

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 459 366**

51 Int. Cl.:

A61K 31/197	(2006.01) A61P 17/00	(2006.01)
A61K 33/26	(2006.01) A61P 29/00	(2006.01)
A61K 33/34	(2006.01) A61P 35/00	(2006.01)
A61P 37/00	(2006.01) A23L 1/305	(2006.01)
A61P 37/04	(2006.01) A23K 1/16	(2006.01)
A61P 43/00	(2006.01)	
A61P 39/06	(2006.01)	
A61P 1/16	(2006.01)	
A61P 3/00	(2006.01)	
A61P 3/10	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.08.2005 E 05774552 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.04.2014 EP 1785132**

54 Título: **Agentes mejoradores de la función constitutiva**

30 Prioridad:

02.09.2004 JP 2004255575
 02.09.2004 JP 2004255576
 02.09.2004 JP 2004255577
 28.07.2005 JP 2005218435
 28.07.2005 JP 2005218436

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
09.05.2014

73 Titular/es:

COSMO OIL CO., LTD. (50.0%)
1-1, Shibaura 1-chome, Minato-ku
Tokyo 105-8528, JP y
SBI PHARMACEUTICALS CO., LTD. (50.0%)

72 Inventor/es:

KONDO, MASAO;
AIBA, NAOMI;
MIYANARI, SETSUKO;
TANAKA, TOHRU;
SUZUKI, TAKAYA y
ISHIZUKA, MASAHIRO

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 459 366 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

Agentes mejoradores de la función constitutiva5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a un agente mejorador de la función inmunológica capaz de incrementar la resistencia a las infecciones y al envejecimiento que es útil para prevenir o tratar enfermedades asociadas al estilo de vida tales como la arteriosclerosis, el cáncer y la diabetes melitus, la pigmentación anormal, tal como manchas y pecas, la inflamación de la piel, la senescencia de la piel y similares.

Técnica anterior

15 La función inmunitaria es una función básica poseída por los animales para conservar la vida, excluyendo selectivamente por ejemplo el caso en el que un patógeno o similar que es desfavorable para la existencia de los mismos invade el organismo o se genera en él un cáncer o similar. La función inmunológica se realiza por medio de una cooperación mutua y una regulación de diferentes linfocitos, macrófagos, leucocitos y similares distribuidos principalmente en el timo y también en el bazo, los ganglios linfáticos, la médula ósea y similares.

20 Un fármaco que mejora la función inmunológica es útil como agente preventivo o terapéutico para cánceres, un agente terapéutico para diversas enfermedades autoinmunitarias y similares, así como un medicamento o un alimento para incrementar la resistencia a diferentes infecciones y similares. Esto es, entre un gran número de aminoácidos, la glutamina y la arginina tienen la acción de mejorar la función inmunológica (Referencia de Patente 1).

25 Adicionalmente se ha descrito que un pienso para ganado con un suplemento de δ -aminoácidos aumenta la autoinmunidad del ganado y la eficacia del pienso y proporciona un efecto de proliferación sobre los fagocitos. En particular, el producto con suplemento de δ -aminoácido aumenta el peso corporal y la eficacia del pienso cuando se añade a pienso para lechones durante el período de destete (Referencia de Patente 4).

30 Adicionalmente, se ha descrito el uso de ácido 5-aminolevulínico para la profilaxis de la restenosis por medio de terapia fotodinámica utilizando dosis sub-letales, que evita el efecto citotóxico y permite un efecto supresor de la función inmunitaria (Referencia de Patente 5).

35 Además, es ampliamente conocido que el oxígeno activo tipificado por el radical superóxido y el peróxido de hidrógeno tienen citotoxicidad y son causa de cáncer, reumatismo, manchas, arrugas y similares. Asimismo, es sabido que la LDL que porta colesterol cambia a LDL oxidada por el oxígeno activo, y la LDL oxidada cambiada se convierte en una causa de arteriosclerosis.

40 Por lo tanto, puesto que se dice que un agente farmacéutico que tiene acción antioxidante es útil en la prevención o el tratamiento de las enfermedades asociadas con el estilo de vida tales como la arteriosclerosis, el cáncer y la diabetes melitus, la pigmentación anormal tal como manchas y pecas, la inflamación de la piel, la senescencia de la piel y similares, se han encontrado diferentes componentes de la acción antioxidante. Por ejemplo, se sabe que la acción antioxidante se puede encontrar en sustancias naturales tales como la vitamina E y la vitamina C, compuestos sintéticos tales como BHT (3,5-*terc*-butil-4-hidroxitolueno) y BHA (2,3-*tert*-butil-hidroxianisol), fármacos brutos y similares (Referencia de Patente 2).

50 Por otra parte, la función sana de los seres humanos y los animales se reduce por la fatiga, la enfermedad, el embarazo, el envejecimiento, los trastornos nutricionales o la mala nutrición. Esta fatiga incluye fatiga física y fatiga mental, y no solamente la fatiga física si no también la fatiga mental están enormemente implicadas en la fatiga moderna.

Entre estos, se utilizan un carbohidrato complejo de sacáridos y almidón y similares como nutrición eficaz para la fatiga física. Asimismo, como medicamentos, se utilizan el grupo de la vitamina B tal como la vitamina B₁, la vitamina B₂ y el ácido nicotínico, la melatonina, la vitamina C, la vitamina E, el magnesio y similares.

60 Además, se ha informado recientemente que los aminoácidos de una composición específica que contienen aminoácidos esenciales y aminoácidos no esenciales tienen un efecto mejorador de la función del ejercicio en un momento de fatiga (Referencia de Patente 3). Los aminoácidos esenciales incluyen valina, leucina, isoleucina, lisina, treonina, metionina y similares, y los aminoácidos no esenciales incluyen arginina, glutamina, prolina y similares.

Referencia de Patente 1: JP-A-2002-3372

Referencia de Patente 2: JP-A-10-139678

Referencia de Patente 3: JP-A-9-249556

Referencia de Patente 4: KR 2003 0097164 A

Referencia de Patente 5: WO 02/49635 A2

Descripción de la invención

5 Problemas a resolver por la invención

10 Sin embargo, entre los aminoácidos que se considera que tienen una acción mejoradora de la función inmunológica, la glutamina tiene el problema de que tiene baja solubilidad y es inestable, de manera que se degrada a ácido glutámico y amoníaco en el organismo, y se sabe que la arginina tiene efectos que causan piel agrietada, y engrosamiento de la piel, hinchazón de las articulaciones y malformaciones de los huesos, de manera que es necesario tener cuidado con su ingestión.

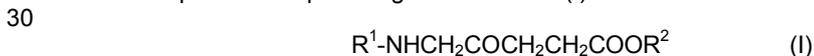
15 Por consiguiente, un objeto de la de la presente invención es proporcionar un agente mejorador de la función inmunológica que se pueda ingerir durante un período de tiempo prolongado.

Métodos para resolver los problemas

20 De este modo, los autores de la presente invención han examinado las acciones farmacológicas de diferentes aminoácidos y han encontrado que los δ -aminoácidos tipificados por el ácido 5-aminolevulínico tienen una excelente acción mejoradora de la función inmunológica, incrementando el peso del timo que es importante como tejido que porta la función inmunológica, y promoviendo el crecimiento de las células del timo de las células T citotóxicas.

Esto es, la presente invención hace referencia a los siguientes apartados 1 a 7.

25 1. Un agente para su uso en un método para mejorar la función inmunológica en animales incluyendo seres humanos, en donde los animales que incluyen seres humanos tienen una función inmunológica disminuida debido a la edad avanzada, y en donde el agente comprende un compuesto seleccionado entre un δ -aminoácido, un derivado del mismo y una sal del mismo, en donde el δ -aminoácido es un compuesto representado por la siguiente fórmula (I)



en donde R^1 representa un átomo de hidrógeno; y R^2 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 7 átomos de carbono.

35 2. El agente de acuerdo con la reivindicación 1 para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el método pretende mejorar el crecimiento de las células del timo.

3. El agente de acuerdo con la reivindicación 1 para su uso en un método de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en donde el agente es un agente para la administración oral, mediante inyectable, oftálmica, en supositorios, fomentos, en parche, en aerosol, tubárica o entérica.

40 4. El agente de acuerdo con la reivindicación 1 para su uso en un método de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en donde el agente es un alimento o una bebida.

5. El agente de acuerdo con la reivindicación 1 para su uso en un método de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en donde el agente es ingerido en una cantidad de 0,001 a 1000 mg de peso corporal por día.

45 6. El agente de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 y 3 a 5 para su uso en un método de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en donde el agente comprende al menos un mineral.

7. El agente de acuerdo con la reivindicación 6 para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en donde el al menos un mineral se selecciona del grupo que consiste en hierro, cobre, selenio, cinc y manganeso.

Efectos de la invención

50 De acuerdo con la presente invención, se puede mejorar la función inmunológica de un animal, incluyendo un ser humano, cuya función inmunológica se había reducido acompañado de envejecimiento, de manera que se puede incrementar la resistencia a una infección y similar.

55 Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 es una vista que muestra fotografías del timo de un grupo al que se ha administrado y un grupo al que no se ha administrado ácido 5-aminolevulínico.

La Fig. 2 es un gráfico que muestra la curva de crecimiento de un ratón.

60 La Fig. 3 es un gráfico que muestra la curva de crecimiento de un cerdo de cría.

Mejor modo de llevar a cabo la invención

Un componente eficaz del agente mejorador de la función inmunológica de la presente invención es un δ -

aminoácido, un derivado del mismo o una sal del mismo (en adelante también referidos como "δ-aminoácidos"). Los ejemplos de los δ-aminoácidos incluyen un ácido 5-aminolevulínico representado por la siguiente fórmula (I):



(en la fórmula, R¹ representa un átomo de hidrógeno; y R² representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 7 átomos de carbono), un derivado del mismo y una sal del mismo (también referidos en adelante como "ácidos 5-aminolevulínicos").

Se sabe que los δ-aminoácidos tales como los ácidos 5-aminolevulínicos son útiles como fotosensibilizador en la terapia fotodinámica (documento JP-T-2004-505105), regulador del crecimiento vegetal (documento JP-A-07-53487), herbicida (documento JP-A-05-117110), terapia para la infección de peces con microorganismos patógenos y parásitos (documento JP-A-2001-316255), acelerador del crecimiento de los cerdos (documento JP-A-2003-40770) y similares.

Los ejemplos del grupo alquilo que tiene de 1 a 7 átomos de carbono representado por R² incluyen un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo n-propilo, un grupo isopropilo, un grupo n-butilo, un grupo isobutilo, un grupo *tert*-butilo, un grupo n-pentilo, un grupo isopentilo, un grupo neopentilo, un grupo *tert*-pentilo, un grupo 2-metilbutilo, un grupo n-hexilo, un grupo isohexilo, un grupo 3-metilpentilo, un grupo etilbutilo, un grupo n-heptilo y un grupo 2-metilhexilo.

Los ejemplos de la sal de δ-aminoácido o un derivado del mismo incluyen sales de adición de ácido tales como hidrocioruro, hidrobromuro, hidroyoduro, fosfato, metilfosfato, etilfosfato, fosfito, hipofosfito, nitrato, sulfato, acetato, propionato, toluenosulfonato, succinato, oxalato, lactato, tartrato, glicolato, metanesulfonato, butirato, valerato, citrato, fumarato, maleato y malato, sales de metales tales como sal de sodio y sal de calcio, una sal de amonio, una sal de alquilamonio, y similares. Con respecto a esto, estas sales se utilizan como una disolución o polvo cuando se utilizan.

El δ-aminoácido anterior, el derivado del mismo o la sal del mismo pueden formar un hidrato o solvato, y se puede utilizar solos o como una combinación opcional de dos o más.

Los δ-aminoácidos se pueden producir mediante uno cualquiera de métodos de síntesis química, de producción microbiana y de producción enzimática. Además, entre los δ-aminoácidos anteriormente descritos, los ácidos 5-aminolevulínicos se pueden producir de acuerdo con los métodos descritos en los documentos JP-A-48-92328, JP-A-62-111954, JP-A-2-76841, JP-A-6-172281, JP-A-7-188133, JP-A-11-42083 y similares. Los δ-aminoácidos producidos de la manera anterior y las soluciones químicas o las soluciones de fermentación antes de su purificación se pueden utilizar como tales sin llevar a cabo la separación y la purificación, con la condición de que no contengan sustancias nocivas. Además, también se pueden utilizar artículos comerciales y similares.

El agente mejorador de la función de salud de la presente invención es un agente mejorador de la función inmunológica.

Específicamente, como se describe más adelante en los Ejemplos, los δ-aminoácidos anteriormente descritos tienen la acción de mejorar la función inmunológica, incrementando el peso del timo de un ratón cuya función inmunológica había disminuido debido a la edad avanzada. De este modo, los δ-aminoácidos anteriormente descritos son útiles como agente mejorador de la inmunidad para animales, incluyendo seres humanos, que tienen una función inmunológica disminuida debido a la edad avanzada.

Como se ha descrito anteriormente, la presente invención hace referencia a un agente mejorador de la función inmunológica, pero en sentido estricto, el agente mejorador de la función inmunológica de la presente invención es un agente de crecimiento de las células del timo que es capaz de hacer crecer las células del timo en un ratón mediante su administración oral al ratón como se muestra más adelante en los Ejemplos. Asimismo, en un sentido más estricto, éste es un agente de crecimiento de células T que hace posible el crecimiento celular de las células T en un ratón mediante su administración oral al ratón como se muestra más adelante en los Ejemplos. Semejante función del δ-aminoácido en un organismo *in vivo* no ha sido pronosticada y por lo tanto es una invención útil en una sociedad que está envejeciendo.

Por consiguiente, los δ-aminoácidos anteriormente descritos son útiles para animales, incluyendo seres humanos, cuya función de salud había disminuido debido al envejecimiento.

Asimismo, con respecto al agente mejorador de la función inmunológica de la presente invención, su efecto se puede mejorar adicionalmente cuando está contenido en él un mineral, o cuando se ingiere simultáneamente con él. Los ejemplos del mineral incluyen hierro, cinc, cobre, fósforo, calcio, magnesio, potasio, selenio, cromo, manganeso, yodo, boro, silicio, vanadio, molibdeno, cobalto y similares. Un mineral particularmente preferible es hierro, cobre, selenio, cinc o manganeso. Estos minerales se pueden utilizar solos o en combinaciones de dos o más. Se puede

utilizar cualquier propiedad química de los minerales, con tal que no sea perjudicial para los organismos.

Si es necesario, se pueden añadir otros nutrientes, antioxidantes y similares al agente mejorador de la función inmunológica de la presente invención. Los ejemplos de los nutrientes son, aminoácidos esenciales, aminoácidos no esenciales, vitaminas, factores internos tales como taurina, coenzima Q10 y ácido α -lipoico, hierbas, proteínas, diversas enzimas. Los ejemplos de los antioxidantes incluyen polifenoles tales como ubiquinona y ácido ferúlico, flavonoides tales como N-acetilcisteína, cisteína, catecol, tocoferol, catequina y quercetina.

El agente mejorador de la función inmunológica de la presente invención también se puede utilizar permitiendo que un portador tal como un excipiente adsorba un polvo de δ -aminoácidos, una solución acuosa preparada disolviendo polvo de δ -aminoácidos en agua, o una solución de fermentación que contiene δ -aminoácidos producida por medio del método anteriormente descrito. La clase de portador puede ser una sustancia general, y los ejemplos incluyen celulosa cristalina, gelatina, almidón, dextrina, torta de aceite, levadura panadera, levadura cervecera, levadura de sake, levadura de vino, leche en polvo desnatada, lactosa, grasas y aceites animales y vegetales, fosfato de calcio anhidro, carbonato de calcio, estearato de magnesio, aluminosilicato de magnesio y metaaluminosilicato de magnesio.

Las formas de dosificación del agente mejorador de la función inmunológica de la presente invención incluyen inyectables, comprimidos, cápsulas, polvos micronizados, jarabes, supositorios, soluciones oftálmicas, fomentos, parches y aerosoles. Estas se pueden producir de acuerdo con los métodos habituales utilizando opcionalmente portadores farmacéuticamente aceptables tales como un disolvente, un medio de dispersión, un expansor y un excipiente. Además, éstas pueden ser ingeridas como una forma de alimento o bebida.

[0031] Cuando el agente mejorador de la función inmunológica de la presente invención se prepara en forma de una solución acuosa es necesario prestar atención a que la solución acuosa no se vuelva alcalina con el fin de evitar la degradación del ingrediente activo, ácido 5-aminolevulínico. Cuando se vuelve alcalina, la degradación del ingrediente activo se puede evitar eliminando el oxígeno.

El agente mejorador de la función inmunológica de la presente invención puede ser suficiente cuando la función inmunológica se puede mejorar por medio de la ingestión de este agente. Las condiciones preferidas se muestran a continuación.

Aunque el animal objeto del agente mejorador de la función inmunológica de la presente invención no está particularmente limitado, son preferibles los animales vertebrados tales como mamíferos, reptiles, aves, anfibios y peces. Los ejemplos incluyen seres humanos, ganado vacuno, cerdos, ovejas, cabras, ratones, ratas, conejos, perros, gatos, aves domésticas, codorniz, peces de agua dulce tales como trucha arcoiris, carpa, anguila y trucha de montaña, peces marinos tales como salmón plateado, cola amarilla, besugo, caballa y atún, y organismos para exhibición, tales como peces tropicales y reptiles, y similares.

El uso del agente como un agente mejorador de la función inmunológica en un método para mejorar la función inmunológica es posible en un animal de edad avanzada, pero preferiblemente, se prefiere después de que cese el incremento del peso del tejido del timo. Es preferible utilizar el agente mejorador de la función inmunológica en un método para mejorar la función inmunológica a los 15 años de edad o después, particularmente preferiblemente a los 30 años de edad o después, en el caso del ser humano.

Aunque el método para ingerir el agente mejorador de la función inmunológica de la presente invención no está particularmente limitado, los ejemplos incluyen ingestión oral, mediante inyectable, oftálmica, en supositorios, fomentos, parches, aerosoles, tubárica y entérica, y es particularmente preferible la ingestión oral.

Aunque el agente muestra un efecto suficiente en una ingestión, puede ser ingerido dos o más veces para mejorar adicionalmente el efecto. Las dos o más veces de ingestión son eficaces con respecto al efecto por agente que va a ser ingerido, y el método de uso eficaz consiste en ingerirlo en pequeñas porciones cada día.

La cantidad de ingestión del agente en una vez por 1 kg del animal que se va a tratar es preferiblemente de 0,001 mg a 1000 mg, más preferiblemente de 0,001 mg a 100 mg, y lo más preferiblemente de 0,001 mg a 50 mg. En cuanto a la cantidad de ingestión del agente, se requiere una cantidad más grande cuando el crecimiento es vigoroso o la frecuencia de ingestión es menor. Se prefiere que la ingestión no exceda el intervalo apropiado, debido a que resulta poco rentable y existe la posibilidad de que la luz solar ocasionar lesiones.

Además, cuando se utilizan conjuntamente minerales, éstos se pueden utilizar simultáneamente o se pueden utilizar por separado. La clase de mineral que se va a utilizar, el método de utilización del mismo y la cantidad de utilización del mismo pueden ser iguales a los de los minerales generalmente comercializados. La cantidad utilizada es, por ejemplo, de 1 a 45 mg, preferiblemente de 5 a 20 mg, por día por macho adulto en el caso del hierro. En el caso del cobre, es de 0,5 a 10 mg, preferiblemente de 1 a 5 mg, por día por macho adulto. En el caso del cinc, es de 1 a 40

mg, preferiblemente de 5 a 20 mg. En el caso del manganeso, es de 0,1 a 11 mg, preferiblemente de 2 a 8 mg. En el caso del selenio, es de 10 a 250 µg, preferiblemente de 20 a 100 µg. En el caso del magnesio, es de 50 mg a 700 mg, preferiblemente de 100 a 500 mg.

5 Ejemplo 1

La presente invención se describe más abajo con detalle basándose en los Ejemplos de la Invención 1 y 2, pero la presente invención no está limitada a estos. Asimismo, % representa el % en peso a menos que se indique de otro modo. Además, los Ejemplos 3 a 9 adicionales describen otras ventajas del agente mejorador de la función inmunológica de la presente invención.

Ejemplo de la invención 1 Ejemplo 1

15 Se inyectaron en ratones (35 a 45 semanas de edad, BALB/cAJc1) previamente criados durante 1 semana 10 mg de hidrocloreuro de ácido 5-aminolevulínico (en adelante referido como "ALA") por kg de peso corporal del ratón una vez al día durante 7 días de manera continuada. El hidrocloreuro de ALA se ajustó a una concentración de 0,5 g/ml con agua destilada y se administró oralmente a los ratones. Después del ensayo, cada ratón se sacrificó y se midió el peso de su timo. El ensayo se llevó a cabo utilizando 5 ratones por 1 lote, y sus valores se mostraron por un valor medio. Los resultados se muestran en la Tabla 1. En el lote tratado con hidrocloreuro de ALA, el peso del timo, que está estrechamente relacionado con la función inmunológica, se había incrementado significativamente, tanto en los casos de machos como de hembras, y se confirmó que el efecto se expresaba de manera notable concretamente en los machos.

Tabla 1

	Timo (g)
♂ No tratados	0,021
♂ Tratados con ALA	0,035
♀ No tratados	0,035
♀ Tratados con ALA	0,038

25 Ejemplo de la invención 2

30 Se inyectaron en ratones (35 a 45 semanas de edad, BALB/cAJc1) criados previamente durante 1 semana, 10 mg de hidrocloreuro de ALA por 1 kg de peso corporal de ratón una vez al día 7 días de manera continuada. El hidrocloreuro de ALA se ajustó a una concentración de 0,5 g/ml con agua destilada y se administró oralmente a los ratones. Después del ensayo, cada ratón se sacrificó y se midieron el peso y el número de células de su timo. Además, se llevó a cabo un ensayo de linfocitos en subgrupos utilizando las células obtenidas. Los resultados se muestran en la Tabla 2 y la Tabla 3. El ensayo se llevó a cabo utilizando 5 ratones por 1 lote, y sus valores se mostraron por un valor medio. En el lote tratado con hidrocloreuro de ALA, el peso del timo, que está estrechamente relacionado con la función inmunológica, había aumentado tanto en los casos de machos como de hembras, y el número de células también se había incrementado significativamente en comparación con el lote no tratado (Tabla 2). Asimismo, puesto que las células CD4-CD8+ se habían incrementado en el lote tratado con ALA basándose en el ensayo de subgrupos, se confirmó que las células T citotóxicas aumentan después de su futura diferenciación, de manera que se demostró su capacidad mejoradora de la función inmunológica (Tabla 3). Además, en la Fig. 1 se muestran fotografías del timo del lote no tratado (lote sin administración) y del timo del lote tratado con ALA (lote tratado con ALA).

Tabla 2

	Timo (g)	Número de células
♂ No tratados	0,021	9,6 × 10 ⁶
♂ Tratados con ALA	0,034	22,0 × 10 ⁶
♀ No tratados	0,026	40,0 × 10 ⁶
♀ Tratados con ALA	0,044	49,9 × 10 ⁶

45

Tabla 3

	CD4-CD8+ (%)
♂ No tratados	4,36
♂ Tratados con ALA	5,55
♀ No tratados	3,00
♀ Tratados con ALA	3,25

Ejemplo adicional 3

5 Se inyectaron en ratones (35 a 45 semanas de edad, BALB/cAJc1) criados previamente durante 1 semana 10 mg de hidrocloreuro de ALA por 1 kg de peso de peso corporal de ratón una vez al día durante 7 días de manera continuada. El hidrocloreuro de ALA se ajustó a una concentración de 0,5 g/ml con agua destilada y se administró oralmente a los ratones. Después del ensayo, cada ratón se sacrificó y el timo del ratón se recogió para medir la actividad superóxido dismutasa (SOD) de su tejido. Al timo recogido se le añadieron, 1,0 ml de sacarosa 0,25 M, y la mezcla se homogeneizó y a continuación se centrifugó a 10.000 G durante 10 minutos, y la solución de sobrenadante resultante se utilizó como solución de enzima. La medición se llevó a cabo utilizando un reactivo de emisión para la medición de la capacidad antioxidante, MPEC (2-metil-6-p-metoxifeniletinilimidazopirazinona) (fabricado por Atto Corp.). Esto es, se dispensaron 250 µl de una solución de reacción que contenía 125 µl de tampón fosfato de sodio 0,1 M (pH 7,5), 10 µl del líquido enzimático, 60 µl de xantina oxidasa de 0,1 unidades/ml, 45 µl de agua destilada y 10 µl de MPEC 0,3 mM en Luminescencer-PSN (fabricado por Atto Corp.), se añadieron 50 µl de hipoxantina 0,72 mM (pH 7,5) para la emisión. Para el cálculo de la razón de inhibición de la emisión, se utilizó el tampón en lugar del líquido enzimático. Para el cálculo, se preparó una curva de calibración utilizando SOD convencional, y el cálculo de la concentración se llevó a cabo utilizando esto.

20 Además, también se midió la actividad glutatona peroxidasa (GPx). Después de mantener 0,6 ml de una mezcla de reacción (que contenía tampón fosfato de K 0,05 M (pH 7,0), NaN₃ 1 mM, EDTA 1 mM y GSH 4 mM) a 37°C, se añadieron 0,1 ml de H₂O₂ 2 mM y 50 µl de la solución de enzima a la célula de un espectrofotómetro y el volumen total se ajustó a 1 ml, y se llevo a cabo el barrido directamente por medio del espectrofotómetro durante 2 minutos (20 mm/min) a una longitud de onda de 340 nm (DO a 340 nm).

25 El cálculo se llevó a cabo por medio de la siguiente fórmula utilizando el coeficiente de extinción molecular de NADPH de a = 6,3 cm²/µmol, calculando la pendiente de la recta ΔDO (ΔDO = Δcm (cantidad de cambio del eje y) × DO Max/cm totales) del diagrama.

30 Actividad GPx = V/adv x ΔDO/Δt

(V es el volumen de la solución de reacción, d = trayectoria de la luz = 1 cm, v = cantidad de la enzima, Δt = cantidad de cambio del tiempo en minutos)

35 El ensayo se llevó a cabo utilizando 5 ratones macho y 5 hembra, un total de 10 animales, para cada lote, y los valores se mostraron por el valor medio. Los resultados se muestran en la Tabla 4. Se confirmó que la actividad SOD o la actividad GPx mejoran en ambos casos de machos y hembras en el lote tratado con ALA.

Tabla 4

	Actividad SOD (U/ml)	Actividad SOD total (U/órgano)	Actividad GPx (U/ml)
Lote no tratado ♂	9,2	9,39	0,37
Lote con ALA ♂	20,2	20,95	0,61
Lote no tratado ♀	25,9	26,81	0,59
Lote con ALA ♀	30,7	31,84	0,67

40 Ejemplo adicional 4

45 Se inyectaron en ratones (35 a 45 semanas de edad, BALB/cAJc1) criados de manera preliminar durante 1 semana 10 mg de hidrocloreuro de ALA por 1 kg de peso corporal de ratón una vez al día durante 7 días de manera continuada. El hidrocloreuro de ALA se ajustó a una concentración de 0,5 g/ml con agua destilada y se administró oralmente a los ratones. Después del ensayo, el ratón se colocó en una jaula de 20 cm × 20 cm de área de suelo, y se midió su distancia de migración durante 5 minutos. El ensayo se llevó a cabo utilizando 5 ratones macho y 5 hembra, un total de 10 animales, para cada lote, y los valores se mostraron mediante el valor medio. Los resultados

se muestran en la Tabla 5. Se confirmó que la distancia de migración era grande y que la capacidad de locomoción mejoraba tanto en los casos de machos como de hembras en el lote tratado con ALA. Además, no se observaron síntomas tales como estimulación y acción anómalas en los ratones tratados con ALA durante el ensayo.

5

Tabla 5

	Cantidad de ejercicio (m)
Lote no tratado ♂	15
Lote con ALA ♂	41
Lote no tratado ♀	9
Lote con ALA ♀	25,5

Ejemplo adicional 5

10 Se inyectaron en ratones (35 a 45 semanas de edad, BALB/cAJc1) criados de manera preliminar durante 1 semana 10 mg de hidrocloreto de ALA por 1 kg de peso corporal de ratón una vez al día durante 7 días de manera continuada. El hidrocloreto de ALA se ajustó a una concentración de 0,5 g/ml con agua destilada y se administró oralmente a los ratones. Después del ensayo, cada ratón se sacrificó para recoger la sangre del ratón, y se midieron la actividad ALA deshidratasa (ALAD) (la actividad de ALA en la cual es dimerizada y de ese modo forma porfobilinógeno (en adelante referido como "PBG") como una molécula de sustancia pirrólica) y la actividad porfobilinógeno desaminasa (PBGD) (la actividad que convierte PBG en hidroximetilbilano) por 1 ml de sangre. La ruta en la cual la ALA forma PBG y la ruta en la cual PBG se convierte en hidroximetilbilano son parte de la importante ruta de síntesis de hemo. A 0,02 ml de sangre completa de ratón tratada con heparina, se añadieron 0,33 ml de agua destilada, la mezcla se ajustó a un volumen total de 0,5 ml añadiendo a esta 0,05 ml de tampón fosfato de Na 0,5 M (pH 6,4), 0,05 ml de DTT 0,1 M (que contenía ZnSO₄ 1 mM) y 0,05 ml de hidrocloreto de ALA 50 mM y se mantuvo a 37°C durante 30 minutos, la reacción se detuvo mediante la adición de 0,5 ml de ácido tricloroacético 1 M, y después se añadió reactivo de Ehrlich al sobrenadante tras la centrifugación a 3000 rpm en el mismo volumen, y exactamente 10 minutos después, se midió la absorbancia a 553 nm, que es una absorbancia característica del compuesto formado por la reacción del reactivo de Ehrlich con PBG, (DO) utilizando un espectrofotómetro.

25 El cálculo se llevó a cabo de la siguiente manera utilizando el coeficiente de extinción molar 61000 del producto de reacción PBG obtenido por la actividad ALAD. El tiempo de reacción de 0 minutos se utilizó como blanco (DO₀).

30 Actividad ALAD

$$= 1 \text{ M} \times (\text{DO} - \text{DO}_0) / 61000 \times 2 / 1000 \times 1 / 0,02 \times 1 \text{ mol PBG/Ht/h}$$

$$= 1,639 \times (\text{DO} - \text{DO}_0) / \text{Ht} \mu\text{mol PBG/ml RBC/h}$$

(Ht representa el valor de hematocrito, RBC representa eritrocitos y h representa el tiempo)

35 Además, la actividad RBGD se midió de la siguiente manera. A 0,02 ml de sangre completa de ratón tratada con heparina, se le añadieron 0,38 ml de agua destilada, a esto se le añadieron adicionalmente 0,05 ml de PBG 0,6 mM (que contenía tampón fosfato de Na 0,38 M (pH 7,8)), y a continuación la mezcla se mantuvo a 37°C durante 30 minutos. La reacción se detuvo añadiendo 0,05 ml de ácido tricloroacético 5 M (que contenía yodo al 0,8%), y a continuación se sometió directamente el sobrenadante después de la centrifugación a 3000 rpm durante 5 minutos a la medición de la intensidad de fluorescencia a una longitud de onda de excitación de 405 nm y una longitud de onda de fluorescencia de 597 nm, utilizando un espectrofluorómetro.

45 El cálculo se llevó a cabo mediante el cálculo proporcional utilizando el isómero tipo I de la uroporfirina (URO) que es una sustancia patrón del uroporfirinógeno I de tipo oxidación.

Esto es,
 FU (intensidad de fluorescencia de Em = 597 nm)

$$= 139 \text{ cuando al sustancia patrón } 0,536 \text{ nmoles URO/ml}$$
 por consiguiente,
 actividad RBGD

$$= 0,536 / 139 \times 0,5 / 0,02 \times 2 \times \text{FU/Ht/h}$$

$$= 0,192 \times \text{FU/Ht nmoles URO/ml RBC/h}$$
 (Ht representa valor de hematocrito, RBC representa eritrocito y h representa tiempo)

55 En ensayo se llevó a cabo utilizando 5 ratones macho por lote, y los valores se mostraron mediante el valor medio. Los resultados se muestran en la Tabla 6. Se confirmó que la actividad ALAD y la actividad PBGD mejoran en el lote

tratado con ALA.

Tabla 6

	Actividad ALAD (μ moles PBG/ml RBC/h)	Actividad PBGD (nmoles URO/ml RBC/h)
Lote no tratado ♂	1,28	55,71
Lote con ALA ♂	1,76	67,36

5 Como se ha descrito anteriormente, se encontró que las actividades de la ruta de síntesis de hemo (actividad ALAD y actividad PBGD) que constituye las proteínas hemo como importantes factores del sistema respiratorio de transporte de electrones mejoran cuando se trata con ALA. De este modo, se consideró que el ciclo del ácido cítrico (ciclo TCA) que porta el metabolismo energético al organismo del animal era activado por la activación de esta ruta, y de ese modo mejoraba la función de ejercicio.

10 Ejemplo adicional 6

15 Se inyectaron ratones (35 a 45 semanas de edad, BALB/cAJc1) criados de manera preliminar durante 1 semana con 10 mg de hidrocloreto de ALA por 1 kg de peso corporal de ratón una vez al día durante 7 días de manera continuada. El hidrocloreto de ALA se ajustó a una concentración de 0,5 g/ml con agua destilada y se administró oralmente a los ratones. El ratón se colocó en un dispositivo giratorio para medir la cantidad de ejercicio (cesta de rotación: 200 mm de diámetro x 50 mm de ancho, cesta de elevación: W 90 mm x D 220 mm x H 90 mm, fabricado por Shinano Seisakusho) y se midió el número de rotaciones en 16 horas antes y después del ensayo. El ensayo se llevó a cabo utilizando 1 ratón por dispositivo giratorio de medición de la cantidad de ejercicio, y se llevó a cabo en ratones hembra utilizando 5 animales no tratados y 5 animales tratados con ALA como lote 1, y los valores se mostraron mediante el valor medio. Los resultados se muestran en la Tabla 7. Se confirmó que la cantidad de rotación era grande y que la capacidad de ejercicio había mejorado en el lote tratado con ALA.

Tabla 7

	Antes del ensayo		Después del ensayo		Razón de incremento antes y después del ensayo (%)
	Número de rotaciones	Distancia (m)	Número de rotaciones	Distancia (m)	
No tratado ♂	10505	6597	11829	7429	113
Tratado con ALA ♂	11297	7095	14155	8889	125

25 Ejemplo adicional 7

30 Se adquirieron un total de 120 animales (60 animales para cada uno de los machos y las hembras) de aproximadamente 4 semanas de edad de ratones ddY-N producidos por Nippon Ikagaku Dobutsu Shizai Kenkyusho Co., Ltd. y se sometieron a 1 semana de examen médico para confirmar que su estado de salud era normal, y a continuación se utilizaron en el ensayo. Los lotes de ensayo se ajustaron a un total de 4 lotes con un lote de control en el cual se administró agua destilada para inyectables en el estómago utilizando una sonda gástrica a una razón de 10 ml por 1 kg de peso corporal del ratón que se va a someter a ensayo durante 28 días seguidos, y 3 lotes de ensayo a los cuales se administró hidrocloreto de ALA de la misma manera a razones respectivas de 5 mg, 10 mg and 25 mg por 1 kg de peso corporal del ratón que se iba a someter a ensayo. Los ratones que se iban a someter a ensayo se dividieron en 12 grupos, incluyendo un 1 grupo 5 machos o hembras, de tal manera que el peso corporal medio de cada grupo fuera casi uniforme, y se adjudicaron 3 grupos de machos o hembras a cada lote y se criaron durante 28 días. Los ratones que se iban a someter a ensayo se criaron para cada grupo utilizando una serie de cinco jaulas de acero inoxidable dispuestas en una cámara de cría ajustada a una temperatura ambiente de 23,0 \pm 2,0°C y un tiempo de irradiación de 12 horas/día. La ganancia de peso corporal se calculó midiendo el peso corporal individual a intervalos de 1 semana desde el inicio del ensayo.

40 Como resultado, como se muestra por medio de las curvas de crecimiento (promedios de machos y hembras, Fig. 2) durante el período de ensayo, el lote al que se habían administrado 10 mg/kg mostró un crecimiento superior que los otros 3 lotes, y cuando se combinó con los resultados del Ejemplo 6, la función de ejercicio mejoró y también se encontró un efecto de ganancia de peso, de manera que se encontró que éste es útil como agente mejorador de la función de salud.

45 Con respecto a esto, no se encontró un estado de salud anormal en los grupos tratados con ALA.

50 Ejemplo adicional 8

ES 2 459 366 T3

Se adquirieron lechones LW-D producidos el mismo día en pocilgas 3 veces, 14 animales cada vez (7 animales castrados y 7 hembras), y se sometieron a crianza preliminar durante 9 a 12 días para confirmar que su estado de salud era normal, y a continuación se seleccionaron 12 animales (6 animales castrados y 6 hembras) cada vez y se utilizaron en el ensayo. Los lotes de ensayo se ajustaron a un total de 3 lotes con 1 lote de control en el cual se añadía un alimento de control (Tabla 8) sin añadir hidrocloreuro de ALA, y 2 lotes de ensayo en los cuales se añadieron 10 ppm o 50 ppm de hidrocloreuro de ALA al alimento y se suministraron. Los lechones que se iban a someter a ensayo se dividieron en 3 grupos, incluyendo cada grupo 4 animales (cada uno con 2 animales castrados y 2 hembras), de tal manera que la distribución del peso corporal fuera casi uniforme, y se adjudicó 1 grupo a cada lote y se crió durante 6 semanas. La pocilga utilizada en el ensayo fue una pocilga de tipo abierto en la cual una cámara para cerdo de suelo de hormigón de 1,8 × 2,7 m se dispuso en una hilera de 14 cámaras, y la alimentación del grupo se llevó a cabo utilizando cámaras de 3 cerdos contiguas para cada bloque. Se utilizó paja de arroz como lecho. Se dispuso una caja que conservaba el calor en cada cámara de cerdo durante 3 semanas después del inicio del ensayo. El alimento y el agua de bebida se proporcionaron constantemente. La ganancia de peso corporal se calculó midiendo el peso corporal individual a intervalos de 1 semana desde el inicio del ensayo. Los resultados se muestran en la Tabla 8.

Como resultado, como se muestra por medio de curvas de crecimiento (promedio de animales castrados o hembras, Fig. 3) durante el período de ensayo, los lotes con adición de 10 ppm y 50 ppm mostraron un crecimiento superior que el lote de control, y cuando se combinaron con los resultados del Ejemplo 6, la función de ejercicio mejoró y también se encontró un efecto de ganancia de peso, de manera que se encontró que esto era útil como agente mejorador de la función de salud.

Con respecto a esto, no se encontró un estado de salud anormal en los grupos tratados con ALA.

Tabla 8

Razón de mezcla de alimento de control (%)			
Materiales	Razón de mezcla	Materiales	Razón de mezcla
Maíz	50,60	Fosfato de calcio sec.	0,05
Harina de trigo	19,00	Cloruro de sodio	0,20
Torta de judías	5,00	Vitaminas grupo B ¹⁾	0,10
Harina de pescado	1,50	Vitaminas ADE ²⁾	0,10
Leche en polvo desnatada	5,00	Minerales vestigiales ³⁾	0,10
Proteína de soja conc.	9,00	Hidrocloreuro de L-lisina	0,46
Glucosa	5,00	L-triptófano	0,04
Aceites y grasas en polvo	2,00	L-treonina	0,10
Carbonato de calcio	0,75		
Total			100,00
Composición ⁴⁾			
CP (%)	18,7	Leu	1,86
DE (Mcal/kg)	3,49	Lys eficaz	0,99
Ca (%)	0,69	Met + Cys eficaz	0,68
NpP (%)	0,37	Phe + Tyr	1,43
Arg	0,93	Thr eficaz	0,65
His	0,48	Trp	0,22
Ile	0,64	Val	0,83

Nota 1) En 1 kg; nitrato de tiamina 1,0, riboflavina 7,0, hidrocloreuro de piridoxina 0,5, amiduro de ácido nicotínico 6,0, D-pantotenato de calcio 10,9, cloruro de colina 57,6
 Nota 2) En 1 g, vitamina A 10.000 UI, vitamina D 32.000 UI, acetato de dl- α -tocoferol 10 mg
 Nota 3) En 1 kg, Mn 50 g, Fe 50 g, Cu 10 g, Zn 60 g, I 1 g
 Nota 4) La composición de componentes es el valor calculado

Ejemplo adicional 9

Se adquirieron un total de 300 pollitos, 150 pollitos hembra y 150 macho, respectivamente, de pollitos primarios para engorde (Chunky). Tras la adquisición, se excluyeron los pollitos que tenían anomalías (debilidad o enanismo), y el resto se equiparon con cintas en las alas para la identificación individual y se midieron individualmente sus pesos corporales. Como se muestra en la Tabla 10, las hembras o machos se dividieron en 3 grupos (45 pollitos o más por grupo) basándose en sus pesos corporales, y adjudicaron a 3 grupos, cada uno con 15 pollitos, al azar en cada grupo. Utilizando 15 pollitos hembra o macho (30 pollitos en total) como grupo 1, se pusieron en una rejilla para pollos dispuesta en un cobertizo de tipo cerrado, y se calentaron disponiendo una lámpara de rayos infrarrojos para uso animal. La rejilla para pollos se amplió simultáneamente al crecimiento de los pollitos. Se suministraron constantemente alimento y agua para beber. Los grupos de ensayo se ajustaron a un total de 3 grupos que contenían el grupo de control, en el cual se utilizó un alimento de control (se utilizó un alimento de ensayo convencional SDB Núm. 1 desde que eran recién nacidos hasta las 3 semanas de edad, o un alimento de ensayo convencional SDB Núm. 2 desde las 3 semanas de edad a las 7 semanas de edad, (ambos fabricados por Nippon Formula Feed Mfg Co., Ltd., Tabla 9) sin añadir hidrocloreto de ALA, y 2 grupos de ensayo, un grupo tratado con 10 ppm de ALA y un grupo tratado con 50 ppm de ALA en los que se añaden 10 ppm o 50 ppm de hidrocloreto de ALA al alimento y se suministran, y se dispusieron 3 lotes de repetición para cada grupo. El número de pollitos que se iba a someter a ensayo en cada grupo de ensayo fue el mostrado en la Tabla 10. El período de ensayo se ajustó a 7 semanas (7 semanas de edad) desde el momento del nacimiento (inicio del suministro del alimento), y se midió el peso corporal total de las hembras y los machos para cada lote de repetición en el momento del nacimiento y a intervalos de 1 semana después de eso. Además, se recogieron aproximadamente 2 ml de sangre de la vena braquial (vena basilica) de cada uno de los 18 pollitos (3 pollitos hembra o macho/repetición) de cada grupo a las 3 semanas de edad y 7 semanas de edad, y aproximadamente 1,5 ml de la misma se sometieron a tratamiento de prevención de la coagulación utilizando heparina-sal de litio y a continuación se separó el plasma sanguíneo para examinar LDH, GOT (AST), γ -GTP, ALP, proteína total, albúmina, globulina, colesterol total, triglicéridos, glucosa, ácido úrico, bilirrubina total, ácido úrico, creatinina, calcio y fósforo inorgánico. Los resultados se muestran en las Tablas 11 y 12. Como resultado, respecto al peso corporal (promedio de hembras o machos) durante el período de ensayo, no se encontró diferencia en el peso corporal desde el momento del nacimiento a las 3 semanas de edad entre los grupos de ensayo como se muestra en la Tabla 11, pero el peso corporal a las 3 semanas de edad y después en el grupo tratado con 10 ppm de ALA y el grupo tratado con 50 ppm de ALA fue mayor que en el grupo de control. Además, como resultado del análisis de sangre, como se muestra en la Tabla 12, se encontró que la γ -GTP (gamma glutamil transpeptidasa) disminuyó en el grupo tratado con 10 ppm de ALA y en el grupo tratado con 50 ppm de ALA en comparación con el grupo de control, de manera que se encontró que ALA tiene un efecto mejorador de la función del hígado y por lo tanto es útil como agente mejorador de la función de salud.

En este aspecto, como en los grupos tratados con ALA, no se observó ninguna anomalía en las condiciones generales durante el período de ensayo, y no se encontró ninguna anomalía referente a la razón de cría y a los descubrimientos de la autopsia patológica que se considerara que se debiera a esta adición.

40

Tabla 9

Materiales y componentes generales del alimento sometido a ensayo		
Componentes	SDB Núm. 1 (neonato a 3 semanas de edad)	SDB Núm. 2 (3 a 7 semanas de edad)
Proteína bruta (%)	23,8	20,0
Grasa bruta (%)	5,8	6,8
Fibra bruta (%)	2,5	2,6
Ceniza bruta (%)	5,2	5,0
Calcio (%)	1,04	1,02
Fósforo (%)	0,73	0,73
Energía total (Mcal/kg)	4,14	4,13
Energía metabolizable (Mcal/kg)	3,07	3,16
Materiales: maíz, harina de Hokuyo, torta de aceite de soja, harina de trigo, harina de alfalfa, vitaminas, minerales, aminoácidos		

Tabla 10

Configuración de los grupos de ensayo	
Grupos de ensayo	Número de pollitos sometidos a ensayo
Grupo de control	30 pollitos (15 pollitos hembra o macho) × 3 lotes de repetición, 90 pollitos en total
Grupo ALA 10 ppm	30 pollitos (15 pollitos hembra o macho) × 3 lotes de repetición, 90 pollitos en total
Grupo ALA 50 ppm	30 pollitos (15 pollitos hembra o macho) × 3 lotes de repetición, 90 pollitos en total
Total	270 pollitos

Tabla 11

Resultados de la medición del peso corporal								
Crecimiento (g)	Neonato	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas	5 semanas	6 semanas	7 semanas
Grupo de control	37,8	169,2	439,6	802,6	1367,4	2008,1	2703,5	3301,7
Grupo ALA 10 ppm	37,8	166,3	442,0	817,2	1402,7	2063,9	2736,4	3420,9
Grupo ALA 50 ppm	37,7	169,1	436,8	807,7	1400,8	2036,7	2731,5	3403,3

5

Tabla 12

Resultados de la medición de γ -GTP		
γ -GTP (IU/l)	3 semanas de edad	7 semanas de edad
Grupo de control	30,7	33,3
Grupo ALA 10 ppm	29,7	29,7
Grupo ALA 50 ppm	30,0	32,7

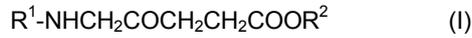
Aplicabilidad industrial

10 De acuerdo con la presente invención, se puede mejorar la función de salud de un animal cuya función de salud se ha reducido, tal como un animal, incluyendo seres humanos, cuya función de salud se ha reducido acompañada de envejecimiento.

15

REIVINDICACIONES

5 1. Un agente para su uso en un método para mejorar la función inmunológica en animales, incluyendo seres humanos, en donde los animales incluyendo seres humanos tienen una función inmunológica disminuida debido a la edad avanzada, y en donde el agente comprende un compuesto seleccionado entre un δ -aminoácido, un derivado del mismo y una sal del mismo, en donde el δ -aminoácido es un compuesto representado por la siguiente fórmula (I)



10 en donde R^1 representa un átomo de hidrógeno; y R^2 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo que tiene de 1 a 7 átomos de carbono.

15 2. El agente de acuerdo con la reivindicación 1, para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el método es para mejorar el crecimiento de las células del timo.

3. El agente de acuerdo con la reivindicación 1, para su uso en un método de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en donde el agente es un agente para la administración oral, inyectable, oftálmica, supositorios, fomentos, parches, aerosol, tubárica o entérica.

20 4. El agente de acuerdo con la reivindicación 1, para su uso en un método de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en donde el agente es un alimento o bebida.

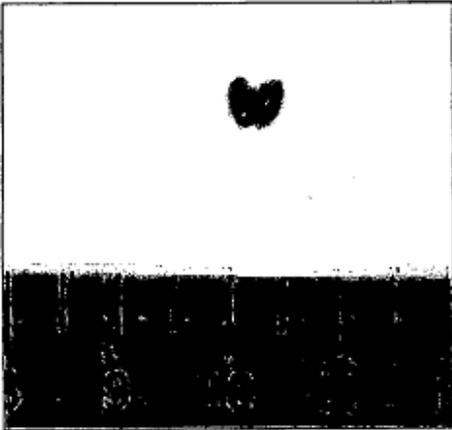
25 5. El agente de acuerdo con la reivindicación 1, para su uso en un método de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en donde el agente es ingerido en una cantidad de 0,001 a 1000 mg por peso corporal por día.

6. El agente de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 3 a 5, para su uso en un método de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en donde el agente comprende al menos un mineral.

30 7. El agente de acuerdo con la reivindicación 6, para su uso en un método de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en donde el al menos un mineral se selecciona del grupo que consiste en hierro, cobre, selenio, cinc y manganeso.

FIG. 1

TIMO DE GRUPO SIN ADMINISTRACIÓN



TIMO DE GRUPO AL QUE SE ADMINISTRA ALA

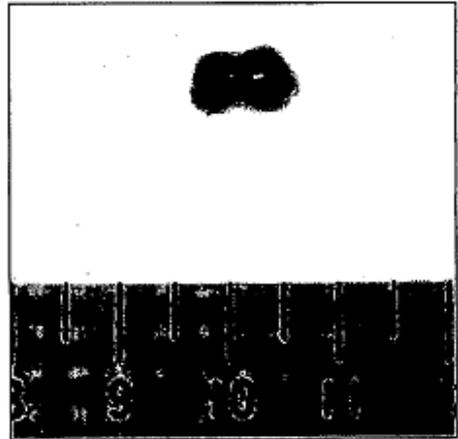


FIG. 2

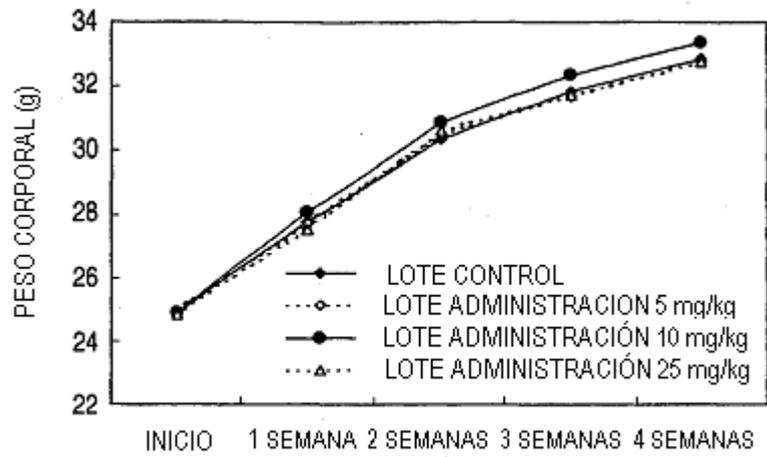


FIG. 3

