocolina 75 mM y 5,5'-ditiobis 10 mM (ácido 2-nitrobenzoico) (DNTB) a una microplaca de 96 pocillos y la placa se trató con HX107M y extracto de Gastrodia elata a 5.83 mg/mL y 0.83 mg/mL. Luego, después de agregar el sobrenadante obtenido del ratón a la placa, la reacción se incubó a temperatura ambiente durante 10 minutos en la oscuridad. Una vez completada la reacción, se midió el cambio en la absorbancia a 405 nm durante 40 minutos con intervalos de 2 minutos. Como resultado, el HX107M mostró un efecto de inhibición de la actividad de AChE del 40.35%, mientras que el extracto de Gastrodia elata no mostró ningún efecto de inhibición de la actividad de AChE (Fig. 1).

Ejemplo 3 de Prueba: Comparación del efecto de inhibición de la actividad de AChE de HX107M y HX107N

Se mezcló Ophiopogon japonicas o cúrcuma, que es bien conocido por mejorar la circulación sanguínea, con HX107M y se investigó el efecto sobre la inhibición de la actividad de AChE de HX107M. De los dos candidatos, finalmente se seleccionó Ophiopogon japonicas, ya que tiene además un efecto desintoxicante y es capaz de mejorar la seguridad de la composición de la presente divulgación. La mezcla de extracto No. 5 preparada en el Ejemplo 3 de Preparación se denominó HX107N.

El experimento se llevó a cabo como en el Ejemplo 2 de Prueba mediante el tratamiento con HX107M y HX107N a 2.92 mg/ml y 5 mg/ml, respectivamente. Como un resultado, HX107M y HX107N mostraron una actividad de inhibición de AChE comparable de 29.02% y 29.83% (Fig. 2). Esto sugiere que la adición de la raíz de ophiopogon no afecta significativamente la actividad de inhibición de AChE.

Para una mayor capacidad de aplicación en humanos considerando los efectos adversos, se llevaron a cabo los siguientes experimentos usando un modelo animal utilizando HX107N, que comprende además Ophiopogon japonicas que tiene efectos mejoradores y desintoxicantes de la circulación sanguínea.

5 Ejemplo 4 de prueba: Comparación del efecto de inhibición de la actividad de AChE de HX107N y extracto de salvia roja

10 La actividad de inhibición de AChE de HX107N y extracto de salvia roja se comparó de la siguiente manera. Se compraron ratones ICR macho de 5 semanas (Orient Bio, Corea) y se aclimataron durante una semana. Para la puebla de actividad de AChE in vivo, la sustancia de control (donepezil 1 mg/kg), HX107N (200 mg/kg) o extracto de salvia roja (50 mg/kg) se administró por vía oral una vez a los ratones (3 por cada grupo). 6 horas después, se aisló el hipocampo y se homogeneizó utilizando regulador de fosfato 1 M (pH 8,0). La actividad de AChE in vivo del homogeneizado obtenido se midió utilizando el kit de prueba Amplex red (Molecular Probe, EE. UU.). Como resultado, el HX107N mostró un efecto de inhibición de la actividad de AChE de aproximadamente el 64.4%, mientras que el extracto de salvia roja no mostró efecto de inhibición de la actividad de AChE (Fig. 3).

Ejemplo 5 de Prueba: Prueba de laberinto de agua para probar el efecto de mejora de la memoria espacial de HX107N en un modelo de rata con demencia inducida por el β amiloide

20 Se compraron 60 ratas Sprague-Dawley macho (Samtako Bio Korea, Corea) y se aclimataron durante 7 días. Todos los animales de prueba tuvieron acceso libre a comida y agua en una jaula mantenida a temperatura y humedad constantes, bajo un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas. Las 60 ratas se agruparon en 6 grupos (10 por cada grupo) y se administraron por vía oral con HX107N (10, 100 y 200 mg/kg), ginseng rojo (150 mg/kg, Korea Ginseng Corp., Corea) o solución salina, como control, durante 4 semanas. Luego, se inyectó péptido β_{1-42} amiloide 2.2 nM (Sigma, Estados Unidos) en el ventrículo cerebral de las ratas utilizando un aparato estereotáxico para inducir demencia. Una semana después, se llevó a cabo una prueba de laberinto de agua para probar la memoria espacial y la capacidad de aprendizaje. Primero, se preparó una plataforma de escape en el centro de un cuadrante de un laberinto de agua y se llenó un líquido opaco para ocultar la plataforma. Durante 5 días, dos veces al día, la latencia de escape, que es el tiempo transcurrido hasta que la rata llega a la plataforma de escape, se registró desde diferentes puntos de partida. El tiempo límite fue de 90 segundos. Cuando la rata no pudo encontrar la plataforma de escape hasta ese momento, se colocó en la plataforma de escape durante 15 segundos para saber dónde se encuentra la plataforma. Después de la prueba final, se retiró la plataforma de escape. Luego, el animal se colocó en el laberinto de agua y el tiempo durante el cual permaneció en el cuadrante donde había estado la plataforma de escape se midió durante 30 segundos (prueba de la sonda). Como un resultado, se confirmó que la administración de β amiloide en el ventrículo cerebral tenía un efecto negativo en la memoria espacial y la capacidad de aprendizaje del animal. El grupo al que se administraron 200 mg/kg de HX107N durante 4 semanas mostró un daño significativamente menor a la memoria espacial y la capacidad de aprendizaje.

[Tabla 4]

40

Pruebas	No tratada	A β + solución salina	A β + salvia roja	A β + HX107N 10 mg/kg	A β + HX107N 100 mg/kg	A β + HX107N 200 mg/kg
1	85.79 \pm 4.21	86.48 \pm 3.08	87.69 \pm 1.54	90.00 \pm 0.00	84.64 \pm 4.12	89.90 \pm 0.10
2	74.88 \pm 8.83	73.08 \pm 7.02	86.83 \pm 2.45	76.27 \pm 9.18	78.29 \pm 6.38	82.08 \pm 5.39
3	74.38 \pm 8.53	84.66 \pm 3.73	75.40 \pm 8.07	86.44 \pm 2.14	75.27 \pm 6.18	73.42 \pm 9.01
4	67.69 \pm 9.3	76.60 \pm 7.44	68.31 \pm 6.53	74.69 \pm 8.36	64.52 \pm 8.28	52.43 \pm 9.71
5	67.00 \pm 8.79	71.67 \pm 9.12	62.86 \pm 6.59	71.59 \pm 8.37	56.72 \pm 9.84	50.94 \pm 8.58
6	69.36 \pm 7.79	69.80 \pm 10.29	45.77 \pm 8.37	64.76 \pm 8.98	50.39 \pm 9.78	38.66 \pm 9.75#
7	44.04 \pm 6.82	50.30 \pm 9.73	40.79 \pm 7.48	57.63 \pm 10.17	45.58 \pm 10.04	44.59 \pm 9.10
8	22.19 \pm 3.08	42.77 \pm 9.69	32.03 \pm 6.46	35.59 \pm 9.40	30.12 \pm 7.35	27.94 \pm 7.88
9	21.22 \pm 3.36	30.25 \pm 8.05	21.95 \pm 6.42	25.05 \pm 5.47	21.75 \pm 4.14	15.97 \pm 2.67
10	12.02 \pm 1.90	19.61 \pm 2.63*	16.02 \pm 3.58	17.52 \pm 3.13	15.32 \pm 2.86	9.64 \pm 0.85##

La Tabla 4 muestra el efecto de mejora de la memoria espacial de HX107N en la prueba de laberinto de agua. Los símbolos denotan el siguiente significado.

45

#: p < 0.05, ##: p < 0.01.

*: p < 0.05 vs. grupo no tratado.

También en la prueba de sonda realizada después de retirar la plataforma de escape, se confirmó que la administración de amiloide β en el ventrículo cerebral tenía un efecto significativamente negativo en la memoria espacial y la capacidad de aprendizaje del animal. Los grupos a los que se administraron 100 y 200 mg/kg de HX107N durante 4 semanas mostraron una mejoría significativa (Fig. 4).

5 Ejemplo de prueba 6: Prueba de evitación pasiva para probar el efecto de mejora de la memoria de HX107N en un modelo de rata con demencia inducida por β amiloide

10 Se compraron 60 ratas Sprague-Dawley macho (Samtako Bio Korea, Corea) y se aclimataron durante 7 días. Todos los animales de prueba tuvieron acceso libre a comida y agua en una jaula mantenida a temperatura y humedad constantes, bajo un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas. Las 60 ratas se agruparon en 6 grupos (10 por cada grupo) y se administraron por vía oral con HX107N (10, 100 y 200 mg/kg), ginseng rojo (150 mg/kg, Korea Ginseng Corp., Corea) o solución salina, como control, durante 4 semanas. Luego, se inyectó péptido β_{1-42} amiloide de 2.2 nM en el ventrículo cerebral de las ratas utilizando un aparato estereotáxico para inducir demencia. Una semana después, se realizó una prueba de evitación pasiva para probar la memoria. Como un resultado, se descubrió que el amiloide β resultó en una disminución de la memoria, con 205.12 ± 34.69 segundos de tiempo de latencia para el grupo no tratado y 93.48 ± 32.82 segundos de tiempo de latencia para el grupo que recibió administración de β amiloide, dentro del límite de tiempo de 300 segundos. En contraste, el grupo tratado con HX107N mostró una mejoría significativa en la memoria, con 190.90 ± 30.26 segundos de tiempo de latencia para 100 mg/kg y 201.05 ± 25.84 segundos de tiempo de latencia para 200 mg/kg (Fig. 5).

Ejemplo 7 de Prueba: Examen histológico del hipocampo en un modelo de rata con demencia inducida por β amiloide

25 Una vez completadas las pruebas de comportamiento, las ratas se anestesiaron con éter dietílico y se perfundieron con solución salina a través del corazón. Luego, se extrajo el cerebro y se fijó en formalina amortiguada neutra al 10%. El grado de degeneración de las células nerviosas en el hipocampo se observó mediante la tinción con hematoxilina y eosina. Como un resultado, el grupo tratado con β amiloide mostró degeneración de células piramidales, que están involucradas en la memoria, en el giro dentado del hipocampo, en comparación con el grupo no tratado. El grupo tratado con 200 mg/kg de HX107N mostró menos daño (Fig. 6).

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición farmacéutica que comprende: (a) un extracto de una mezcla que consiste en 3 partes en peso de fruta de *Euphoria longan*, 3 partes en peso de salvia roja y 1 parte en peso de *Gastrodia elata* como un ingrediente activo; y (b) un portador farmacéuticamente aceptable para uso en la prevención o tratamiento de enfermedades neurológicas.
- 10 2. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la enfermedad neurológica se selecciona de un grupo que consiste en enfermedad nerviosa degenerativa y trastorno mental.
- 15 3. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 2, en la que la enfermedad nerviosa degenerativa es una enfermedad neurológica seleccionada de un grupo que consiste en demencia, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson y esclerosis lateral amiotrófica.
- 20 4. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 2, en la que el trastorno mental se selecciona de un grupo que consiste en depresión, esquizofrenia y trastorno de estrés postraumático.
- 25 5. Una composición alimenticia para mejorar la función cerebral o cognitiva que comprende un extracto de una mezcla que consiste en 3 partes en peso de fruta de *Euphoria longan*, 3 partes en peso de salvia roja y 1 parte en peso de *Gastrodia elata* como un ingrediente activo.
- 30 6. La composición de la reivindicación 5, en la que la función cerebral o cognitiva es la capacidad de aprendizaje, la memoria o la concentración.
- 35 7. La composición de la reivindicación 6, en la que la composición es para mejorar el deterioro de la memoria.
- 40 8. La composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la mezcla comprende además una planta para mejorar la circulación sanguínea que se selecciona de un grupo que consiste en una raíz de ophiopogon, cúrcuma, *Cnidium officinale*, *Angelica gigas*, grano de melocotón, cártamo, *Aquiranthes japonica*, *Caesalpinia sappan*, incienso, agripalma, *Curcuma longa*, rizoma de caña, acacia de tres espinas y mirra.
- 45 9. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, en la que la planta para mejorar la circulación sanguínea es una raíz de ophiopogon o cúrcuma.
- 50 10. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 9, en la que la raíz de ophiopogon es *Liriope platyphylla* u *Ophiopogon japonicas*.
11. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, en la que la planta para mejorar la circulación sanguínea tiene un efecto desintoxicante cuando se administra en el cuerpo.
12. La composición de la reivindicación 5, en la que la mezcla comprende además una planta para mejorar la circulación sanguínea que se selecciona de un grupo que consiste en una raíz de opiopogón, cúrcuma, *Cnidium officinale*, *Angelica gigas*, grano de melocotón, cártamo, *Achyranthes japonica*, *Caesalpinia sappan*, incienso, agripalma, *Curcuma longa*, rizoma de caña, acacia de tres espinas y mirra.
13. La composición de la reivindicación 12, en la que la planta para mejorar la circulación sanguínea es la raíz de ophiopogon o cúrcuma.
14. La composición de la reivindicación 13, en la que la raíz de ophiopogon es *Liriope platyphylla* u *Ophiopogon japonicas*.

Fig. 1

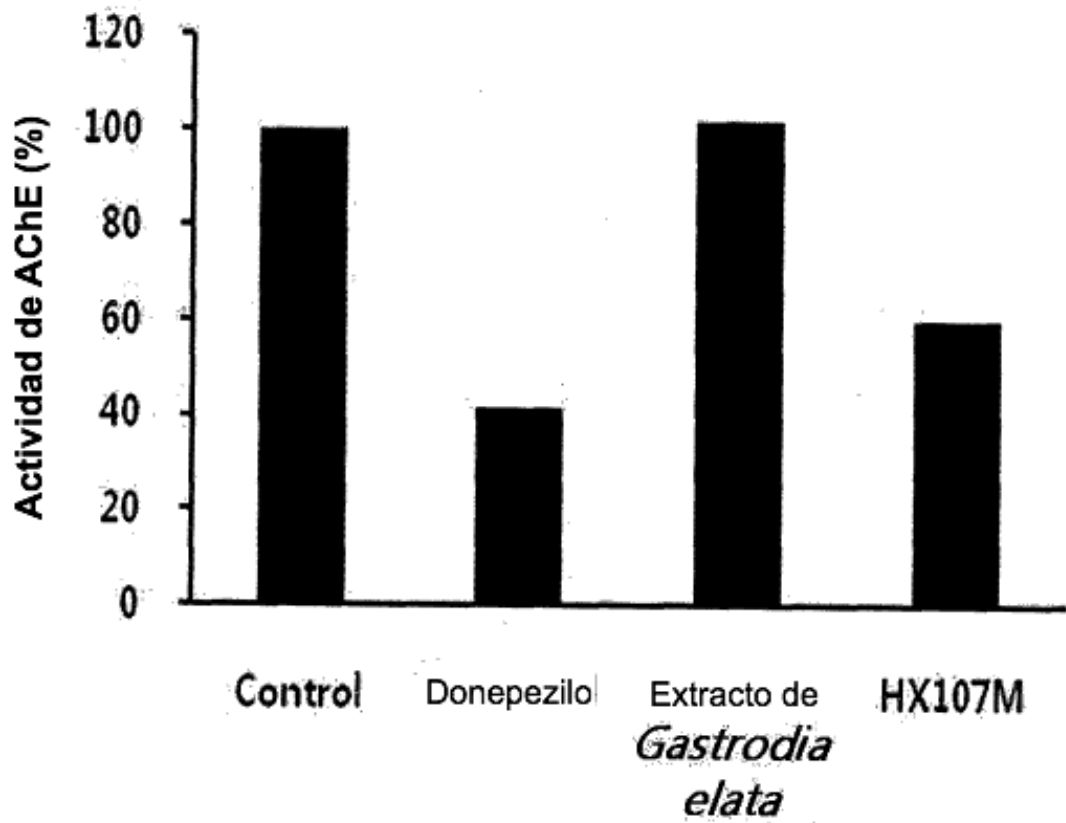


Fig. 2

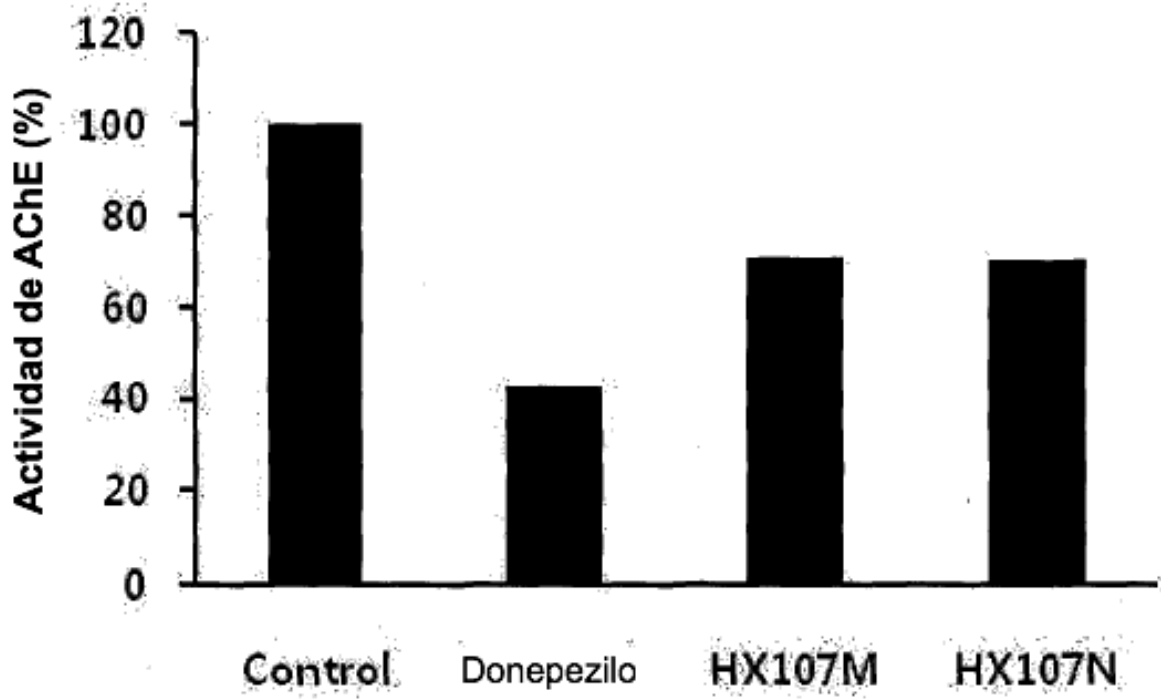


Fig. 3

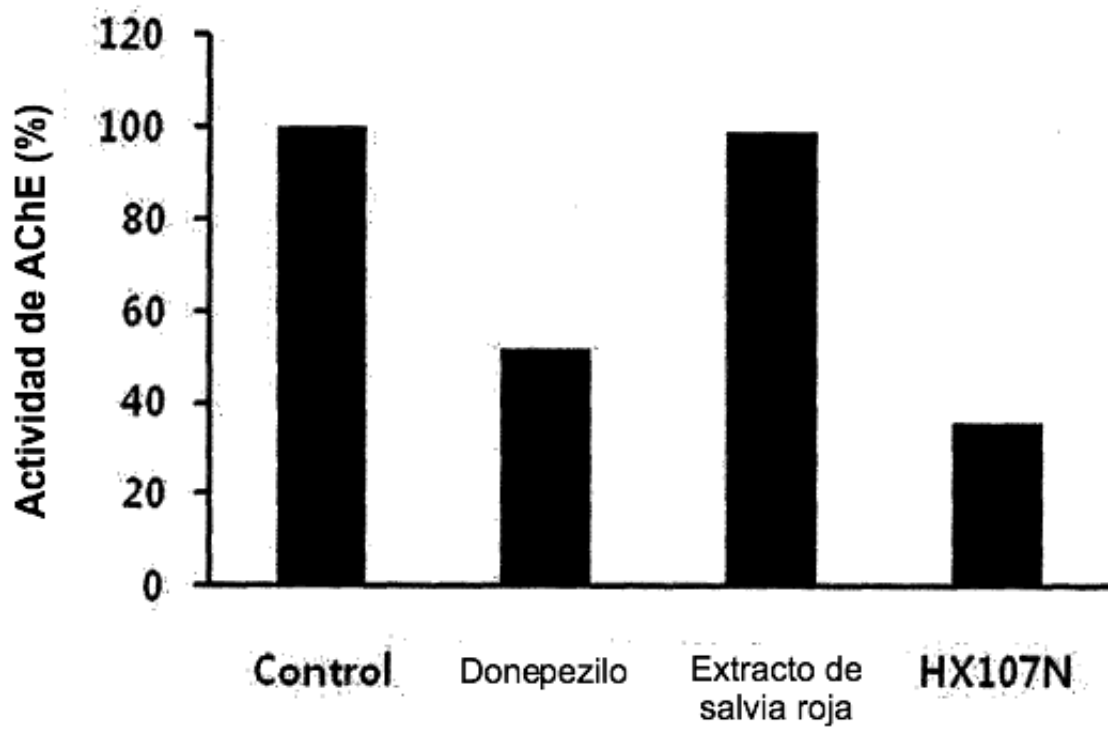


Fig. 4

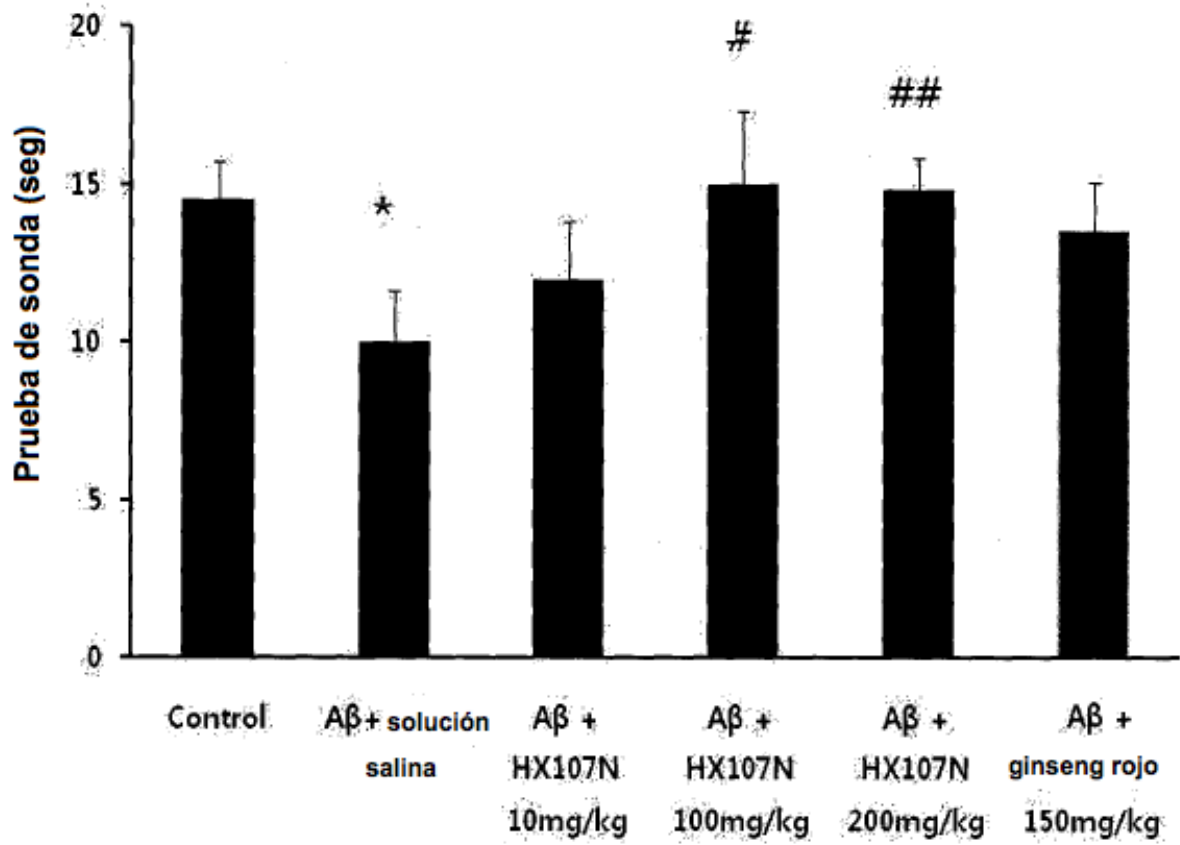


Fig. 5

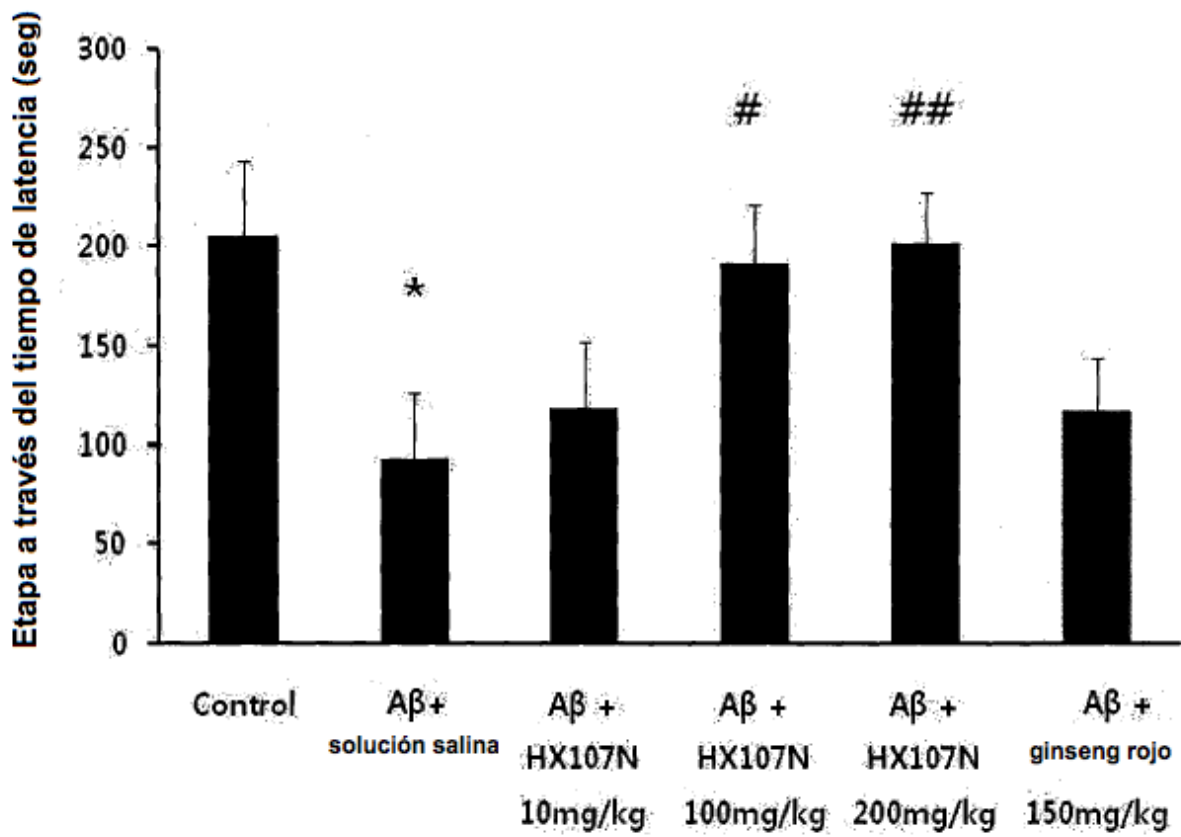


Fig. 6

