

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 423 214**

51 Int. Cl.:

C08B 37/00 (2006.01)

C08L 5/00 (2006.01)

A61K 31/00 (2006.01)

A61K 31/716 (2006.01)

A61K 36/00 (2006.01)

A61K 36/899 (2006.01)

A61P 17/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.04.2004 E 04730431 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.05.2013 EP 1622627**

54 Título: **Composiciones farmacéuticas que comprenden el beta (1-3) beta (1-4) glucano de cereal**

30 Prioridad:

02.05.2003 US 467146 P

10.06.2003 US 477048 P

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

18.09.2013

73 Titular/es:

CEAPRO INC. (100.0%)

**Enterprise Square, 4174- 10230 Jasper Ave NW
Edmonton, AB T5J 4P6, CA**

72 Inventor/es:

**REDMOND, MARK J. y
FIELDER, DAVID A.**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 423 214 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 farmacéuticas que comprenden el beta (1-3) beta (1-4) glucano de cereal

Campo técnico

5 La presente invención se relaciona generalmente a los β -glucanos de cereales. Más particularmente, la invención se relaciona con las composiciones farmacéuticas que comprenden un β (1-3) β (1-4) glucano y extracto botánico, o un agente activo farmacéuticamente.

Antecedentes de la invención

10 Las gomas ya sean sustancias hidrofóbicas o hidrofílicas de un rango de peso molecular desde 10,000 hasta 50,000,000 Daltons, las cuales en solvente apropiado producen geles o suspensiones altamente viscosas o soluciones con bajo contenido en sustancias secas. Las gomas comúnmente usadas en alimentos, medicina, y productos industriales incluyen almidones, derivados de celulosa, pululano, agar, aloe, gelano, goma guar, goma algarrobo, pectina, algina, carragenano, xantano, β -glucano y goma arábica (véase Whistler, R.L. (1993) Industrial Gums: Polysaccharides and their derivatives Eds, Whistler R.L. and BeMiller J.N. (Academic Press)p 2).

15 Los glucanos son homopolisacáridos que consisten solo de glucosa. Sin embargo, dado que es posible unir las moléculas de glucosa en diferentes configuraciones estereoquímicas los glucanos son un diverso grupo de compuestos con diferentes propiedades químicas, físicas y funcionales.

20 Las estructuras químicas de los polisacáridos son de prima importancia en la determinación de sus propiedades. Esto puede ser apreciado por comparación de las propiedades de algunos homogluanos comunes. Por ejemplo, celulosa, un β (1-4)-D glucano es insoluble en agua y altamente cristalino comparado a otros polisacáridos, la amilosa, un α (1-4)-D glucano, es ligeramente soluble en agua, cristaliza menos bien que la celulosa, y puede formar geles rígidos termorreversibles. El dextrano, una (1-6)- α -glucano con un pequeño grado de ramificación, es extremadamente soluble en agua y no forma gel (See Dea, I.C.M. in (1993) Industrial Gums: Polysaccharides and their derivatives Eds. Whistler R.L. and BeMiller J.N. (Academic Press) p 21).

25 El β (1-3) β (1-4) glucano de avena es clasificado como una goma viscosa, (véase Wood, P.J. (1993) Oat Bran Ed P.J. Wood (American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, MN)). El β (1-3) β (1-4) glucano de cereales son estructuralmente polisacáridos presentes en las paredes celulares de cereales, tales como cebada y avena, entre otros.

30 El β (1-3) β (1-4) glucano de avena es reconocido por la FDA de Estados Unidos como un agente que puede ayudar en la prevención de enfermedades del corazón. En 1.997, la FDA permitió que los productos de avena se constituyeran como una reivindicación saludable. Es importante anotar que no otras fuentes de β -glucano, levaduras, fúngica, bacteriana, o cereales (no son reconocidas por tener estos efectos. El β (1-3) β (1-4) glucano de avena es por lo tanto distinto.

El β (1-3) β (1-4) glucano no modificado de avena forma soluciones altamente viscosas en agua a concentraciones > 0.75%. La concentración >1.2% de las soluciones tienen la consistencia de un hidrogel espeso.

35 Los glucanos son estructuras moleculares significativamente diferentes y con diferentes propiedades físicas y químicas comparadas con la avena se encuentran en levaduras, hongos y ciertas bacterias y bacterias manipuladas genéticamente. Por ejemplo, el gelano, (1-3) β -D-glucopiranosil [β (1-3)-glucano] polimérico producido en *Alcaligenes faecalis* se encuentra en Curdlano (Takeda Chemical Ind. Ltd.), el β (1-3) α (1-6) glucopiranosido producido en *Aureobasidium pullulans* se encuentran en pululano, y β (1-3) β (1-6) glucopiranosido se encuentra en levaduras.

40 El peso molecular de los glucanos varía con la fuente. La Tabla 1 muestra los pesos moleculares promedios de gomas típicas.

Tabla 1: Rango de Peso Molecular Típico de Gomas Comunes

GOMA	PESO MOLECULAR PROMEDIO
β (1-3) β (1-4) glucano de avena	500,00 – 1,000,000
Pululano	50,000 – 100,000
Curdlano	~500,000
Metil celulosa	10,000 – 200,000
Carragenano	4,500,000
Xantano	15,000,000 – 50,000,000
Alginato de sodio	10,000 – 18,000,000

La viscosidad de una solución al 1% de diferentes soluciones de gomas de polisacáridos varía con el origen y la naturaleza química. La Tabla 2 muestra viscosidad de soluciones al 1% de gomas típicas.

5 Tabla 2: Rangos de Viscosidad Típicos de soluciones al 1% De Gomas Comunes, Medidas a 25°C

GOMA	VISCOSIDAD SOLUCIÓN AL 1%, cP
β (1-3) β (1-4) glucano de avena	500 - 1500
Pululano	2
Goma Arábica	1 - 5
Metil celulosa	200
Goma de tamarindo	100 - 200
Goma Guar	2,000 – 3,000
Goma de algarrobo	2,000 – 3,000
Xantano	2,000 – 3,000
Alginato de sodio	200 – 700

10 Las propiedades de solubilidad de los glucanos difieren de acuerdo con su fuente. Por ejemplo, el β (1-3) β (1-4) glucano de cereal son normalmente solubles en solventes acuosos, mientras que los β (1-3) β (1-6) glucano de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) son insolubles en solventes acuosos. Son deseables los glucanos solubles. Los β -glucano de levadura han sido solubilizados por adición de grupos fosfato (véase Williams et al. *Immunopharmacol.* 22: 139-156 (1991). β (1-3) β (1-6). Jamas et al. (Patente de los Estados Unidos No. 5,622,939) describe métodos para extraer el β (1-3) β (1-6) glucano soluble a partir de *Saccharomyces cerevisiae*. El método descrito es complejo involucra hidrólisis ácida, hidrólisis básica y uso extensivo de centrifugación y ultrafiltración. No se proveen detalles en cuanto a la
15 estabilidad de los β (1-3) β (1-6) glucano de levadura solubilizada.

Un cierto número de referencias de la técnica anterior divulgan los métodos de preparación de glucanos y composición de glucanos líquidos a partir de cereales. Entre las referencias de la técnica anterior están las siguientes:

20 Beer, et al., *Extraction of Oat Gum from Oat Bran: Effects of Process on Yield, Molecular Weight Distribution, Viscosity and (1-3) (1-4) beta-D-Glucan Content of the Gum*, *Cereal Chemistry* 73(1): 58-62 (1996). Esta referencia describe el uso de alcoholes en una cantidad igual a o mayor que 50% (v/v) para alcanzar la precipitación. Se reportó que la pureza de los glucanos recuperados está entre 22 y 63%.

Wood et al., *Large Scale Preparation and Properties of Oat Fractions Enriched in (1-3)(1-4) beta-D-Glucan*, *Cereal Chemistry* 66(2): 97-103 (1989). Esta referencia describe el uso de alcoholes en una cantidad igual a o mayor que 50% (v/v) para alcanzar la precipitación de glucanos.

25 La Patente de los Estados Unidos No. 6,323,338 divulga un método de aislamiento de β -glucano de avena como una piel enriquecida de extractos de salvado de avena. Este método divulga que no utiliza concentraciones bajas de alcoholes de cadena corta para la precipitación de los glucanos.

30 Redmond (Patente de los Estados Unidos No. 6, 284,886) divulga las composiciones de β (1-3) β (1-4) glucano de cereales, y métodos de producción de estas composiciones. Las composiciones divulgadas satisfacen los requerimientos estrictos de la industria de cosméticos, en términos de su viscosidad, resistencia al desgarre, y mejora en las propiedades humectantes. No se describen métodos para la extracción o purificación de β (1-3) β (1-4) glucano.

Resumen de la invención

35 La presente invención se relaciona en general con β -glucanos de cereales. Mas particularmente, la invención se relaciona con las composiciones farmacéuticas que comprenden un β (1-3) β (1-4) glucano y un extracto botánico, o un agente activo farmacéuticamente.

La presente invención puede ser resumida usando los siguientes párrafos numerados:

1. Una composición farmacéutica que comprende:

un β (1-3) β (1-4) glucano, y

un extracto botánico, o agente activo farmacéuticamente,

en donde el β (1-3) β (1-4) glucano se produce por un método que comprende:

- (i) extracción de un grano de cereal molido o parte de un grano de cereal molido con una solución alcalina para producir un extracto que contenga al menos aproximadamente 0.4 por ciento de peso de β (1-3) β (1-4) glucano;
 - (ii) eliminación del material insoluble, y eliminación del material en partículas que tienen un tamaño de partícula de más de aproximadamente 0.2 μm de dicho extracto para producir un extracto purificado;
 - (iii) adición desde aproximadamente 10% a aproximadamente 25% (vol/vol) de un alcohol $\text{C}_1\text{-C}_4$ al extracto purificado para precipitar el β (1-3) β (1-4) glucano, y
 - (iv) aislamiento del β (1-3) β (1-4) glucano.
2. Las composiciones farmacéuticas, de acuerdo con el párrafo 1, en donde la composición comprende el extracto botánico y en donde el extracto botánico es un extracto de guaraná, Ginkgo biloba, nuez de kola, Hidrastis, Golo Kola, schizandra, saúco, hierba de San Juan, valeriana y Ephedra, té negro, té blanco, té de java, aceite de ajo, fibra, té verde, aceite de limón, macis, regaliz, aceite de cebolla, aceite de naranja, romero, cardo mariano, echinacea, ginseng siberiano o panax ginseng, toronjil, Kava kava, mate, arándano, soja, pomelo, algas, espinillo blanco, flores de lima, salvia, clavo, albahaca, curcumina, taurina, hierba de avena salvaje, grano de avena, diente de león, genciana, aloe de vera, lúpulo, canela, menta, uva, manzanilla, hinojo, malvavisco, jengibre, olmo indio, cardamomo, coriandro, anís, tomillo, rehmannia, eucalipto, mentol, schizandra, withania, primula, lycium o flor de la pasión.
 3. Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con el párrafo 2, en donde el extracto botánico es un extracto de grano de avena.
 4. La composición farmacéutica del párrafo 3, en donde el extracto botánico comprende avenantramida.
 5. La composición farmacéutica de acuerdo con el párrafo 1, en donde la composición comprende el agente activo farmacéuticamente, y en donde el agente activo farmacéuticamente se selecciona del grupo consistente de beta-sitosterol, cafeína, cafestol, D-limoneno, kabweol, nomilil, oltipraz, sulforafano, tangeritina, ácido fólico, o mentol.
 6. La composición farmacéutica de acuerdo con el párrafo 1, en donde la composición comprende el agente activo farmacéuticamente, y en donde el agente activo farmacéuticamente se selecciona del grupo consistente de una antihistamina, un descongestionante, un corticoesteroide, un fármaco antiinflamatorio no esterooidal, un broncodilatador, un vasodilatador, tal como nitroglicerina, y un anestésico local.
 7. La composición farmacéutica del párrafo 6, en donde el vasodilatador es nitroglicerina.
 8. La composición farmacéutica de acuerdo con el párrafo 1, en donde β (1-3) β (1-4) glucano se deriva de un grano de cereal o de una parte del grano de cereal.
 9. La composición farmacéutica de acuerdo con el párrafo 8, en donde el cereal se selecciona del grupo consistente de un cultivar de cebada, un cultivar de avena, un cultivar de trigo, un cultivar de centeno, un cultivar de sorgo, un cultivar de millo, un cultivar de maíz, y una mezcla de los mismos.
 10. La composición farmacéutica de acuerdo con el párrafo 1, en donde el β (1-3) β (1-4) glucano es una composición de β (1-3) β (1-4) glucano que tiene una pureza de al menos aproximadamente 75%, y contiene menos del 10% de impurezas de cenizas, menos que 10% de impurezas de proteína y menos que el 5% de impurezas de lípidos.
 11. La composición farmacéutica de acuerdo con el párrafo 10, en donde las composiciones de β (1-3) β (1-4) glucano tienen una pureza de al menos aproximadamente 92% y contiene menos de 3.5% de impurezas de cenizas, menos del 3.5% de impurezas de proteína, y menos del 1% en impurezas de lípidos.
 12. La composición farmacéutica de acuerdo con el párrafo 10, en donde las composiciones de los cereales de β (1-3) β (1-4) glucano tienen un valor de claridad desde aproximadamente 5 a aproximadamente 100 NTU.
 13. La composición farmacéutica de acuerdo con el párrafo 1, en donde en dicha etapa de adición (etapa iii) en dicho método, aproximadamente 10% a aproximadamente 20% (vol/vol) de un alcohol seleccionado del grupo consistente de metanol, etanol e isopropanol, se usa para precipitar la composición de β (1-3) β (1-4) glucano de dicho extracto purificado.
 14. La composición farmacéutica de acuerdo con el párrafo 13, en donde aproximadamente 10% a aproximadamente 20% (vol/vol) de etanol se usa para precipitar la composición del β (1-3) β (1-4) glucano a partir del dicho extracto purificado.
 15. La composición farmacéutica de acuerdo con el párrafo 1, en donde dicha etapa de eliminación del material en particular de dicho método comprende:
 - una, o más de una etapa de adición de un floculante, un coagulante o ambos floculante y coagulante a dicho extracto para coagular el material en partículas que tienen un tamaño de partícula de más de aproximadamente 0.2 μm , y eliminar el material coagulado a partir de dicho extracto,
 - digerir el material de almidón en dicho extracto, y

filtrar el material en partículas que tienen un tamaño de partícula de más de aproximadamente 0.2 µm a partir de dicho extracto para producir el extracto purificado.

16. La composición farmacéutica de acuerdo con el párrafo 15, en donde en dicha etapa de digestión en dicho método, dicho material de almidón es digerido con una enzima.

5 17. La composición farmacéutica de acuerdo con el párrafo 16, en donde antes de la digestión de dicho material de almidón, se neutraliza dicha solución alcalina.

18. La composición farmacéutica de acuerdo con el párrafo 17, en donde se inactiva dicha enzima después de la digestión de dicho material de almidón en dicho método.

10 19. La composición farmacéutica de acuerdo con el párrafo 18, en donde se inactiva dicha enzima por acidificación de la solución neutralizada.

20. La composición farmacéutica de acuerdo con el párrafo 16, en donde dicha enzima es una amilasa.

21. La composición farmacéutica de acuerdo con el párrafo 20, en donde dicha amilasa no requiere un cofactor de calcio.

15 22. La composición farmacéutica de acuerdo con el párrafo 1, en donde el cereal se selecciona a partir del grupo que consiste en cultivar de cebada, un cultivar de avena, un cultivar de trigo, un cultivar de centeno, un cultivar de sorgo, un cultivar de millo, un cultivar de maíz, y una mezcla de los mismos.

23. La composición farmacéutica de acuerdo con el párrafo 1, en donde la solución alcalina tiene un valor de pH de 9 a 10.

20 24. La composición farmacéutica de acuerdo con el párrafo 1, en donde el pH en una solución alcalina usada en dicho método es desde aproximadamente 9.25 a aproximadamente 9.75.

25. La composición farmacéutica de acuerdo con el párrafo 1, en donde dicha etapa de adición (paso iii) en dicho método conduce a una temperatura de desde aproximadamente 1°C a aproximadamente 10°C.

25 26. La composición farmacéutica de acuerdo con el párrafo 1, en donde dicho método adicionalmente comprende uno, o más de un paso de disolución del aislado β (1-3) β (1-4) glucano en una solución acuosa, precipitación del β (1-3) β (1-4) glucano por adición aproximadamente al 10% a aproximadamente 25% (vol/vol) del alcohol C₁-C₄ a la solución acuosa, y aislamiento del β (1-3) β (1-4) glucano.

30 27. La composición farmacéutica de acuerdo con el párrafo 23 o 24, en donde el grano de cereal molido o parte del grano de cereal molido es extraído con la solución alcalina por un periodo de tiempo de aproximadamente 15 a aproximadamente 45 minutos para producir el extracto que contiene al menos aproximadamente 0.4 por ciento en peso de β (1-3) β (1-4) glucano.

28. La composición farmacéutica de acuerdo con el párrafo 15, en donde el paso de filtración del material que tiene un tamaño de partícula de más de 0.2 µm a partir de dicho extracto se lleva a cabo usando un filtro cubierto con un prerrecubrimiento de una ayuda de filtro que tiene una porosidad de 0.2 µm.

En un primer aspecto, la presente descripción suministra una composición farmacéutica que comprende:

35 una cantidad efectiva de β (1-3) β (1-4) glucano, y

una cantidad efectiva de un extracto botánico, o un agente activo farmacéuticamente.

En el ejemplo uno, la composición del primer aspecto de la presente invención comprende:

una cantidad efectiva de β (1-3) β (1-4) glucano, y

40 una cantidad efectiva de un extracto botánico, en donde el extracto botánico es un extracto de Guaraná, Ginkgo biloba, nuez de kola, Goldenseal, Golo Kola, Schizandra, saúco, hierba de San Juan, valeriana ye, té negro, té blanco, té de java, aceite de ajo, fibra, té verde, aceite de limón, macis, regaliz, aceite de cebolla, aceite de naranja, romero, cardo mariano, echinacea, ginseng siberiano o Panax ginseng, toronjil, kava kava, mate, arándano, soja, pomelo, algas, espino blanco, flores de lima, salvia, clavo, albahaca, curcumina, taurina, hierba de avena salvaje, grano de avena, diente de león, genciana, aloe vera, lúpulo, canela, menta, uva, manzanilla, hinojo, malvavisco, jengibre, olmo indio, 45 cardamomo, coriandro, anís, tomillo, rehmannia, eucalipto, mentol, schisandra, withania, primula, lycium o flor de la pasión, o una cantidad efectiva de agente activo farmacéuticamente seleccionado del grupo consistente de beta-sitosterol, cafeína, cafestol, D-limoneno, kabweol, nomilina, oltipraz, sulforafano, tangeritina, ácido fólico, y mentol.

En otro ejemplo de la composición del primer aspecto de la presente descripción, el extracto botánico es un extracto de grano de avena, el cual preferiblemente comprende avenantramida.

50 En otro ejemplo, la composición del primer aspecto de la presente descripción comprende:

una cantidad efectiva de β (1-3) β (1-4) glucano, y

una cantidad efectiva de un agente activo farmacéuticamente seleccionada del grupo que consiste de una antihistamina, un descongestionante, un corticosteroide, una droga no esteroideal antiinflamatoria, un broncodilatador, un vasodilatador, tal como nitroglicerina, o un anestésico local.

5 El β (1-3) β (1-4) glucano de las composiciones farmacéuticas definidas anteriormente puede ser derivado de un grano de cereal o de una parte del grano de cereal. En un ejemplo, el cereal se selecciona del grupo que consiste de un cultivar de cebada, un cultivar de avena, un cultivar de trigo, un cultivar de centeno, un cultivar de sorgo, un cultivar de millo, un cultivar de maíz, y una mezcla de los mismos.

10 El β (1-3) β (1-4) glucano usado en las composiciones farmacéuticas de la presente descripción puede ser una composición de β (1-3) β (1-4) glucano que tiene una pureza de al menos aproximadamente 75%, y contiene menos del 10% de impurezas de cenizas, menos del 10% de impurezas de proteínas y menos del 5% de impurezas de lípidos. Más particularmente, la presente descripción se relaciona con una composición farmacéutica que comprende una composición de β (1-3) β (1-4) glucano que tiene una pureza de al menos aproximadamente 92%, y contiene menos del 3.5% de impurezas de cenizas, menos del 3.5% de impurezas de proteína, y menos del 1% de impurezas en lípidos. Las composiciones del β -glucano de cereal puede también tener un valor de claridad desde aproximadamente 5 a aproximadamente 100 NTU.

15 El β (1-3) β (1-4) glucano usado en las composiciones farmacéuticas de la presente descripción puede ser formado por un método de aislamiento de β (1-3) β (1-4) glucano a partir de un grano de cereal de millo o una parte de un grano de cereal de millo, que comprende:

20 (i) extracción del grano de cereal de millo o parte del grano de cereal de millo con una solución alcalina para producir un extracto que contiene al menos aproximadamente 0.4 por ciento en peso de β (1-3) β (1-4) glucano;

(ii) eliminación del material insoluble, y eliminación del material en partículas que tiene un tamaño de partícula mayor que aproximadamente 0.2 μm a partir del extracto para producir un extracto purificado;

(iii) adición desde aproximadamente 10% a aproximadamente 25% (p/p) de un alcohol C₁-C₄ de extracto purificado al precipitado de β (1-3) β (1-4) glucano, y

25 (iv) aislamiento del β (1-3) β (1-4) glucano.

En un ejemplo del método definido anteriormente, aproximadamente 10% a aproximadamente 20% (p/p) de un alcohol seleccionado del grupo consistente de metanol, etanol e isopropanol se usa para precipitar el β (1-3) β (1-4) glucano a partir del filtrado. Preferiblemente, aproximadamente 10% a aproximadamente 20% (p/p) de etanol se usa para precipitar el β (1-3) β (1-4) glucano.

30 En un ejemplo de los métodos descritos anteriormente, el paso de eliminación del material en partículas comprende:

uno, o más de un paso de adición de un floculante, un coagulante o ambos un floculante o un coagulante al extracto para coagular el material en partículas que tiene un tamaño de partícula superior que 0.2 μm , y eliminar el material coagulado a partir del extracto,

digerir el material de almidón en el extracto, y

35 filtrar el material en partículas que tiene un tamaño de partícula superior que aproximadamente 0.2 μm a partir del extracto para producir un extracto purificado.

En un ejemplo del método recién descrito, el material de almidón es digerido con una enzima, tal como una amilasa. Más particularmente, la enzima es digerida con una amilasa que no requiere cofactor de calcio. En otro ejemplo, el extracto alcalino es neutralizado antes de que el material de almidón sea digerido. En un ejemplo adicional, la enzima es inactivada siguiendo la digestión del material de almidón, por ejemplo, mediante, acidificación del extracto alcalino que contiene el material de almidón digerido.

El cereal usado en los métodos descritos anteriormente puede ser seleccionado a partir del grupo que consiste de un cultivar de cebada, un cultivar de avena, un cultivar de trigo, un cultivar de centeno, un cultivar de sorgo, un cultivar de millo, un cultivar de maíz, y una mezcla de los mismos.

45 En otro ejemplo, el grano de cereal o la parte del grano de cereal extraído en el paso (i) están en la forma de una harina molida gruesa o una harina molida finamente.

En otros ejemplos de los métodos descritos anteriormente, el valor de pH de la solución alcalina es a partir de aproximadamente 9.00 a aproximadamente 10.00, a partir de aproximadamente 9.25 a aproximadamente 9.75, o desde aproximadamente 9.30 a aproximadamente 9.50. En otro ejemplo, el paso de extracción (paso i) se lleva a cabo sobre un periodo de aproximadamente 15 a aproximadamente 45 minutos.

50 En un ejemplo adicional de los métodos definidos anteriormente, el paso de precipitación se conduce a una temperatura desde aproximadamente 1°C a aproximadamente 10°C, o desde aproximadamente 1°C a aproximadamente 5°C. En un ejemplo aún adicional, el alcohol usado para conducir el paso de precipitación se enfría a temperatura de al menos aproximadamente -20°C antes de ser adicionado a la solución de β (1-3) β (1-4) glucano.

Los métodos definidos anteriormente pueden adicionalmente comprender uno, o más de un paso de disolución del aislado β (1-3) β (1-4) glucano a partir del paso (iv) en una solución acuosa, precipitando el β (1-3) β (1-4) glucano por adición aproximadamente de 10% a aproximadamente 25% (p/p) de un alcohol C₁-C₄ a la solución acuosa, y aislando el β (1-3) β (1-4) glucano.

5 En un ejemplo adicional, el β (1-3) β (1-4) glucano usado en las composiciones farmacéuticas de la presente descripción puede ser formado por un método de aislamiento de β (1-3) β (1-4) glucano a partir de un grano de cereal molido o parte de un grano de cereal molido, que comprende:

(i) extracción del grano de cereal molido o de parte del grano de cereal molido con una solución alcalina para producir un extracto que comprende al menos aproximadamente 0.4 por ciento en peso de β (1-3) β (1-4) glucano;

10 (ii) eliminación del material insoluble, y eliminación del material en partículas que tiene un tamaño de partícula más de aproximadamente 0.2 μ m a partir del extracto para producir un extracto purificado, en donde el paso de eliminación del material en partículas comprende:

uno, o más de un paso de adición de un floculante, un coagulante o ambos, un floculante y un coagulante al extracto para coagular el material en partículas que tiene un tamaño de partícula superior que aproximadamente 0.2 μ m, y
15 eliminación del material coagulado a partir del extracto;

digestión enzimática del material de almidón en el extracto, y

filtrar el material en partículas que tiene un tamaño de partícula de más de aproximadamente 0.2 μ m a partir del extracto para producir el extracto purificado;

20 (iii) adición de aproximadamente 10% a aproximadamente 25% (p/p) de un alcohol C₁-C₄ al extracto purificado para precipitar de β (1-3) β (1-4) glucano, y

(iv) aislamiento del β (1-3) β (1-4) glucano.

El método de purificación de la presente descripción difiere de los métodos divulgados en la Patente de los Estados Unidos No. 6, 323,338 en que el material en partículas es retirado, así como una gran proporción de proteínas (~90%) presente en el grano de cereal original.

25 El método de purificación de la presente descripción permite el uso de concentraciones de alcohol de menos del 50% (p/p), por ejemplo, 10 – 25% de soluciones alcohólicas acuosas para precipitar el β -glucano de cereal. La capacidad de usar tales concentraciones de alcohol es sorprendente en vista de los procedimientos de purificación de la técnica anterior, en la cual se habían usado soluciones de etanol al 50% para precipitar el β -glucano de cereal (véase por ejemplo, Wood et al. Large Scale Preparation and Properties of Oat Fractions Enriched in β (1-3) β (1-4) D-glucan
30 Cereal Chem. 66 97-103 (1989)). Se cree que la eliminación del material en partículas y la mayoría del material de proteína, de acuerdo con el método de la presente descripción reduce las cantidades de alcohol necesarias para precipitar el β -glucano de cereal a partir de la solución.

El uso de soluciones alcohólicas acuosas del 10 al 25% para precipitar el β -glucano de cereal es ventajoso porque se evita la severa deshidratación del β -glucano de cereal, resultando en un precipitado de β -glucano de cereal que puede
35 ser fácilmente suspendido en agua. Adicionalmente, el uso de estas concentraciones de alcohol relativamente más bajas permite que el grano de cereal de partida sea procesado en una planta de manufactura estándar sin la necesidad de un sistema ambiental a prueba de explosión. Por ejemplo, el uso de soluciones alcohólicas acuosas al 20% a una temperatura final de 7-10°C produce una presión de vapor más baja que el Límite de Explosión más Bajo (LEL) de etanol. Adicionalmente, la eficiencia del paso de extracción y la producción de las soluciones intermedias que contienen
40 el β -glucano de cereal en una concentración mayor de 0.4% permite el proceso usando volúmenes de proceso relativamente pequeños.

Descripción de las realizaciones preferidas

La presente invención se relaciona en general con los β -glucano de cereales. Más particularmente, la invención se relaciona con las composiciones farmacéuticas que comprenden un β (1 - 3) β (1 - 4) glucano y un extracto botánico, o
45 un agente activo farmacéuticamente, en donde el β (1 - 3) β (1 - 4) glucano se produce por el método descrito en la reivindicación 1.

La práctica de la presente invención empleará al menos se indique otra cosa, métodos convencionales de química, química cereal y bioquímica, dentro de la experiencia de la técnica. Tales técnicas son explicadas completamente en la literatura. Véase por ejemplo Industrial Gums: Polysaccharides and their derivatives Eds. Whistler R.L. and BeMiller J.N.
50 (Academic Press), Oats: Chemistry and Technology ed. Webster F.H. (American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN).

Tal como se uso en está especificación y en las reivindicaciones anexas, las formas singulares “un”, “uno” y “el/la” incluye referencias al plural al menos que el contenido indique claramente otra cosa.

Definiciones

55 Como se describe en la presente invención, los siguientes términos serán empleados, y se proveen para ser definidos como se indica más abajo.

Por "cereal" se entiende cualquiera de los diferentes granos tales como pero no se limita, a cultivares de cebada, avena, trigo, centeno, sorgo, millo y maíz.

Por "glicano" se entiende un polímero de monosacáridos enlazados entre sí por enlaces glicosídicos.

Por "glucanos" se entiende un homopolisacárido que consiste solamente en glucosa.

- 5 Por " β -glucano de cereal" se entiende un glucano con un β (1-3)- unido al esqueleto glucopiranosilo, o un β (1-4)- unido a un esqueleto glucopiranosilo, o una mezcla β (1 -3) β (1 - 4) unido al esqueleto glucopiranosilo el cual es derivado de una fuente de cereal.

Por " β (1 -3) β (1 - 4) glucano" se entiende un β -glucano de cereal.

- 10 Por "goma" se entiende una planta o polisacárido microbiano o sus derivados, los cuales son dispersables ya sea en agua fría o caliente para producir mezclas viscosas o soluciones. Las gomas pueden ser clasificadas por el origen, e incluyen: gomas exudadas, gomas de algas, gomas de semillas, almidón y derivados de celulosa, y gomas microbianas.

Por "compuesto de interés" se entiende cualquier material farmacéutico, médico, botánico o terapéutico mezclado con un β (1 -3) β (1 - 4) glucano para producir una composición.

- 15 Por "floculantes" y "coagulantes" se entienden moléculas que pueden coalescer con sólidos suspendidos (finos) para formar partículas más grandes, más densas que pueden ser separadas por centrifugación. En ejemplos particulares, los coagulantes son moléculas que pueden llevar unidas partículas suspendidas que son menores de $1\mu\text{m}$ en tamaño, y floculantes que son moléculas que pueden llevar partículas suspendidas que son mayores de $1\mu\text{m}$ en tamaño.

Por "material insoluble" se entiende un material que no es soluble bajo las condiciones de extracción alcalina inicial del método de descripción. Ejemplos no limitantes de tal material incluye fibra, hemicelulosa y ligninas.

- 20 Por "material de partícula" se entiende un sólido o material coloidal que tiene un tamaño de partícula de más de aproximadamente $0.2\mu\text{m}$.

- 25 Por "un grano de cereal molido" o "una parte de grano de cereal molido" se entiende un grano de cereal o parte de grano de cereal, el cual ha sido triturado sometido a abrasión o picado hasta una torta o harina. En un ejemplo particular, la parte molida del grano de cereal es salvado que ha sido sometido a abrasión a partir del grano de cereal y opcionalmente de manera adicional molido y purificado, por ejemplo, mediante, clasificación por aire o tamizado para suministrar un perfil de partícula específico.

Por "cantidad específica" se entiende la cantidad de uno o más de un compuesto de interés necesario para alcanzar un efecto deseado, tal como un efecto fisiológico, o un efecto estimulador.

- 30 Por "secuestrante" se entiende la incorporación, atrapamiento, o solubilización de compuestos hidrofílicos, o compuestos hidrofóbicos, por ejemplo, compuestos hidrofóbicos de pequeño peso molecular, tales como aceites esenciales, farmacéuticos, médicos y agentes terapéuticos.

- 35 Las composiciones de la presente invención pueden ser formadas por mezclas en soluciones acuosas que comprenden aproximadamente 0.01% en peso a aproximadamente 20% en peso, aproximadamente 0.01 % en peso a aproximadamente 1.2% en peso, aproximadamente 0.1% a aproximadamente 1.1% en peso, o aproximadamente 0.5% en peso a aproximadamente 1% en peso del β (1 -3) β (1 - 4) glucano con uno, o más de un compuesto de interés, tal como un extracto botánico, o un agente activo farmacéutico. Uno, o más de un compuesto de interés puede estar presente en una cantidad de desde aproximadamente 0.01% en peso a aproximadamente 40% en peso, de aproximadamente 0.01% en peso a aproximadamente 25% en peso, desde aproximadamente 0.01% en peso a aproximadamente 4% en peso, desde aproximadamente 0.1% en peso a aproximadamente 1.4% en peso o desde aproximadamente 0.5% en peso a aproximadamente 1.2% en peso. Se prefiere que se deje sin perturbación las composiciones resultantes después de que sean mezcladas por un periodo de tiempo suficiente para permitir la formación de una composición homogénea en la forma de una suspensión, emulsión o gel. En muchos casos, la cantidad de tiempo requerido para obtener una composición homogénea es desde aproximadamente ocho a aproximadamente 16 horas.

- 45 Debe apreciarse, sin embargo, que periodos de tiempo más cortos o más largos deben ser requeridos, dependiendo de la cantidad y pureza del β (1 -3) β (1 - 4) glucano usado, así como de la cantidad y naturaleza de cada uno, o más de un compuesto de interés. Las composiciones de la presente invención, las cuales están en la forma de un gel pueden ser convertidas a un estado más fluido por agitación suave.

- 50 Sin querer limitarse a la teoría, la formación de suspensiones homogéneas, emulsión o gel se cree que es causado por uno, o más de un compuesto de interés que son secuestrados o encapsulados dentro del β (1 -3) β (1 - 4) glucano y por la formación subsecuente de enlaces de hidrógeno entre moléculas de uno, o más de un compuesto de interés y β (1 -3) β (1 - 4) glucano. Otra posibilidad es que el β (1 -3) β (1 - 4) glucano actúa como un agente surfactante o emulsificante por reducción de los límites de la tensión entre fases entre uno, o más de un compuesto de interés en la fase acuosa dentro de la cual el β (1 -3) β (1 - 4) glucano está disperso, y, consecuentemente, lo solubiliza de manera efectiva, o más que un compuesto dentro de la fase acuosa.

Ejemplos de los extractos botánicos que pueden ser usados en las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente invención incluyen, sin limitación, extractos de guaraná, ginkgo biloba, nuez de kola, Goldenseal, Golo Kola,

- schizandra, saúco, hierba de San Juan, valeriana y Ephedra, té negro, té blanco, té de java, aceite de ajo, fibra, té verde, aceite de limón, macis, regaliz, aceite de cebolla, aceite de naranja, romero, cardo mariano, echinacea, ginseng siberiano o panax ginseng, toronjil, Kava kava, mate, arándano, soja, pomelo, algas, espinoso blanco, flores de lima, salvia, clavo, albahaca, curcumina, taurina, hierba de avena salvaje, grano de avena, diente de león, genciana, aloe de vera, lúpulo, canela, menta, uva, manzanilla, hinojo, malvavisco, jengibre, olmo indio, cardamomo, coriandro, anís, tomillo, rehmannia, eucalipto, mentol, schisandra, withania, primula, lycium o flor de la pasión.
- En un ejemplo particular, el extracto botánico es un extracto de un grano de avena, más particularmente, el extracto botánico es un extracto de grano de avena, el cual contiene avenantramida.
- Como un ejemplo de un agente activo farmacéuticamente aquí se menciona una antihistamina, un descongestionante, un corticosteroide, una droga no esteroidea antiinflamatoria, un broncodilatador, un vasodilatador o un anestésico local.
- Otros ejemplos de los agentes activos farmacéuticamente de los extractos botánicos que pueden ser usados en las composiciones farmacéuticas de la presente invención incluyen, sin limitación, beta-sitosterol, cafeína, cafestol, D-limoneno, kabweol, nomilina, oltipraz, sulforafano, tangeritina, ácido fólico y mentol.
- Los cereales de beta glucano apropiados para uso en la fabricación de composiciones de la presente invención están disponibles en forma de polvo a partir de varios suministros comerciales, tales como Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO) and Ceapro Inc. (Edmonton, AB, Canada). Las soluciones de beta glucano pueden ser preparadas de la manera descrita en la Patente de los Estados Unidos No. 6, 284,886.
- Las soluciones de beta glucano usadas en las preparaciones de las composiciones de la presente invención pueden también ser preparadas a partir de las composiciones de beta glucano que tienen una pureza desde aproximadamente 65% a aproximadamente 100%, desde aproximadamente 75% a aproximadamente 100%, o desde aproximadamente 85% a aproximadamente 100%. En particular, las soluciones de beta glucano usadas en la preparación de las composiciones de la presente invención generalmente contienen menos del 20%, más particularmente menos del 15%, o aún más particularmente menos del 10%, más particularmente menos del 5% de impurezas, tales como proteínas, lípidos, carbohidratos e impurezas de partículas.
- El β (1-3) β (1-4) glucano usado en las composiciones farmacéuticas de la presente invención puede ser formado por un método de aislamiento de β (1-3) β (1-4) glucano a partir de un grano de cereal molido o parte de cereal de grano molido, que comprende:
- (i) extracto del grano de cereal molido o de parte del grano de cereal molido con una solución alcalina para producir un extracto que contiene al menos aproximadamente 0.4 por ciento en peso de β (1-3) β (1-4) glucano;
 - (ii) eliminación de material insoluble, y eliminación del material en partículas que tiene un tamaño de partícula de más de aproximadamente 0.2 μm a partir del extracto para producir un extracto purificado;
 - (iii) adición desde aproximadamente 10% a aproximadamente 25% (p/p) de un alcohol C₁-C₄ al extracto purificado para precipitar de β (1-3) β (1-4) glucano, y
 - (iv) aislamiento del β (1-3) β (1-4) glucano.
- El β -glucano de cereal puede ser aislado de acuerdo con el método de purificación de la presente invención a partir de un grano de cereal entero molido o grano o parte de un grano de cereal molido, tal como el grano de cereal de salvado molido, preferiblemente, se usa el salvado de grano de cereal. El grano de cereal, o una parte del mismo que es extraído puede estar en la forma de molienda gruesa o harina finamente molida. Los cereales que pueden ser usados en la presente invención incluyen, sin limitación, uno cualquiera de los cultivares de cebada, avena, trigo, centeno, maíz, sorgo y millo.
- En el primer paso del método de purificación de la presente invención, el grano molido o parte del grano molido es suspendido con agua purificada o desionizada (DI) con ósmosis reversa (RO) para un sólido final con concentración de aproximadamente 4 a aproximadamente 10%, o aproximadamente 6 a aproximadamente 8%.
- El valor de pH del agua usada en el primer paso del método de purificación puede ser desde aproximadamente 9.00 a aproximadamente 10.00, más particularmente, desde aproximadamente 9.25 a aproximadamente 9.75, o desde aproximadamente 9.30 a aproximadamente 9.50 y puede ser ajustado usando una base inorgánica, tales como hidróxido de sodio o hidróxido de potasio. En un ejemplo, se usa el hidróxido de potasio a una concentración desde aproximadamente 28 mM a aproximadamente 35 mM. El uso de una solución que tiene un valor de pH entre 9-10 generalmente reduce la cantidad de polisacáridos no glucanos y proteína que es extraída durante el primer paso, y, por lo tanto suministra una extracción selectiva de cereales de alto peso molecular de moléculas de β -glucano.
- La extracción del β -glucano de cereal puede ser llevada a cabo sobre un periodo de 15 a 45 minutos, o sobre un periodo de 15 a 30 minutos. Se aprecia, sin embargo, que periodos más largos o más cortos de extracción pueden ser usados dependiendo del tipo de β -glucano del cereal usado.
- En un segundo paso del proceso de purificación, es removido cualquier material insoluble que no pueda ser extraído, por ejemplo hemicelulosas o ligninas. Ejemplos y métodos que pueden ser usados para separar materiales insolubles incluye, sin limitación, centrifugación, preferiblemente con una centrifuga decantadora y un barrido de vibración.

Cualquier material en partículas finas que incluye algún material basado en proteína es también retirado de la solución alcalina en el segundo paso del método de la presente invención. Este material puede también ser retirado por adición de un floculante o un coagulante externo, o ambos. Los floculantes o coagulantes que pueden ser usados en el segundo paso pueden tener ya sea un

5 Ejemplos de floculantes que pueden ser usados incluyen, sin limitación floculantes sintéticos, tales como poliacrilamidas, sales de acrilatos cuaternarias y macromoléculas floculantes naturales tales como quitosano o polímeros naturales derivados de quitina. Ejemplos particulares de floculantes incluyen: Tramfloc[®] (Tramfloc Inc.), el floculante catiónico SURFLOC[®] 34030 (Jes-Chem Ltd.), poliacrilamida (PAM) floculantes tales como un floculante de la serie Aquamark[®] AQ 600; o un floculante de la serie de floculantes SuperFloc[®] C-500 (QEMI Inc.).

10 Ejemplos de coagulantes que pueden ser usados en el método de la presente invención incluyen, sin limitación, electrolitos inorgánicos, tales como alúmina, caliza, cloruro férrico y sulfato ferroso, polímeros orgánicos, polielectrolitos sintéticos con grupos funcionales aniónico o catiónico, y poliacrilamidas.

15 Los floculantes, coagulantes o mezcla de los mismos, pueden ser usados a una concentración que va desde aproximadamente 0.09% a aproximadamente 0.20% (p/vol), o desde aproximadamente 0.10% a aproximadamente 0.13% (p/vol).

La solución alcalina puede ser incubada con floculante o coagulante por aproximadamente 10 a aproximadamente 40 minutos, o desde aproximadamente 10 a aproximadamente 20 minutos a una temperatura desde aproximadamente 20 a aproximadamente 40°C, o desde aproximadamente 20 a aproximadamente 30°C. Es deseable, sin embargo, que periodos de tiempo más largos o más cortos pueden ser usados para el efecto de coagulación del material en partículas.

20 Si los materiales de carga negativa son retirados de la solución que contiene el β -glucano de cereal entonces se prefiere que el floculante o coagulante esté cargado positivamente. Si los materiales cargados positivamente son removidos de la solución, entonces se prefiere un floculante o coagulante cargado negativamente.

25 Sin querer estar limitado por la teoría, los floculantes y coagulantes que pueden ser usados en el método de la presente invención funcionan formando agregados largos, densos con material en partículas finas, el cual puede ser fácilmente separado a partir de las soluciones acuosas que contienen el β -glucano de cereal.

El material coagulado puede ser removido por centrifugación, usando, por ejemplo, una centrífuga de apilamiento de disco. Otros métodos conocidos de separación física para los experimentados en la técnica pueden también ser usado para efectuar la separación del material coagulado.

30 En el segundo paso, cualquier almidón o material relacionado o que está presente puede ser digerido usando una enzima, tal como, pero no limitado a una amilasa. La enzima puede ser usada a una concentración desde aproximadamente 0.05% a aproximadamente 0.20% (vol/vol), desde aproximadamente 0.09% a aproximadamente 0.15% (vol/vol), o desde aproximadamente 0.09% a aproximadamente 0.11% (vol/vol). Si se usa una amilasa, se prefiere que la solución alcalina se lleve a un valor de pH neutro aproximadamente (esto es -pH 7) antes de adicionar la amilasa. En un ejemplo, la solución que contiene la amilasa se calienta a una temperatura desde aproximadamente 35 50°C a aproximadamente 100°C, o desde aproximadamente 70°C a aproximadamente 90°C por aproximadamente 20 a aproximadamente 30 minutos para gelatinizar el almidón. La amilasa hidrolizará el almidón y cualquier material relacionado. Generalmente la amilasa que se escoge para romper el material de almidón debe ser funcional y estable dentro de los rangos de temperatura indicados anteriormente. Se prefiere particularmente que la amilasa no requiera un cofactor de calcio para digerir el material de almidón. Ejemplos de tal amilasa, incluye, sin limitación, Termamyl[®] LC (Novozymes A/S), y Spezyme[®] FRED (Genencor International Inc.).

40 La terminación de una reacción de hidrólisis se determina cuando una muestra extraída de la solución no produce más una prueba positiva de yodo. En este punto, la enzima puede ser inactivada, por ejemplo, reduciendo el pH a un valor de aproximadamente 3.5 a aproximadamente 4.0. El pH de la solución puede ser reducido usando ácidos inorgánicos fuertes, tales como ácido clorhídrico o ácidos orgánicos débiles, tales como ácido málico o ácido cítrico. Se prefiere, sin embargo, que sea usado un ácido inorgánico fuerte, tal como ácido clorhídrico. Además, se prefiere que la temperatura de la solución se eleve entre 85 – 90°C para desnaturalizar la proteína presente en la solución.

45 La solución acidificada resultante puede entonces ser filtrada para retirar cualquier partícula y contaminante microbiológico, a través de un lecho de filtro que preferiblemente tiene un punto de corte de aproximadamente 20 μ m. Este filtro puede estar cubierto con un prerrecubrimiento de un filtro de ayuda que tiene un espesor de aproximadamente de 2 a aproximadamente 5 mm, tal como Celite[®] C65 (World Minerals), el cual tiene una porosidad nominal de aproximadamente 0.2 μ m. Un peso equivalente de una ayuda de filtro, por ejemplo, una ayuda de filtro de grado farmacéutico lavado con ácido, tal como Celite[®] C300 (World Minerals), puede también ser adicionado como una alimentación de cuerpo a la solución acidificada antes de llevar a cabo el paso de filtración.

55 La filtración puede ser llevada a cabo usando uno cualquiera de un número de dispositivos de filtración. Un ejemplo particular de un dispositivo de filtración que puede ser usado es un filtro de presión. En el caso donde el tamaño de partícula del material contenido en el extracto es menor que 0.5 micrones, entonces la cerámica de microfiltración y ultrafiltración puede alternativamente ser usada para filtrar la solución acidificada.

En el tercer paso del método de purificación, el β -glucano de cereal es precipitado a partir de la solución por adición de un alcohol C₁ – C₄. El alcohol usado para precipitar el β -glucano de cereal puede ser seleccionado a partir del grupo

consistente e metanol, etanol, e isopropanol. Si el β -glucano de cereal aislado de acuerdo con el procedimiento de la presente invención se usa en la preparación de un agente farmacéutico, o un producto comestible, entonces se prefiere usar etanol o isopropanol, más preferiblemente etanol.

5 A medida que la concentración del alcohol en la solución se incrementa, el β -glucano de cereal se precipita como una suspensión coloidal fina. La cantidad total de alcohol que se requiere para llevar a cabo el paso de precipitación puede depender de la concentración de β -glucano de cereal en la solución. El alcohol se adiciona para una concentración final de aproximadamente 10% a aproximadamente 25% por volumen, preferiblemente desde aproximadamente 15% a aproximadamente 17% por volumen. La presente invención, por lo tanto, evita el uso de altas concentraciones de alcohol (esto es concentraciones superiores a 50% en volumen), el cual puede causar severa deshidratación del β -glucano de cereal y resulta en la necesidad de un homogenizador para dispersar el β -glucano de cereal.

10 Si se prefiere que el paso de precipitación sea llevado a cabo a baja temperatura, tal como desde aproximadamente 1°C a aproximadamente 10°C, preferiblemente desde aproximadamente 1°C a aproximadamente 5°C. Además, se prefiere que el alcohol usado en el paso de precipitación sea enfriado a temperatura ambiente de al menos aproximadamente -20°C antes de adicionarlo a la solución de β (1-3) β (1-4) glucano.

15 El material de β -glucano de cereal aislado final es una microdispersión o una nanodispersión, la cual es libre de partículas grandes y no requiere filtración adicional. La solución acuosa del β -glucano de cereal aislado de acuerdo con la presente invención permanece homogénea después de más de un año de haber sido preparada.

20 Una centrifugación que usa, por ejemplo, una centrifuga de apilamiento, o un hidrociclón puede ser usada para aislar el β -glucano de cereal suspendido. Si se desea, el β -glucano aislado puede ser redissuelto en una solución acuosa y reprecipitado con el alcohol C₁ – C₄ para incrementar la pureza del β -glucano. El sólido aislado puede entonces ser secado hasta un polvo usando, por ejemplo, secado por vacío, secado por aspersion o secado en tambor. El método preferido de secado es secado por vacío, el cual produce un sólido granular grueso que puede ser molido adicionalmente hasta un tamaño de partícula deseada, por ejemplo molienda por martillo, espiga o chorro. El secado por vacío, sin embargo, requiere menos calor, y puede producir un β -glucano de cereal relativamente más puro puesto que pueden ser minimizados Maillard y otros subproductos.

25 Para prevenir la gelificación del β -glucano de cereal en cada uno de los pasos del método de purificación de la presente descripción, se prefiere que la adición de sales sea minimizada a través del proceso. Por ejemplo, se prefiere usar agua desionizada o purificada (DI) por ósmosis reversa (RO), así como una amilasa que no requiere un cofactor de calcio, tal como Termamyli[®] LC (Novozymes A/S).

30 Sin querer ser limitado por la teoría, una forma en la cual la gelificación de las soluciones del β -glucano de cereal puede tomar lugares por entrecruzamiento de las moléculas del β -glucano de cereal, el cual es iniciado por coordinación de las moléculas del β -glucano de cereal a iones, tales como calcio. Usando bajas cantidades de sal a través del proceso, pueden, por lo tanto, ser minimizadas las moléculas del β -glucano de cereal entrecruzado en las soluciones intermedias formadas en el método de la presente descripción. Además, limitando la cantidad de sal introducida a través del método de la presente descripción, el β -glucano de cereal puede ser aislado esencialmente libre de sales en el paso final del método.

35 La composición del β -glucano de cereal preparado por el método de purificación de la presente descripción generalmente tiene una pureza de al menos aproximadamente 75%, y contiene menos que 10% de impurezas de cenizas, menos que 10% de impurezas de proteínas y menos que 5% de impurezas de lípidos. Mas particularmente, la composición del β -glucano de cereal de la presente invención tiene una pureza de al menos aproximadamente 92% y contiene menos que el 3.5% de impurezas de cenizas, menos que 3.5% de impurezas de proteína, y menos que 1% de impurezas de lípidos. El rendimiento del β -glucano de cereal preparado de acuerdo con el método de purificación de la presente descripción es generalmente desde aproximadamente 70 a aproximadamente 72%.

45 Las soluciones homogéneas del precipitado del β -glucano de cereal puede ser preparado por suspensión del β -glucano de cereal en agua desionizada tratada por ósmosis reversa a una temperatura de aproximadamente 30°C a aproximadamente 45°C por un periodo de aproximadamente 20 a aproximadamente 30 minutos o hasta que un máximo del β -glucano de cereal se haya solubilizado. La solución puede entonces ser pasteurizada y adicionar un preservativo.

Soluciones acuosas que contienen 1% del β -glucano de cereal, aislado de acuerdo con el método de la presente descripción, generalmente tiene las siguientes características:

- 50
- una viscosidad de aproximadamente 200 a aproximadamente 1500 cP, más particularmente aproximadamente 1000 a aproximadamente 1500 cP.
 - un valor de claridad de aproximadamente 5 a aproximadamente 100 NTU (Unidades Nominales de Turbidez), más particularmente aproximadamente 5 a aproximadamente 40 NTU.
- 55
- una concentración en cenizas de aproximadamente 0.02% a aproximadamente 0.2%, más particularmente aproximadamente 0.02% a aproximadamente 0.07%.
 - una concentración de proteína de aproximadamente 0.02% a aproximadamente 0.2%, más particularmente aproximadamente 0.02% a aproximadamente 0.07%.

- una concentración de lípidos de aproximadamente 0.005% a aproximadamente 0.1%, más particularmente aproximadamente 0.005% a aproximadamente 0.02%.

5 Soluciones estabilizadas del β -glucano de cereal aislado de acuerdo con el método de la presente descripción puede ser preparado de la manera descrita en la Patente de los Estados Unidos No. 6, 284,886. Los preservativos usados en el método descrito en la Patente de los Estados Unidos No. 6, 284,886, debería ser una que esté aprobada para el consumo humano y uso farmacéutico, tal como, pero no limitado a sorbato de potasio, ácido sórbico, cloruro de benzalconio, y parabenos.

10 El β -glucano de cereal aislado de acuerdo con el método de la presente descripción es de uso particular en curación de heridas y reducción de arrugas donde la transparencia del β -glucano de cereal a través de piel intacta, puede llevar a la reconstrucción del colágeno a través de la estimulación del crecimiento de fibroblastos.

La composición farmacéutica de la presente invención puede ser usada en la forma de una aspersion, un líquido, el cual podría estar en la forma de gotas, o un gel. En un ejemplo, el extracto botánico, y el agente activo farmacéuticamente comprende compuestos que son fácilmente absorbidos a través de la mucosa de la cavidad oral, la mucosa de la cavidad nasal, o a través del tejido de las encías.

15 Se prefiere que las composiciones farmacéuticas de la presente invención que contienen un agente anestésico sea aplicado a un región específica localizada en la región de las encías o una superficie de la cavidad oral de un sujeto. También se prefiere que las composiciones de la presente invención, la cual contiene un agente vasodilatador, tal como nitroglicerina, sean aplicadas por debajo de la lengua de un sujeto. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención, la cual comprende una antihistamina, un descongestionante, un corticosteroide o un fármaco antiinflamatorio no esterooidal puede ser aplicado en la parte posterior de la cavidad oral o en la cavidad nasal de un sujeto para permitir la liberación de la medicación a partir de la composición que va a ser inhalada por el sujeto. Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente invención, las cuales comprenden un extracto botánico consumible, pueden ser usadas como un enjuague bucal y expectoradas después de que se han usado, o como alternativa, pueden ser tragadas.

20 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden contener un diluyente o transportador aceptable farmacéuticamente, el cual se escoge basado en la ruta prevista de administración y prácticas farmacéuticas estándar.

25 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden también ser administradas oralmente en la forma de tabletas o cápsulas que contienen los excipientes, tales como almidón o lactosa, o en la forma de elixir o suspensiones que contienen sabores o agentes colorantes. Pueden ser inyectadas parenteralmente, por ejemplo por vía intravenosa, intramuscular o subcutánea. Para administración parenteral se usan mejor en la forma de una solución acuosa estéril isotónica.

30 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden también ser administradas tópicamente cuando se trata de condiciones inflamatorias de la piel en la forma de una crema, una gelatina, un gel, una pasta, o un ungüento. Por ejemplo, las composiciones farmacéuticas de la presente invención, la cual contiene, un corticosteroide, un fármaco antiinflamatorio no esterooidal o un extracto botánico puede ser usado como una composición tópica, en la forma de una crema.

35 El ejemplo 2 demuestra que el β (1-3) β (1-4) glucano de acuerdo con el método de la presente invención, y aplicado en la forma de una composición tópica a la superficie de una sección de piel, puede significativamente cruzar la capa cornea, la epidermis, la dermis y las capas subcutis de la piel. Estos resultados sugieren que un agente activo farmacéuticamente o un extracto botánico encapsulado por el β -(1-3) (1-4) glucano aislado de acuerdo con el método y en la presente invención podría también ser efectivamente transferido debajo de la dermis y láminas subcutáneas de la piel de un sujeto.

40 El contenido del β -glucano de cereal puede ser determinado usando un número de métodos, conocidos para aquellos expertos en la técnica (McCleary AOAC method). Por ejemplo, el contenido de β -glucano de cereal puede ser establecido colorimétricamente y/o por técnicas analíticas estándar tales como cromatografía de exclusión por tamaño y HPLC (véase Wood et al. Cereal Chem. (1977) 54:524; Wood et al. Cereal Chem. (1991) 68:31-39; and Wood et al. Cereal Chem. (1991) 68:530-536). Los β -glucanos pueden también ser analizados enzimáticamente usando kits disponibles comercialmente, tales como Megazyme (Irlanda) empleando las técnicas de McCleary and Glennie-Holmes J. Inst. Brew. (1985) 91:285.

45 Las viscosidades pueden ser medidas con un viscosímetro rotacional de tipo desgarre tal como el Brookfield Syncro-Lectric or Haake Rotovisco. Los métodos de uso de los instrumentos son conocidos por aquellos expertos en la técnica. De manera rutinaria, las mediciones son hechas a cuatro velocidades del disco de rotación a una temperatura constante de 25°C.

50 Los siguientes ejemplos son provistos para ejemplificar la siguiente invención. Variaciones y alteraciones serán fácilmente evidentes para aquellos expertos en la técnica.

Ejemplo 1. Método para la purificación del β -glucano de cereal derivado del salvado de avena.

Salvado de avena (The Quaker Oats Company) se convirtió en pasta con agua de ósmosis reversa (RO) alcalina a un pH de aproximadamente 9.5 para una concentración de sólidos final de 4-10%. La temperatura se mantuvo a 45°C ±

5°C. El β -glucano de cereal se extrajo a partir del salvado de avena en un periodo de 30 minutos. Después de este tiempo, los sólidos se removieron por centrifugación con una centrifuga decantadora. El centrifugado fue enfriado a temperatura ambiente, y el floculante catiónico SURFLOC® 34030 (Jes-Chem Ltd) se adicionó a una concentración de 0.2%. Siguiendo un periodo de incubación de 20 minutos, el material en partículas coagulado se retiró por centrifugación usando una centrifuga de apilamiento de discos. El pH del centrifugado se ajustó a aproximadamente neutro, se calentó a > 72°C para gelatinizar el almidón, y se trató con amilasa estable al calor Termamyl® LC (Novozymes A/S). Cuando la solución no produjo más la prueba de yodo positiva, el pH se redujo a aproximadamente 4.0 para inactivar la enzima, y la mezcla se calentó a 85°C por 30 minutos para desnaturalizar la presente proteína. La solución se enfrió a 4°C durante una hora, y luego se calentó a una temperatura de aproximadamente 72°C. Un peso equivalente de CELITE® C300 (World Minerals) se adicionó a la solución, y la mezcla se filtro usando un filtro de prensa que contiene papel de filtro de 25 μ m y prerrecubierto para una profundidad de aproximadamente 4 mm con CELITE® C65 (World Minerals). La prensa de filtro se calentó a una temperatura de aproximadamente 65°C, y el pH de la corriente de alimentación para la prensa de filtro se ajustó a 4.5 antes de que la solución de β -glucano fuera filtrada. Después de que la solución de β -glucano se paso a través del filtro, la prensa fue enjuagada con agua de ósmosis reversa dando como resultado una solución de β -glucano, clara, de un color amarillo pálido. La solución de β -glucano se enfrió a 5°C y 95% de etanol a una temperatura de -20°C se adicionó con agitación para un volumen final de aproximadamente 15% (p/p). Se formó una suspensión de β -glucano que se separó inmediatamente de la solución por centrifugación con una centrifuga de apilamiento. El β -glucano sólido aislado se adicionó a agua RO a 41°C, se dejó dispersar y luego calentar entre 60-70°C para producir una solución incolora clara que contiene aproximadamente 1% de β -glucano. El β -glucano separado fue incoloro, con una pureza de más de 75%, con una viscosidad >500 cP, y una claridad excepcional <50 NTU, medida usando un medidor de turbidez.

Ejemplo 2. Cuantificación de la distribución del β -glucano purificado aplicado como una composición acuosa a secciones de piel abdominal

Piel abdominal humana se recibió bajo consentimiento informado de cinco donantes saludables que habían sufrido una cirugía plástica. La piel de cada paciente se liberó de grasa subcutánea, y se cortó en tres secciones. Las secciones de la piel se congelaron en nitrógeno líquido y esterizaron durante la noche con una dosis de 25 kGy de radiación gamma. Las muestras irradiadas fueron cada una montadas en una cámara de perfusión como FRANZ-CELL® en un volumen de 20 mL. (PHACOCELL®, PhaCos GmbH, D-82131-Gauting, Alemania; véase Artmann, C. W. In vitro percutaneous absorption into human skin, Fundam. Appl. Toxicol., 28, 1-5 (1996)) que contiene un aceptor medio. Usando un aplicador de microdosis, las muestras irradiadas de piel fueron recubiertas con una dosificación de 5 mg/cm² de composición 1455, composición 1450 o un control de composición. Las composiciones 1455 y 1450 fueron composiciones acuosas que contienen 5% y 50%, respectivamente del β (1-3) β (1-4) glucano preparado de acuerdo con el método de aislamiento de la presente descripción (véase ejemplo 1). La composición de control fue una composición acuosa que no contenía ningún β (1-3) β (1-4) glucano. La cámara se mantuvo libre de burbujas de aire durante el llenado para asegurar un lavado completo y homogéneo de los tejidos de piel. La compensación de presión, interna y externamente de la cámara y una humedad constante de aire fue suministrada por ventilación. La temperatura de la piel se monitoreó con sensores de temperatura, y el contenido de las secciones de piel se monitoreó con un corneómetro. El medio se reguló a 36°C y se hizo circular de manera continua. La humedad en la piel se mantuvo a aproximadamente a 65 unidades de corneómetro, y la temperatura de la superficie de la piel se mantuvo a 32°C a través de un canal de ventilación. Las condiciones anteriores se mantuvieron por regulación en la temperatura del medio usando una placa de calentamiento en la base de la cámara, y tubos de aire, y por ajuste del flujo de aire en la cámara. A las secciones de piel se suministraron medios nutrientes en circulación uniformemente, el cual lavó su superficie más baja. El área de aplicación de todas las muestras se fijó en 10 cm². Las muestras de piel se incubaron durante ocho horas bajo condiciones no oclusivas (abierto).

Al final del periodo de incubación, se tomaron muestras con torundas de secciones de piel tanto con torundas de gasa de algodón y con torundas de gasa de algodón humedecido con 0.2 mL de metanol/agua al 70%. Las secciones de piel se removieron de la cámara de Phacocell® e inmediatamente se congelaron en nitrógeno líquido. Las secciones de piel se cortaron entonces en láminas de 15 μ m a partir de la lámina de córnea en la dermis más profunda. Las secciones de piel se dejaron secar al aire en láminas de vidrio limpias y no se fijaron con ningún fluido. Las láminas se tiñeron entonces con BACTIDROP™ Calcofluor White durante 30 segundos y luego se lavó el exceso de tinción con agua desionizada. Las etapas de tinción y lavado se repitieron dos veces. Las muestras teñidas se cubrieron con una laminilla de vidrio y se examinaron por fluorescencia con un microscopio de fluorescencia LEICA® que tiene un filtro de excitación en un rango entre 400-500 nm con un pico de 440 nm, un filtro de barrera de 500-520 nm y una lámpara de arco de xenón (quemador). El BACTIDROP™ Calcofluor White es un fluorocromo no específico que se enlaza a la celulosa y por excitación con luz ultravioleta de onda larga delinea las paredes celulares de los organismos que contienen celulosa. La deposición de las moléculas de β -glucano se monitorean y cuantifican usando fluorescencia luminosa, focos invertidos en manchas blancas (3 – 5 μ m) véase sobre las paredes celulares de la muestra y los intersticios intercelulares.

El porcentaje medio de deposiciones determinadas por el método de tinción de fluorescencia se muestra en la Tabla 3. Los valores de tinción fluorescentes significativos (>5%) se observaron en las láminas córneas en la epidermis de las muestras de piel tratadas con composición 1455 y composición 1450. Se observaron valores relativamente bajos en la dermis y láminas subcutis de las muestras de piel tratadas con composición 1450 y 1455. Se observaron valores de tinción de fluorescencia <1% en las secciones de piel que se trataron con la composición de control.

Tabla 3. Porcentaje medio de deposición de β (1-3) β (1-4) glucano en diferentes láminas de piel abdominal

	Porcentaje medio de deposición					
	Composición 1455		Composición 1450		Control	
	Porcentaje	Desviación estándar	Porcentaje	Desviación estándar	Porcentaje	Desviación estándar
Medio	-	-	-	-	-	-
Torunda	-	-	.	-	-	-
Lámina córnea	8.7	1.2	12.8	1.9	0.6	0.2
Epidermis	5.9	1.3	11.6	2.0	0.8	0.2
Dermis	2.4	0.5	4.1	1.1	0.6	0.1
Subcutis	1.4	0.5	1.5	0.4	0.9	0.1

5 La documentación de los hallazgos por fotografías (no mostradas) también demostró un consumo significativo del β -glucano en las láminas de la epidermis de las muestras de piel.

Las mediciones de fluorescencia se llevaron a cabo en concordancia con procedimientos de control de calidad y documentaciones. Los números de control del BACTIDROP™ Calcofluor White se probaron usando organismos de control de calidad reconocidos y se encontró aceptable (Microbiology M. Pettenkofer Institute, Múnich). La evaluación estadística se llevó a cabo mediante paquetes de software de estadística SAS/STATISTICA®. Tanto el hardware y el software usados fueron validados.

10 Ejemplo 3. Preparación de enjuague bucal o aspersión que contiene un extracto que contiene avenantramida
Se adicionó el extracto de 1 g de avena que contiene 100 pm de avenantramida (Ceapro Inc.) a una solución en agitación al 10% (p/p) de glucano β (1-3) β (1-4) de avena (Ceapro Inc.) produciendo una solución coloreada casi clara.

15 Ejemplo 4. Preparación de enjuague bucal o aspersión que contiene un extracto nutracéutico
Se adicionó un extracto de Echinacea angustifolia (1000 mg) en etanol al 45% a una solución en agitación de beta glucano de avena (Ceapro Inc.) para alcanzar una concentración final de beta glucano al 0.5% p/p. La mezcla se evaporó bajo vacío reducido para eliminar el alcohol, produciendo una solución ámbar clara.

20 La presente invención ha sido descrita con respecto a realizaciones preferidas. Sin embargo será obvio para personas expertas en la técnica que puede realizarse un número de variaciones y modificaciones.

25

30

35

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende:
un β (1-3) β (1-4) glucano, y
- 5 un extracto botánico, o agente activo farmacéuticamente,
en donde el β (1-3) β (1-4) glucano se produce por un método que comprende:
- (i) extracción de un grano de cereal molido o parte de un grano de cereal molido con una solución alcalina para producir un extracto que contenga al menos aproximadamente 0.4 por ciento en peso de β (1-3) β (1-4) glucano;
- 10 (ii) eliminación del material insoluble, y eliminación del material en partículas que tienen un tamaño de partícula de más de aproximadamente 0.2 μm de dicho extracto para producir un extracto purificado;
- (iii) adición desde aproximadamente 10% a aproximadamente 25% (vol/vol) de un alcohol $\text{C}_1\text{-C}_4$ al extracto purificado para precipitar el β (1-3) β (1-4) glucano, y
- (iv) aislamiento del β (1-3) β (1-4) glucano.
2. La composición farmacéutica, de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la composición comprende el extracto botánico y en donde el extracto botánico es un extracto de guaraná, ginkgo biloba, nuez de kola, hidrastis, golo kola, schizandra, saúco, hierba de San Juan, valeriana y ephedra, té negro, té blanco, té de java, aceite de ajo, fibra, té verde, aceite de limón, macis, regaliz, aceite de cebolla, aceite de naranja, romero, cardo mariano, echinacea, ginseng siberiano o panax ginseng, toronjil, kava kava, mate, arándano, soja, pomelo, algas, espinoso blanco, flores de lima, salvia, clavo, albahaca, curcumina, taurina, hierba de avena salvaje, grano de avena, diente de león, genciana, aloe vera, lúpulo, canela, menta, uva, manzanilla, hinojo, malvavisco, jengibre, olmo indio, cardamomo, coriandro, anís, tomillo, rehmannia, eucalipto, mentol, schisandra, withania, primula, lycium o flor de la pasión.
3. Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el extracto botánico es un extracto de grano de avena.
4. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 3, en donde el extracto botánico comprende avenantramida.
5. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la composición comprende el agente activo farmacéuticamente, y en donde el agente activo farmacéuticamente se selecciona del grupo consistente de beta-sitosterol, cafeína, cafestol, D-limoneno, kabweol, nomilin, oltipraz, sulforafano, tangeritina, ácido fólico, o mentol.
6. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la composición comprende el agente activo farmacéuticamente, y en donde el agente activo farmacéuticamente se selecciona del grupo consistente de una antihistamina, un descongestionante, un corticosteroide, un fármaco no esteroide antiinflamatoria, un broncodilatador, un vasodilatador, tal como nitroglicerina, y un anestésico local.
7. La composición farmacéutica de la reivindicación 6, en donde el vasodilatador es nitroglicerina.
8. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en donde β (1-3) β (1-4) glucano se deriva de un grano de cereal o de una parte del grano de cereal.
9. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 8, en donde el cereal se selecciona del grupo consistente de un cultivar de cebada, un cultivar de avena, un cultivar de trigo, un cultivar de centeno, un cultivar de sorgo, un cultivar de millo, un cultivar de maíz, y una mezcla de los mismos.
10. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el β (1-3) β (1-4) glucano es una composición de β (1-3) β (1-4) glucano que tiene una pureza de al menos aproximadamente 75%, y contiene menos del 10% de impurezas de cenizas, menos de 10% de impurezas de proteína y menos de 5% de impurezas de lípidos.
11. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 10, en donde las composiciones de β (1-3) β (1-4) glucano tienen una pureza de al menos aproximadamente 92% y contiene menos de 3.5% de impurezas de cenizas, menos del 3.5% de impurezas de proteína, y menos del 1% en impurezas de lípidos.
12. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 10, en donde las composiciones de los cereales de β (1-3) β (1-4) glucano tienen un valor de claridad desde aproximadamente 5 a aproximadamente 100 NTU.
13. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en donde en dicha etapa de adición (paso iii) en dicho método, aproximadamente 10% a aproximadamente 20% (vol/vol) de un alcohol seleccionado del grupo consistente de metanol, etanol e isopropanol, se usa para precipitar la composición de β (1-3) β (1-4) glucano de dicho extracto purificado.

14. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 13, en donde aproximadamente 10% a aproximadamente 20% (vol/vol) de etanol se usa para precipitar la composición del β (1-3) β (1-4) glucano a partir del dicho extracto purificado.
- 5 15. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicha etapa de eliminación del material en particular de dicho método comprende:
 uno, o más de una etapa de adición de un floculante, un coagulante o ambos floculante y coagulante a dicho extracto para coagular el material en partículas que tiene un tamaño de partícula de más de aproximadamente 0.2 μm , y eliminar el material coagulado a partir de dicho extracto,
 digerir el material de almidón en dicho extracto, y
- 10 16. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 15, en donde en dicha etapa de digestión en dicho método, dicho material de almidón es digerido con una enzima.
- 15 17. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 16, en donde antes de la digestión de dicho material de almidón se neutraliza dicha solución alcalina.
18. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 17, en donde se inactiva dicha enzima siguiendo la digestión de dicho material de almidón en dicho método,.
19. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 18, en donde dicha enzima se inactiva por acidificación de la solución neutralizada.
- 20 20. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 16, en donde dicha enzima es una amilasa.
21. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 20, en donde dicha amilasa no requiere un cofactor de calcio.
22. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el cereal se selecciona a partir del grupo que consiste en un cultivar de cebada, un cultivar de avena, un cultivar de trigo, un cultivar de centeno, un cultivar de sorgo, un cultivar de mijo, un cultivar de maíz, y una mezcla de los mismos.
- 25 23. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la solución alcalina tiene un valor de pH entre 9 a 10.
24. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el pH en una solución alcalina usada en dicho método es desde aproximadamente 9.25 a aproximadamente 9.75.
- 30 25. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicha etapa de adición (etapa iii) en dicho método se lleva a cabo a una temperatura desde aproximadamente 1°C a aproximadamente 10°C.
26. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho método adicionalmente comprende una, o más de una etapa de disolución del aislado β (1-3) β (1-4) glucano en una solución acuosa, precipitado del β (1-3) β (1-4) glucano por adición de aproximadamente 10% a aproximadamente 25% (vol/vol) del alcohol C₁-C₄ a la solución acuosa, y aislamiento del β (1-3) β (1-4) glucano.
- 35 27. La composición farmacéutica de acuerdo con las reivindicaciones 23 o 24, en donde el grano de cereal molido o parte del grano de cereal molido es extraído con la solución alcalina por un periodo de tiempo de aproximadamente 15 a aproximadamente 45 minutos para producir el extracto que contiene al menos aproximadamente 0.4 por ciento en peso de β (1-3) β (1-4) glucano.
- 40 28. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 15, en donde el paso de filtración del material que tiene un tamaño de partícula de más de 0.2 μm a partir de dicho extracto se lleva a cabo usando un filtro cubierto con un prerrecubrimiento de una ayuda de filtración que tiene una porosidad de 0.2 μm .