

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 646 444**

51 Int. Cl.:

A61K 35/64	(2015.01)
A61K 36/87	(2006.01)
A61P 29/00	(2006.01)
A61K 31/192	(2006.01)
A61K 31/352	(2006.01)
A61K 45/06	(2006.01)
A61K 36/18	(2006.01)
A23L 21/20	(2006.01)
A23L 33/105	(2006.01)
A61K 35/644	(2015.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.09.2012 PCT/EP2012/067584**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **14.03.2013 WO13034746**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.09.2012 E 12756729 (5)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.08.2017 EP 2800574**

54 Título: **Composiciones antiinflamatorias que comprenden malvidin-3-O-beta glucósido y un extracto de propóleo**

30 Prioridad:

08.09.2011 FR 1157995

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.12.2017

73 Titular/es:

**UNIVERSITE DE BORDEAUX (50.0%)
35 Place Pey Berland
33000 Bordeaux, FR y
NUTRIVERCELL (50.0%)**

72 Inventor/es:

**RENARD, LOÏC;
MOSSALYAI, M. DJAVAD y
MERILLON, JEAN-MICHEL**

74 Agente/Representante:

SALVA FERRER, Joan

Observaciones:

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

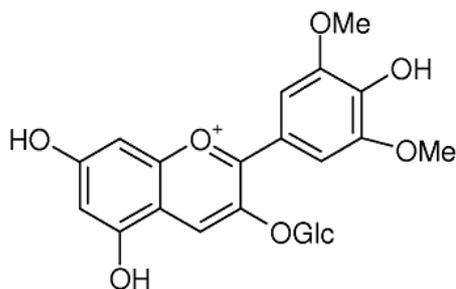
ES 2 646 444 T3

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 antiinflamatorias que comprenden malvidin-3-O-beta glucósido y un extracto de propóleo

- 5 **[0001]** La presente invención se refiere a una composición antiinflamatoria que comprende un extracto de planta que comprende un contenido específico de malvidin-3-beta glucósido y un extracto de propóleo. La invención se refiere más particularmente a la utilización de esta composición en el tratamiento de enfermedades inflamatorias, incluyendo la artritis.
- 10 **[0002]** La gestión actual de las enfermedades inflamatorias, en particular artritis, se basa principalmente en el uso de agentes esteroideos antiinflamatorios (corticoides) o agentes antiinflamatorios no esteroideos, tales como ibuprofeno, ketoprofeno, ácido niflúmico o diclofenac.
- 15 **[0003]** Sin embargo, existen inconvenientes importantes asociados con el uso de estos agentes antiinflamatorios, en particular sus efectos adversos en el estómago (úlceras gástricas o duodenales).
- [0004]** Además, existen tratamientos básicos que participan en la extinción de los síntomas de la inflamación, tales como sulfasalazines (Salazopyrine®).
- 20 **[0005]** Sin embargo, muchos problemas continúan con estos tratamientos, en particular la toxicidad a largo plazo de las moléculas, tales como los corticoides, pero también la ausencia de la prevención en la aparición de la inflamación.
- 25 **[0006]** La actividad antiinflamatoria de propóleo, en particular el ácido cafeico o su éster contenido en propóleo es conocido (Borelli et al, Fitoterapia (2002), 73 Suppl 1, 53-63).
- [0007]** Sin embargo, esta actividad, cuando el contenido de propóleo es limitado, es insuficiente para inhibir la respuesta inflamatoria en el caso de enfermedades inflamatorias crónicas, tal como la artritis.
- 30 **[0008]** Las actividades antiinflamatorias de antocianinas, en particular de malvidina y su glucósido, también son conocidas (Wang et al, J. Agric. Food. Chem (2002), 50, 850-857).
- [0009]** El documento FR 2916141 describe el uso de malvidin-3-O-β-glucósido en una composición médica para prevenir o tratar una enfermedad que implica procesos inflamatorios crónicos o agudos, en particular la artritis reumatoide.
- 35 **[0010]** Sin embargo, hoy en día no hay composiciones no tóxicas, en particular composiciones alimenticias o tópicas, que tengan efectos antiinflamatorios, en particular contra la artritis, la eficiencia de las cuales sea próxima o equivalente a agentes antiinflamatorios utilizados habitualmente.
- 40 **[0011]** Por lo tanto un primer objetivo de la invención es proporcionar una composición que supera las desventajas de la técnica anterior y que aporta una solución a todos o parte de los problemas de la técnica anterior.
- 45 **[0012]** Otro objetivo es proporcionar una composición antiinflamatoria cuya eficacia en el tratamiento de enfermedades que implican procesos inflamatorios crónicos o agudos, en particular la artritis, sea próxima o equivalente a la de las composiciones disponibles actualmente.
- [0013]** Otro objetivo es proporcionar una composición antiinflamatoria no tóxica que puede estar en forma de una composición alimenticia o uso tópico.
- 50 **[0014]** Otro objetivo de la invención es proporcionar una composición antiinflamatoria que se puede combinar con otros agentes antiinflamatorios, tales como cortisona o metotrexato, reduciendo así los riesgos de toxicidad asociados con su uso.
- 55 **[0015]** La presente invención se refiere a una composición antiinflamatoria, que comprende:
 (a) un extracto vegetal que comprende al menos 5% en peso, preferiblemente de 5 a 20% en peso, ventajosamente de 5 a 15% en peso, de malvidin-3-O-β-glucósido; y
 (b) un extracto de propóleo que comprenden ácido cafeico o uno de sus ésteres, ácido ferúlico, galangina y pinocebrina;
 60 en una proporción en peso a/b de extracto vegetal/extracto de propóleo que va de 1/4 a 4/1.
- [0016]** La malvidin-3-O-β-glucósido es un derivado glucósido de la malvidina que tiene la siguiente fórmula:



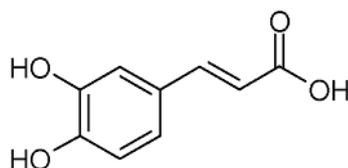
- 5
- 10
- 15
- [0017] Según la invención, el extracto vegetal puede seleccionarse entre extractos de uva, arándanos (*Vaccinium spp*), zarzamora (*Rubus fruticosus*) o incluso col roja (*Brassica oleracea var. capitata f. Rubra*).
- 20
- [0018] Según la invención, el extracto vegetal se elige ventajosamente entre extractos de cutícula de uva.
- [0019] Según la invención se obtiene el extracto de cutícula de uva o es obtenible por un procedimiento que comprende la concentración de las fracciones de polifenoles de al menos un orujo de uva roja.
- 25
- [0020] Por orujo de uva se entiende todo lo formado por cutículas, las semillas y el tallo obtenido del prensado de la uva después de haber separado la hierba.
- [0021] Según la invención, el orujo de uva roja surge ventajosamente del prensado de uvas de las cepas Merlot, Cabernets, tal como Sauvignon o Franc, Syrah, Gamays, Grenache, Tannat o Alicanthe Bouchet o mezclas de los mismos.
- 30
- [0022] Según la invención, el extracto de cutícula de uva se obtiene ventajosamente por un procedimiento que comprende seleccionar al menos un orujo de uva roja y la concentración de las fracciones de polifenol de dicho orujo.
- 35
- [0023] El procedimiento para obtener el extracto de cutícula de uva puede comprender en particular una primera etapa de selección de orujo de uva roja y una difusión de dicho orujo en presencia de una dispersión acuosa de dióxido de azufre.
- 40
- [0024] Esto va seguido por una centrifugación, y a continuación la concentración de fracciones de polifenoles, en particular por evaporación, seguido por concentración a vacío.
- [0025] El producto así obtenido puede someterse a una pulverización permitiendo de este modo la obtención de un extracto de cutícula de uva en forma de un polvo que comprende al menos 5% en peso de malvidin-3-O- β -glucósido, así como baja humedad residual.
- 45
- [0026] La proporción en malvidin-3-O- β -glucósido del extracto vegetal se mide, en particular, mediante HPLC acoplado a un espectrofotómetro DAD UV-Vis (detección a 535 nm) utilizando una columna de fase inversa C18 y un gradiente de disolvente que consiste en ácido trifluoroacético y acetonitrilo.
- 50
- [0027] Como ejemplo de extracto de cutículas de uva se puede mencionar un extracto de cutículas de uva que comprende 10% en peso de malvidin-3-O- β -glucósido comercializado por GRAP'SUD bajo la referencia Anthos-vin.
- [0028] El contenido en peso del extracto vegetal en la composición según la invención varía del 0,1 al 50%, preferiblemente del 1 al 40%.
- 55
- [0029] Propóleo designa una serie de sustancias resinosas, gomosas y balsámicas de consistencia viscosa, recogidos en ciertas partes, en particular los brotes y corteza de las plantas por las abejas que las transportan a la colmena y las alteran parcialmente con la adición de sus propias secreciones salivales y cera. Estas plantas son principalmente árboles como el pino, abeto, álamo, aliso, sauce, castaño de Indias, abedul, ciruelo, fresno, roble u olmo.
- 60
- [0030] Por extracto de propóleo se entiende una forma de propóleo que se puede aplicar. Por lo tanto, puede ser sin transformar o sin tratar, o sino, transformado en presencia de un excipiente adecuado, por ejemplo algarroba, almidón o derivado de almidón, por ejemplo maltodextrina. El propóleo puede estar, en particular, en forma de un polvo. Para ello, el propóleo se puede mezclar con una solución hidroalcohólica a la cual se añade un excipiente, tal como maltodextrina o polvo de algarroba, como vehículo. La mezcla resultante se evapora y se seca. Un extracto de
- 65

propóleo que comprende 18% de propóleo y 82% de algarroba en polvo se comercializa bajo los nombres de propóleo PPM 18 por LUSTREL. Otro ejemplo de extracto de propóleo que comprende 60% de propóleo y 40% de algarroba se comercializa por Plantex.

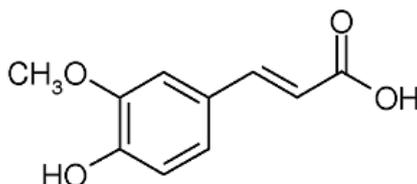
5 **[0031]** El contenido en peso del extracto de propóleo en la composición según la invención va del 20 al 80%, preferiblemente del 30 al 70%.

10 **[0032]** Según la invención, el extracto de propóleo comprende un contenido en peso de ácido cafeico o un éster del mismo del 0,001 al 0,2%, preferiblemente del 0,005 al 0,15%, de ácido ferúlico del 0,0001 al 0,005%, preferiblemente del 0,0005 al 0,003%, de galangina del 0,05 al 10%, preferiblemente del 0,1 al 6% y de pinocembrina del 0,1 al 5%, preferiblemente del 0,2 al 3%.

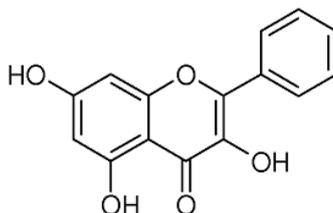
15 **[0033]** El ácido cafeico o ácido (E) 3-(3,4-dihidroxifenil)-2-propenoico es un ácido hidroxicarboxílico que tiene la siguiente fórmula:



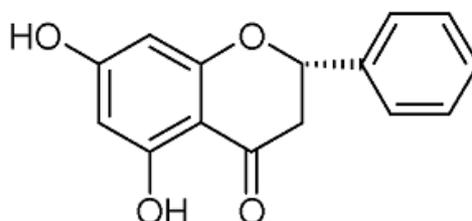
25 **[0034]** El ácido ferúlico o ácido 3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-2-propenoico es un ácido hidroxicarboxílico que tiene la siguiente fórmula:



35 **[0035]** La galangina o 3,5,7-trihidroxi-2-fenilcromen-4-ona es un derivado de flavonoide que tiene la siguiente fórmula:



45 **[0036]** La Pinocembrina o (2R, 3R)-3,5,7-trihidroxi-2-fenil-croman-4-ona es un derivado de flavonoide que tiene la siguiente fórmula:



55 **[0037]** Además, la composición según la invención también puede comprender al menos un compuesto activo adicional que puede seleccionarse entre agentes analgésicos, preferentemente capsaicina, ventajosamente procedente de pimienta de Cayena, agentes antibacterianos, preferiblemente un extracto de arándano, ventajosamente un extracto de arándano *Vaccinium macrocarpon*, agentes antiinflamatorios o mezclas de los mismos.

60 **[0038]** En una realización, la composición según la invención también comprende la capsaicina o un agente antiinflamatorio o una mezcla de los mismos.

65

[0039] El contenido en peso de capsaicina en la composición según la invención va del 0,01 al 0,1%, preferiblemente del 0,025 al 0,075%.

5 [0040] Ejemplos de extractos de arándano incluyen los descritos en el documento WO 2011/020957, en particular, los comercializados por Tournay Biotechnologies bajo la referencia Exocyan CRAN 20S.

[0041] El contenido en peso en la composición según la invención de extracto de arándano es del 5 al 40%.

10 [0042] Además, la composición según la invención también puede comprender un ingrediente alimentario.

[0043] Ventajosamente, el ingrediente alimentario es la piperina.

[0044] La piperina pueden derivarse de diferentes fuentes, tales como hongos o pimienta negra, blanca o gris.

15 [0045] Ventajosamente, la piperina deriva de la pimienta negra, blanca o gris, preferiblemente de la pimienta negra. Los ejemplos incluyen extracto seco de pimienta negra comercializado por Plantex que comprende del 10 al 15% de piperina.

20 [0046] Sin desear quedar ligado a ninguna teoría particular, la piperina es capaz de promover la absorción y la biodisponibilidad de los compuestos activos presentes en la composición, según la invención, en particular malvidin-3-O- β -glucósido, ácido cafeico o uno de sus ésteres, ácido ferúlico, galangina y/o pinocebrina, mejorando así la eficacia antiinflamatoria de la composición según la invención.

25 [0047] Según la invención, el contenido en peso de la piperina en la composición según la invención es del 0,01 al 4%, preferiblemente del 0,1 al 1%.

[0048] El ingrediente alimenticio puede también seleccionarse del grupo que consiste en zinc y sus derivados.

30 [0049] Según la invención, los derivados de zinc se pueden seleccionar entre sales de zinc, tales como citrato de zinc, óxido de zinc, sulfato de zinc, acetato de zinc o gluconato de zinc.

[0050] Ventajosamente, la sal de zinc es sulfato de zinc.

35 [0051] Según la invención, el contenido en peso de zinc o un derivado del mismo en la composición según la invención es del 0,01 al 2%, preferiblemente del 0,1 al 1,5%.

[0052] Otro aspecto de la invención se refiere a la preparación de una composición según la invención, que comprende

40 (i) preparar un extracto vegetal que comprende al menos el 5% en peso, preferiblemente del 5 al 20% en peso, ventajosamente del 5 al 15% en peso, de malvidin-3-O- β -glucósido, (ii) mezclar el extracto de (i) y un extracto de propóleo.

[0053] Ventajosamente, la invención se refiere a la preparación de una composición según la invención, que comprende:

45 (i) preparar un extracto de cutícula de uva obtenido mediante la selección de al menos un orujo de uva roja y concentrar las fracciones de polifenol de dicho orujo, y (ii) mezclar el extracto de (i) y un extracto de propóleo.

[0054] Ventajosamente, la invención se refiere a la preparación de una composición, según la invención, que comprende:

50 (i) preparar un extracto de cutícula de uva obtenido mediante la selección de al menos un orujo de uva roja y concentrar las fracciones de polifenol de dicho orujo, comprendiendo dicho extracto de cutícula de uva al menos el 5% en peso, preferiblemente del 5 al 20% en peso, ventajosamente del 5 al 15% en peso de malvidin-3-O- β -glucósido, y 55 (ii) mezclar el extracto de (i) y un extracto de propóleo.

[0055] Todas las diferentes características o preferencias de la composición según la invención que se presentan para el extracto de cutícula de uva y el extracto de propóleo, así como lo relativo a su contenido, también se aplican al procedimiento según la invención.

60 [0056] La composición de la invención puede estar en forma sólida o líquida.

[0057] En una realización particular, la invención proporciona un kit que comprende:

65 (a) una primera composición que comprende un extracto vegetal, (b) una segunda composición que comprende un extracto de propóleo.

[0058] Todas las diferentes características o preferencias de la composición según la invención presentadas en el extracto vegetal (a) y el extracto de propóleo (b) y lo relacionado con su contenido también se aplican a un kit de acuerdo la invención.

5 [0059] Otro aspecto de la presente invención se refiere a un complemento alimenticio que comprende una composición según la invención.

[0060] En una realización, el complemento alimenticio puede reducir, tratar y/o prevenir enfermedades inflamatorias agudas o crónicas.

10 [0061] La enfermedad inflamatoria aguda o crónica es cualquier enfermedad o trastorno que implica procesos inflamatorios agudos o crónicos.

15 [0062] Se conocen muchas enfermedades humanas que implican inflamación, en particular la artritis; artritis reumatoide; lupus eritematoso, en particular sistémico; tiroiditis de Hashimoto; esclerosis múltiple, en particular esclerosis en placas; diabetes, en particular diabetes autoinmune; uveítis; dermatitis; psoriasis; urticaria; síndrome nefrótico inflamatorio; glomerulonefritis; enfermedad inflamatoria del colon; colitis ulcerosa; enfermedad celíaca; enfermedad de Crohn; síndrome de Sjogren; alergias; asma; asma alérgica; rinitis; eczema; endometriosis; enfermedades relacionadas con el trasplante de órganos o con reacciones injerto contra huésped; enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC); bronquitis, en particular, bronquitis crónica; enfermedad de Parkinson; enfermedad de Alzheimer o enfermedades cutáneas inflamatorias.

20 [0063] En una realización preferida, el complemento alimenticio según la invención es para el tratamiento y/o prevención de la artritis.

25 [0064] El complemento alimenticio puede comprender además un excipiente o un vehículo inerte, no tóxico, por ejemplo, seleccionado entre los agentes gelificantes de origen vegetal, preferiblemente gelatina.

30 [0065] Como excipiente inerte, se pueden mencionar azúcares, tales como lactosa o fructosa, celulosa, carbonato de calcio, fosfato tricálcico, fosfato de magnesio, estearato de calcio, estearato de magnesio, talco, sílice coloidal o amorfo.

35 [0066] El complemento alimenticio también puede comprender un compuesto seleccionado del grupo que consiste en polioles, tales como glicerol o sorbitol; colorantes; edulcorantes, tales como la sucralosa o activos aromáticos, tales como etil vanilina o mentol.

40 [0067] El complemento alimenticio según la invención puede estar en forma de polvo, cápsulas de gelatina, cápsulas, goma de mascar, gránulos, gránulos, pastilla, píldoras, pastillas de chupar, comprimidos oblongos o comprimidos. La aplicación galénica se lleva a cabo bajo condiciones de temperatura y presión que respeten la integridad de los ingredientes utilizados y la bioactividad de los principios activos.

45 [0068] En el caso en que la composición según la invención esté en forma de un complemento alimenticio, se administra una dosis efectiva diaria, llama Cantidad Diaria Recomendada (CDR) de la composición de la invención. Por CDR se entiende una dosis de la composición según la invención consumida durante un período de 24 horas.

[0069] Por CDR se entiende en particular una cantidad de composición según la invención que comprende entre 100 y 400 mg de extracto de vegetal y entre 250 y 1000 mg de extracto de propóleo.

50 [0070] La dosis de administración del complemento alimentario, por ejemplo en forma de cápsulas de gelatina, puede variar de 2 a 8 cápsulas de gelatina al día, dependiendo de la naturaleza y gravedad de la inflamación, a repetir si es necesario.

55 [0071] Otro aspecto de la presente invención se refiere a una composición para uso tópico que comprende una composición según la invención para el tratamiento y/o prevención de enfermedades inflamatorias agudas o crónicas, en particular para el tratamiento y/o prevención de artritis.

60 [0072] La composición para uso tópico puede estar en forma de una emulsión de agua-en-aceite, de aceite en agua, de agua-en-aceite en agua, de aceite-en-agua en aceite o una formulación anhidra. La composición puede estar en una forma galénica para uso externo como una crema, pomada o gel.

[0073] Según la invención, la composición para uso tópico se aplica por extensión sobre las regiones de la piel que presentan inflamación.

[0074] Otro aspecto de la presente invención también se refiere a un medicamento que comprende una composición según la invención para el tratamiento y/o prevención de enfermedades inflamatorias agudas o crónicas, en particular para el tratamiento y/o prevención de la artritis.

5 [0075] La invención por lo tanto también se refiere al uso de la composición según la invención para proceder, completar y/o seguir un tratamiento terapéutico o preventivo antiinflamatorio. Esto significa que el médico practicante prescribe al paciente en necesidad del mismo consumir el complemento alimenticio o medicamento o aplicar la composición de uso tópico según la invención en el transcurso del tratamiento antes, durante y/o después de la realización de un tratamiento antiinflamatorio.

10

[0076] Otro aspecto de la presente invención se refiere a un kit que comprende:
- una primera composición que comprende un extracto vegetal (a) y un extracto de propóleo (b)
- una segunda composición que comprende un agente antiinflamatorio.

15 [0077] Todas las diferentes características o preferencias de la composición según la invención mostradas en el extracto vegetal (a) y el extracto de propóleo (b) y lo relativo a su contenido y su proporción también se aplican al kit según la invención.

20 [0078] Los agentes anti-inflamatorios utilizados en el kit de la invención pueden seleccionarse entre agentes antiinflamatorios esteroideos o no esteroideos.

[0079] Los diversos aspectos de la invención se comprenderán mejor tras la lectura de los siguientes ejemplos. Estos ejemplos son a título indicativo, sin carácter limitativo.

25 **Ejemplo 1: Producción de un extracto de cutícula de uva**

[0080] Después de seleccionar un orujo de uva roja a partir de uvas de las cepas de Merlot, Cabernet y Syrah, se procede a una difusión en presencia de una dispersión acuosa de dióxido de azufre.

30 [0081] A continuación, se aplica una centrifugación con una gravedad entre 7.000 y 7.500G y un tiempo de residencia que va de 10 a 20 s al producto así obtenido.

[0082] Al final de esta centrifugación, los polifenoles se concentran en el producto por evaporación, el producto así obtenido se caracteriza por un contenido de sólidos que varía de 30 a 35%.

35

[0083] Se procede a continuación con una concentración a vacío despresurizado a 50 mbar absoluto, el concentrado así obtenido se caracteriza por un contenido de materia seca superior o igual al 35%.

40 [0084] El concentrado así obtenido se deshidrata a continuación por atomización; el concentrado se pulveriza de este modo en aire caliente, ligeramente presurizado.

[0085] El producto así obtenido está en forma de un polvo que se caracteriza por un contenido de malvidin-3-O-β-glucósido igual al 10% en peso y una humedad relativa por debajo del 10%.

45 **Ejemplo 2: Producción de un extracto de propóleo**

[0086] Después de la recogida del propóleo crudo, éste último se pone en solución hidroalcohólica, se filtra, se concentró al vacío y a continuación se pasteuriza. A continuación, se mezcla con polvo de algarroba como portador y a continuación se aplica una etapa de secado mediante atomización ("secado por pulverización") a la mezcla, a continuación dicha mezcla se tamiza. El extracto de propóleo así obtenido está en forma de un polvo que contiene 60% de propóleo activo.

50

[0087] El extracto de propóleo se caracteriza por un contenido promedio en peso de ácido cafeico igual al 0,05%, ácido ferúlico igual al 0,001%, de galangina igual al 1,6% y de pinocembrina igual al 1%.

55

Ejemplo 3: Complemento alimenticio en forma de cápsula de gelatina que comprende una composición según la invención

[0088]

60

- Extracto de cutícula de uva ⁽¹⁾	0,100 g
- Extracto de propóleo ⁽²⁾	0,200 g

(1) Anthos-vin comercializado por la sociedad Grap'Sud

(2) Propóleos comercializados por la sociedad Plantex

[0089] La composición según el Ejemplo 3 está en forma de polvo y se envasa en cápsulas de gelatina y la dosis de uso es de 2 a 4 cápsulas al día, a repetir según se desee.

5 **Ejemplos 4 y 5: complementos alimenticios en forma de cápsulas de gelatina que comprenden una composición según la invención**

[0090]

	Ejemplo 4	Ejemplo 5
Extracto de cutícula de uva ⁽¹⁾	0,1 g	0,05 g
Extracto de propóleo ⁽²⁾	0,25 g	0,125 g
Gelatina vegetal	0,094 g	0,094 g
Estearato de magnesio	0,01 g	0,01 g
Mentol al 1/11	0,01 g	0,01 g
Etilvanilina	0,01 g	0,01 g
Sílice amorfa precipitada	3,81 g	3,81 g
(1) Anthos-vin comercializado por la sociedad Grap'Sud		
(2) Propóleos comercializados por la sociedad Plantex		

10 **[0091]** La composición según el Ejemplo 4 está en forma de polvo y se envasa en cápsulas de gelatina.

[0092] La dosis de uso es de 2 a 6 cápsulas de gelatina por día, a renovar si es necesario.

15 **[0093]** La composición según el Ejemplo 5 está en forma de polvo y se envasa en cápsulas de gelatina.

[0094] La dosificación del tratamiento inmediato es de 4 cápsulas de gelatina cada 12 horas durante las primeras 48 horas, después 2 cápsulas de gelatina cada 12 horas durante las siguientes 48 horas, y si es necesario, de 1 a 2 cápsulas de gelatina cada 12 horas durante las siguientes 48 horas.

20 **[0095]** La dosificación del tratamiento preventivo es de 1 a 2 cápsulas de gelatina, a renovar si es necesario.

Ejemplos 6, 7 y 8: complementos alimenticios en forma de cápsulas de gelatina que comprenden una composición según la invención

25 **[0096]**

	Ejemplo 6	Ejemplo 7	Ejemplo 8
Extracto de cutícula de uva ⁽¹⁾	0,125 g	0,125 g	0,125 g
Extracto de propóleo ⁽²⁾	0,150 g	0,150 g	0,150 g
Extracto de pimienta negra ⁽³⁾	0,020 g		
Sulfato de zinc	0,006 g		0,006 g
Excipientes	CSP	CSP	CSP
(1) Anthos-vin comercializado por la sociedad Grap'Sud			
(2) Propóleos comercializados por la sociedad Plantex			
(3) Extracto de pimienta negra al 10% de piperina comercializada por Plantex			

30 **[0097]** Las composiciones según los Ejemplos 6, 7 y 8 están en forma de polvo y se envasan en cápsulas de gelatina.

[0098] Su dosis de uso en tratamiento preventivo es de 2 cápsulas de gelatina al día durante 30 días, a renovar si es necesario.

35 **[0099]** Su dosis de uso en tratamiento inmediato es de 2 cápsulas de gelatina cada 12 horas durante 5 días.

Ejemplo 9: Composición tópica en forma de gel que comprende una composición según la invención

[0100]

solución hidroalcohólica de un extracto de cutícula de uva ⁽¹⁾	5-10%
solución hidroalcohólica de un extracto de propóleo ⁽²⁾	2-4%
agentes de hidratación	0,1-10%
agentes gelificantes	0,5-20%

agua purificada + conservantes	csp
1) Anthos-vin comercializado por la sociedad Grap'Sud 2) Propóleos comercializados por la sociedad Plantex	

[0101] La composición se prepara mediante la mezcla de soluciones hidroalcohólicas de extracto de cutícula de uva y extracto de propóleo, seguido de la adición de agentes gelificantes y de hidratación y, finalmente, la adición de agua y conservantes para obtener la textura deseada.

[0102] La dosis de aplicación es de 1 a 4 aplicaciones por día, a renovar si es necesario.

Ejemplo 10: Estudio de la toxicidad hematológica de los extractos de cutícula de uva, de propóleo y de un extracto de arándano como compuesto activo adicional

[0103] Este estudio pretende mostrar que los diferentes extractos se pueden incorporar en una composición según la invención sin tener ningún efecto tóxico sobre las células humanas.

[0104] Se realizaron cultivos celulares y ensayos de citocinas.

[0105] Los tres extractos evaluados son:

- extracto de cutícula de uva (Anthos-vino), resuspendido a 331 mg/ml en etanol al 100%,
- extracto de propóleo resuspendido a 500 mg/ml en etanol al 70%,
- extracto de arándano resuspendido a 50 mg/ml en metanol al 90%.

[0106] Se aislaron células mononucleares humanas de sangre periférica de 3 donantes sanos diferentes. La técnica utilizada fue el aislamiento en un gradiente de Ficoll. Entre el plasma y Ficoll se establece un anillo celular que consiste en monocitos y linfocitos. Los últimos se recuperan y se lavan en PBS (solución salina tamponada con fosfato) para contar en una Célula de Malassez.

[0107] Las células mononucleares de la sangre (PBMC, células mononucleares de sangre periférica) se cultivan (10^6 /ml) en una cantidad de 10^5 células por pocillo en una placa de 96 pocillos para ensayos de hematotoxicidad en medio RPMI (Roswell Park Memorial Institute) suplementado con 10% de suero de ternera fetal FCS descomplementado y antibióticos para prevenir la infección bacteriana: penicilina (100 UI/ml) y estreptavidina (100 µg/ml).

[0108] El ensayo de proliferación celular con MTS (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfopenil)-2H-tetrazolio) es un procedimiento colorimétrico para determinar el número de células viables en proliferación. La prueba utiliza la transformación de MTS en formazán (producto de color) que es soluble en el medio de cultivo celular. La absorbancia del formazán se puede leer directamente a 490 nm mediante un espectrofotómetro. La reducción de MTS en formazán soluble se induce por deshidrogenasas que participan en el metabolismo de las células activadas.

[0109] Se cultivan PBMC en una cantidad de 10^5 células por pocillo de placas de 96 pocillos en condiciones en reposo (células sin tratar) o en condiciones proliferativas (en presencia de Bacto-fitohemaglutinina P (PHA, Difco) a 0,5 µg/ml). La PHA tiene actividad mitótica en los linfocitos T e induce su proliferación.

[0110] Los extractos fueron probados en PBMC de dos donantes diferentes, por cuadruplicado, a diferentes concentraciones: 8, 17, 33 y 66 µg/ml para Anthos-vin; y 5, 20, 50 y 100 µg/ml para propóleo y arándano, en comparación con PBMC en la que no se probó ningún extracto.

[0111] Ninguno de los tres extractos mostraron citotoxicidad sobre las células hematopoyéticas de dos donantes en un cultivo, a pesar de que se ensayaron a concentraciones de hasta 200 µg/ml para los extractos de propóleo y arándano, y 66 µg/ml para el extracto de cutícula de uva.

[0112] No se observó toxicidad en las composiciones que combinan el extracto de cutícula de uva y el extracto de propóleo, o en aquellos que combinan extracto de cutícula de uva, extracto de propóleo y extracto de arándano.

Ejemplo 11: Estudio de la actividad antiinflamatoria in vitro de una composición según la invención.

[0113] Este estudio pretende demostrar la actividad antiinflamatorias in vitro en composiciones de la invención, una primera composición que combina extracto de cutícula de uva (Anthos-vin) y extracto de propóleo y una segunda que combina extracto de cutícula de uva (Anthos-vin), extracto de propóleo y extracto de arándano.

[0114] Se realizaron cultivos de células y ensayos de citocinas.

[0115] Se ensayaron las siguientes composiciones:

Composiciones según la invención:

[0116]

- 5 - una composición que comprende 8 µg/ml de Anthos-vin y 25 µg/ml de extracto de propóleo,
 - una composición que comprende 16 µg/ml de Anthos-vin y 50 µg/ml de extracto de propóleo,
 - una composición que comprende 33 µg/ml de Anthos-vin y 100 µg/ml de extracto de propóleo,
 - una composición que comprende 8 µg/ml de Anthos-vin, 25 µg/ml de extracto de propóleo y 25 µg/ml de extracto de arándano,
 10 - una composición que comprende 16 µg/ml de Anthos-vin, 50 µg/ml de extracto de propóleo y 50 µg/ml de extracto de arándano,
 - una composición que comprende 33 µg/ml de Anthos-vin, 100 µg/ml de extracto de propóleo y 100 µg/ml de extracto de arándano,

15 Composiciones de referencia:

[0117]

- una composición que comprende 8 µg/ml de Anthos-vin,
 - una composición que comprende 16 µg/ml de Anthos-vin,
 20 - una composición que comprende 33 µg/ml de Anthos-vin,
 - una composición que comprende 25 µg/ml de extracto de propóleo,
 - una composición que comprende 50 µg/ml de extracto de propóleo,
 - una composición que comprende 100 µg/ml de extracto de propóleo,
 - una composición que comprende 25 µg/ml de extracto de arándano,
 25 - una composición que comprende 50 µg/ml de extracto de arándano,
 - una composición que comprende 100 µg/ml de extracto de arándano,

[0118] Se aislaron PBMC de sangre periférica de 3 donantes sanos diferentes. La técnica utilizada fue el aislamiento en un gradiente de Ficoll. Entre el plasma y Ficoll se establece un anillo celular que consiste en monocitos y linfocitos. Los últimos se recuperan y se lavan en PBS para contar en una Célula de Malassez.

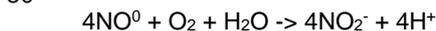
[0119] Los macrófagos de las ratas se aislaron por lavado en PBS del peritoneo del animal, centrifugación del mismo y lavado en PBS para contar en la Célula de Malassez.

35 **[0120]** Las PBMC se cultivaron (10^6 /ml) en una cantidad de $5 \cdot 10^5$ células por pocillo en una placa de 24 pocillos en medio RPMI suplementado con 10% de FCS descomplementado y antibióticos: penicilina (100 UI/ml) y estreptavidina (100 µg/ml).

40 **[0121]** Los macrófagos de rata se cultivaron (10^6 /ml) en una cantidad de $5 \cdot 10^5$ células por pocillo en una placa de 24 pocillos en medio RPMI suplementado con 10% de FCS descomplementado y antibióticos: penicilina (100 UI/ml) y estreptavidina (100 µg/ml).

45 **[0122]** para inducir una reacción inflamatoria en las PBMC y los macrófagos de rata, las células se incuban en presencia de LPS (lipopolisacárido bacteriano, un producto proinflamatorio) en una cantidad de 10 µg/ml durante 48 h.

[0123] Determinación de NO: después de 48 h de cultivo de macrófagos peritoneales de rata, se muestrearon los sobrenadantes. NO tiene una alta reactividad química. En presencia de agua, este radical libre se oxida rápidamente de una manera estequiométricamente y de este modo forma iones nitrito (NO_2^-) según la reacción:



[0124] Los nitritos se acumulan en el medio y son fácilmente detectables químicamente por el procedimiento de Griess (Kolb et al., 1994):

- 55 Griess A: sulfanilamida al 1% en HCl 1,2 N,
 Griess B: diclorhidrato de dinaftilendiamina al 0,3% en agua destilada

60 **[0125]** A 60 µl de Griess A y 60 µl de Griess B, se añadieron 50 µl de sobrenadante de cultivo a ensayar. La reacción colorimétrica se reveló lejos de la luz durante 10 min. Las densidades ópticas obtenidas a 540 nm se corrigieron por sustracción de la DO obtenida en pocillos que contenían medio de cultivo solo.

[0126] Ensayo de los mediadores de la inflamación: 48 h después de la activación por LPS de las PBMC, se muestrearon 25 µl de sobrenadante celular y se ensayaron inmediatamente para la determinación de citocinas pro- y anti-inflamatorias mediante la técnica FlowCytomix.

65

[0127] El FlowCytomix humano es un sistema de inmunoensayo con microesferas fluorescentes para la detección cuantitativa por citometría de flujo de interferón- γ , interleucina-1 β , interleucina-2, interleucina-4, interleucina-5, interleucina-6, interleucina-8, interleucina-10, interleucina-12p70 y el factor α y β de necrosis tumoral en los sobrenadantes de cultivo.

5 [0128] Las microesferas se recubrieron con anticuerpos dirigidos específicamente contra cada citocina detectados por el sistema multiplex. Las microesferas pueden ser diferenciadas por su tamaño y su emisión espectral. Una mezcla de cada microesfera recubierta para cada citocina se incubó con la muestra o el intervalo de patrón. Las citocinas presentes en la muestra se unen al anticuerpo unido a la microesfera fluorescente. Un segundo anticuerpo acoplado a la biotina se añadió a la mezcla, este anticuerpo específico se une a la citocina capturada por el primer anticuerpo.

[0129] Se añadió estreptavidina-ficoeritrina, se une al conjugado de biotina y emite una señal fluorescente.

15 [0130] Ensayo de la prostaglandina E₂: Las rutas de transducción de la señal de los eicosanoides son altamente conservadas y están implicadas en muchos procesos fisiopatológicos. Las prostaglandinas se sintetizan a partir del ácido araquidónico por las ciclooxigenasas (COX-1 y COX-2), que convierte el ácido en prostaglandina H₂ (PGH₂). Esta última se transforma a continuación por prostaglandina sintasas microsomales o citosólicas en prostaglandinas E₂ (PGE₂) o en varios otros prostanoides.

20 [0131] La PGE₂ se produce por una amplia variedad de tejidos y en muchas afecciones patofisiológicas, incluyendo inflamación, artritis, fiebre, tejido dañado, endometriosis y muchos tipos de cáncer.

25 [0132] La PGE₂ se ensayó en los sobrenadantes de cultivo usando un kit de ensayo ELISA (Tebu-Bio, Le Parray en Yvelines, Francia).

[0133] Cuarenta y ocho horas después de la activación por LPS de PBMC, se muestrean 100 μ l de sobrenadante celular y se ensayan inmediatamente para la determinación de PGE₂.

30 [0134] La Tabla 1 presenta los resultados obtenidos y muestra los efectos de diferentes composiciones sobre la tasa de mediadores proinflamatorios.

Tabla 1

Compuesto	μ g/ml	TNF- α *	IL-1 β	IL-6	PGE2	IL-10	IL-8	IFN- γ	NO
Anthos-vin	8	72	70	67	--	0	51	0	0
	16	66	70	67	--	5	66	0	0
	33	63	72	69	--	41	69	39	0
Extracto de propóleo	25	16	32	27	--	50	3	100	15
	50	55	52	55	--	100	2	100	55
	100	97	87	92	--	100	27	94	90
Extracto de arándanos	25	15	5	7	--	0	6	5	0
	50	20	4	0	--	0	6	0	0
	100	31	9	0	--	0	11	16	0
Anthos-vin + extracto de propóleo	8 + 25	0	75	34	40	71	11	--	--
	16 + 50	50	92	82	64	94	0	--	--
	33 + 100	73	98	98	94	100	39	--	--
Anthos-vin + extracto de propóleo + extracto de arándanos	8 + 25 + 25	0	76	72	61	98	0	94	--
	16 + 50 + 50	100	99	97	76	100	0	100	--
	33 + 100 + 100	95	99	99	82	100	41	89	--

*Porcentaje de inhibición en relación con las células activadas en ausencia de extractos

35 [0135] Estos resultados muestran que la composición según la invención que asocian Anthos-vin y propóleo tiene un efecto antiinflamatorio mejor en general las que comprenden Anthos-vin o propóleo solos.

- 5 **[0136]** Estos resultados también muestran que la composición según la invención que asocian Anthos-vin, propóleo y arándano tiene una acción significativa contra TNF- α e IFN- γ , mientras que arándano solo tiene poco interés para una acción antiinflamatoria.
- 10 **[0137]** Para confirmar estos resultados, se ensayó una composición según la invención que comprendía (33 μg de Anthos-vin + 100 μg de extracto de propóleo)/ml en la transcripción de genes que codifican moléculas inflamatorias en el hombre.
- 15 **[0138]** Se realizaron cultivos de células y ensayos de citocinas.
- [0139]** Se aislaron células mononucleares humanas de sangre periférica de un donante. La técnica utilizada fue el aislamiento en gradiente de Ficoll. Entre el plasma y Ficoll, se estableció un anillo celular compuesto de monocitos y linfocitos. Este se recogió y se lavó en PBS para una Célula de Malassez.
- 20 **[0140]** Se cultivaron PBMC ($10^6/\text{ml}$) en una cantidad de $1,10^7$ células por pocillo en una placa de 6 pocillos, en medio RPMI complementado con 10% de FCS descomplementado y antibióticos: penicilina (100 UI/ml) y estreptavidina (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$).
- [0141]** Se indujo una reacción inflamatoria en PBMC. Rápidamente, se incubaron las células en presencia de LPS.
- [0142]** La PCR cuantitativa permite un perfilado 84 genes clave.
- 25 **[0143]** A nivel inflamatorio, la PCR a tiempo real permite medir la expresión génica de 84 genes que representan los principales mediadores fármacos pro-/anti-inflamatorios (quimiocinas, receptores de quimiocinas, citocinas, receptores de citocinas y genes relacionados con el patrón inflamatorio), pero también los implicados en la transducción de señales, la apoptosis y el ciclo celular. Usando PCR en tiempo real, es posible analizar la expresión de un panel específico de genes relacionados con la reacción inflamatoria.
- 30 **[0144]** Los genes diana se enumeran a continuación:
- Moléculas de los grupos de transducción: FOS, HSF1, HSP90AA2, HSP90AB1, HSPB1, JUN, IKBKB, MYC, NFKB1, NOX5, STAT1, STAT3, TANK;
 - Moléculas que participan en las rutas de apoptosis: BAD, BAX, BCL2, CASP10, CASP3, CASP9, TP53;
 - Moléculas de adhesión: ICAM1, ITGAX, SELE, SELPLG, VCAM1;
 - 35 - Moléculas del ciclo celular: CCNC, CCND1, CDKN1B, CDKN2B, MAP2K1, MAPK1, MAPK11;
 - Quimiocinas y citocinas: CCL3 (MIP-1a), CCL20 (MIP-3a), CXCL9, CXCL10 (IP-10), CXCL11 (I-TAC/IP-9), IFNA2, IFR1, IL10, IL17C, IL1A, IL-1B, IL2, IL22, IL4, IL6, IL8, LTA, LTB, MIF, TGFB2, TGFB3;
 - Receptores de citocina: IL-1RN;
 - Ligandos de TNF y receptores de: CD40LG, FAS, FASLG, LTA (LT-a), LTB (LT-b), TNF (TNF-a), TNFRSF1 A (TNFR1), TNFRSF10A TNFRSF10B.
- 40 **[0145]** Otros factores que intervienen en la respuesta inflamatoria: C3, CAT, CRP, CYP1A1, CYP2E1, CYP7A1, GPX1, ICEBERG, MMP1, MMP10, MMP3, MMP7, NOS, NOS2A, NOS3, PRKCA, SOD1 SOD2.
- 45 **[0146]** El ARN total de las células se extrajo usando un kit de extracción (Qiagen, Francia). Este ARN fue cualitativamente y cuantitativamente analizado para verificar la integridad de este material. Se colocó una muestra de ARN en gel de agarosa al 1% a 80V para migración con el fin de verificar la presencia de ARN 28S y 16S ribosomal, ARN de transferencia y ARN mensajero (medición cualitativa).
- 50 **[0147]** Además, este ARN se ensayó a 230 nm, 260 nm y 280 nm para cuantificar y verificar la ausencia de contaminantes proteicos.
- [0148]** Se utilizó 1 μg de ARN para la PCR en tiempo real. Mediante un kit (eBioscience, Francia), el ARN se transcribió de forma inversa en ADNc y a continuación se amplificó por PCR. Simultáneamente con la amplificación, el uso de una sonda fluorescente (Sybergreen) permitió medir en tiempo real la integración de las bases del genoma. Todos los resultados se analizaron usando el software apropiado.
- 55 **[0149]** Por otra parte, es necesario el uso de un instrumento PCT de tiempo real (Stratagene MX3000P).
- 60 **[0150]** La Tabla 2 a continuación muestra los principales cambios significativos en la transcripción de genes proinflamatorios en las células incubadas con la composición según la invención en comparación con las células no tratadas

Tabla 2

65

Genes	Nombres	Regulado por incremento	Regulado por disminución
IL1B	interleucina 1, beta		-116,81
IL1A	interleucina 1, alfa		-57,20
C3	componente de complemento 3		-45,82
IL6	interleucina 6 (interferón, beta 2)		-40,73
CCL3	ligando 3 de quimiocina (unidad C-C)		-21,53
IL1RN	antagonista de receptor de interleucina 1		-18,74
IL8	interleucina 8		-5,23
TGFB2	factor de crecimiento transformante, beta 2	+17,78	
HSP90AA2	proteína de choque térmico de 90 kDa alfa (citósólica), miembro 2 de la clase A	+12,75	
HSPB1	proteína 1 de choque térmico de 27 kDa	+11,41	
HSP90AB1	proteína de choque térmico de 90 kDa alfa (citósólica), miembro 1 de la clase B	+8,77	
TNF	factor de necrosistumoral (superfamilia de TNF, miembro 2)	+8,47	
BAX	proteína X asociada a BCL-2	+6,24	
IFNA2	interferón, alfa 2	+5,99	
SOD1	superóxido dismutasa 1, soluble (esclerosis lateral amiotrófica 1 (adulto))	+5,00	
BCL2	CLL/linfoma 2 de células B	+3,19	
IL2	interleucina 2	+3,49	

[0151] Los resultados muestran que los genes relacionados con la inflamación son en su mayoría inhibidos (IL-1, C3, IL-6 y IL-8).

5 [0152] Además, en presencia de una composición según la invención, aumenta la transcripción de TGFβ2 y de interferón-α, que son dos moléculas bien conocidas por su acción antiinflamatoria.

10 [0153] Además, los resultados también muestran que el ARN que codifica las proteínas de protección de las células (HSP, DAX, BCL-2, SOD1) se incrementa, lo que confirma la ausencia de toxicidad de la composición según la invención en las células humanas.

Ejemplo 12: Estudio de la actividad antiinflamatoria *in vivo* de una composición según la invención.

15 [0154] Este estudio se realizó con el objetivo de confirmar los resultados del estudio *in vitro*. Para esto, se ensayaron varias composiciones *in vivo* según la invención en el modelo de rata artrítica. Este modelo consiste en el desarrollo de un ataque de inflamación crónica en ratas jóvenes mediante la inyección de antígeno bacteriano. Este modelo tiene la ventaja de tener muchas similitudes con los síntomas de la poliartritis reumatoide en seres humanos: simetría en las articulaciones implicadas, articulaciones periféricas que están afectadas preferentemente, hiperplasia sinovial, infiltración de células inflamatorias, erosión marginal y mayor susceptibilidad a la enfermedad en las mujeres. A diferencia de la poliartritis reumatoide humana, no se detectan trazas de factores reumatoides en el suero.

20 [0155] Cabe señalar que la afección inflamatoria de las ratas es muy avanzado (en comparación con los seres humanos) y requiere dosis terapéuticas 10-20 veces mayor que las utilizadas en los seres humanos (ensayos llevados a cabo con corticoterapia), especialmente por la vía oral.

25 [0156] Se inmunizaron ratas de Lewis hembras de seis semanas de vida mediante inyección intradérmica en la base de la cola, de 60 mg de *Mycobacterium butyricum* muerto por calor y emulsionado en una solución oleosa.

[0157] En J + 7, se realizó una segunda inmunización en las mismas condiciones. Los primeros signos clínicos aparecen en J + 14.

5 [0158] Las ratas desarrollan rápidamente artritis en las articulaciones periféricas (principalmente las patas traseras) con una fuerte reacción inflamatoria en la cavidad sinovial expresada por una cuasiparálisis de la articulación pertinente y una erosión destructiva de tejido óseo. Como en muchos modelos de enfermedad, el animal se somete a una pérdida fuerte de peso.

10 [0159] Los síntomas inflamatorios se miden utilizando una puntuación clínica preestablecida y se resumen en la Tabla 3

Tabla 3

Puntuación clínica	Síntomas
Puntuación 0	Sin pata inflamatoria
Puntuación 1	Inflamación/parálisis de una pata
Puntuación 2	Inflamación/parálisis de dos patas
Puntuación 3	Inflamación/parálisis de tres patas
Puntuación 4	Inflamación/parálisis de cuatro patas

15 [0160] Durante siete días antes de la primera inmunización con *Mycobacterium butyricum*, las ratas se separan en varios grupos:

Grupo 1: control negativo, ratas sanas;

Grupo 2: control positivo, ratas con artritis experimental sin tratamiento;

20 Grupo 3: ratas artríticas que reciben 5 dosis (una cada 2 días) de una composición según la invención que comprende 30 mg de Anthos-vin y 100 mg de extracto de propóleo por kg de animal por dosis, desde el primer día del inicio de los síntomas;

Grupo 4: ratas artríticas que reciben continuamente cada 2 días una dosis de una composición según la invención que comprende 30 mg de Anthos-vin y 100 mg de extracto de propóleo por kg de animal por dosis, desde el primer día de los síntomas y hasta el final del estudio (J + 50);

25 Grupo 5: ratas artríticas que reciben 5 dosis (una cada 2 días) de una composición según la invención que comprende 150 mg de Anthos-vin y 500 mg de extracto de propóleo por kg de animal por dosis, desde el primer día del inicio de los síntomas;

30 Grupo 6: ratas artríticas que reciben continuamente cada 2 días una dosis de una composición según la invención que comprende 150 mg de Anthos-vin y 500 mg de extracto de propóleo por kg de animal por dosis, desde el primer día de los síntomas y hasta el final del estudio (J + 50);

[0161] Desde el inicio de los síntomas, las ratas de los grupos 3, 4, 5 y 6 se suministran el tratamiento por vía oral (alimentación forzada) cada 2 días, es decir, durante 10 días (Grupo 3 y 5) o continuamente (Grupo 4 y 6).

35 [0162] Se pesaron diariamente y se anotó la puntuación clínica.

[0163] Los resultados de este estudio se presentan en las Tablas 4 y 5.

Tabla 4

40

Grupo de ratas	Puntuación acumulada promedio
Grupo 2	82
Grupo 3	39
Grupo 4	6
Grupo 5	62
Grupo 6	37

[0164] Todas las ratas tratadas con una de las composiciones según la invención tiene puntuaciones clínicas significativamente más bajas en comparación con las ratas no tratadas.

45 [0165] Las composiciones según la invención reducen en gran medida la gravedad de los síntomas de la enfermedad. El número de patas afectadas y la inflamación de éstas se reducen considerablemente.

[0166] Cabe señalar que las ratas que recibieron dosis moderadas de forma continua (grupos 4 y 6) muestran una mejor respuesta en comparación con otras ratas suministradas con 5 dosis (Grupos 3 y 5).

50

[0167] Por otra parte, no se observó toxicidad aparente en las ratas en los grupos 3, 4, 5 y 6 (sin sangrado, náuseas, diarrea, pérdida de apetito).

Tabla 5

Grupo o grupos de ratas	Puntuación acumulada (después de 50 días)
Grupo 2	327
Grupo 3 + grupo 4	111
Grupo 5 + grupo 6	208

5 **[0168]** Estos resultados confirman que las composiciones según la invención ensayadas permiten disminuir muy significativamente la importancia de signos patológicos.

REIVINDICACIONES

1. Composición antiinflamatoria, que comprende:
 - a. un extracto vegetal que comprende al menos 5% en peso, preferiblemente de 5 a 20% en peso, ventajosamente de 5 a 15% en peso, de malvidin-3-O- β -glucósido; y
 - b. un extracto de propóleo que comprende ácido cafeico o uno de sus ésteres, ácido ferúlico, galangina y pinocembrina;
 y una proporción en peso a/b de extracto vegetal/extracto de propóleo que va de 1/4 a 4/1.
2. Composición, según la reivindicación 1, que está en forma sólida o forma líquida o para la que el extracto vegetal es un extracto de cutícula de uva, obtenida o que se puede obtener mediante un procedimiento que comprende la concentración de fracciones polifenólicas de al menos un orujo de uva roja.
3. Composición, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende:
 - del 0,1 al 50% en peso, preferiblemente del 1 al 40% en peso, de un extracto vegetal, o
 - del 20 al 80% en peso, preferiblemente del 30 al 70% en peso, de un extracto de propóleo, o
 - del 0,1 al 50% en peso, preferiblemente del 1 al 40% en peso, de un extracto vegetal y del 20 al 80% en peso, preferiblemente del 30 al 70% en peso, de un extracto de propóleo.
4. Composición, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, para la que el extracto de propóleo comprende:
 - del 0,001 al 0,2% en peso, preferiblemente del 0,005 al 0,15% en peso, de ácido cafeico o uno de sus ésteres;
 - del 0,0001 al 0,005% en peso, preferiblemente del 0,0005 al 0,003% en peso, de ácido ferúlico;
 - del 0,05 al 10% en peso, preferiblemente del 0,1 al 6% en peso, de galangina;
 - del 0,1 al 5% en peso, preferiblemente del 0,2 al 3% en peso, de pinocembrina.
5. Composición, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende también capsaicina o un agente antiinflamatorio o una mezcla de los mismos.
6. Composición, según la reivindicación anterior, que comprende del 0,01 al 0,1% en peso, preferiblemente del 0,025 al 0,075% en peso de capsaicina.
7. Composición, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende también un ingrediente alimenticio.
8. Composición, según la reivindicación anterior, para la que el ingrediente alimenticio se selecciona entre piperina o un derivado de zinc.
9. Composición, según las reivindicaciones 7 u 8, que comprende del 0,01 al 4% en peso, preferiblemente del 0,1 al 1% en peso de piperina.
10. Composición, según las reivindicaciones 7 u 8, que comprende del 0,01 al 2% en peso, preferiblemente del 0,1 al 1,5% en peso de un derivado de zinc.
11. Complemento alimenticio que comprende una composición, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10.
12. Composición, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en forma de una composición tópica.
13. Composición, según la reivindicación 12, para usar en el tratamiento o la prevención de enfermedades inflamatorias agudas o crónicas, en particular para el tratamiento o la prevención de la artritis.
14. Composición, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que se pretende usar como medicamento.
15. Composición, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para usar para el tratamiento o la prevención de enfermedades inflamatorias agudas o crónicas, en particular para el tratamiento o la prevención de la artritis.
16. Kit que comprende:
 - una primera composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6,
 - una segunda composición que comprende un agente antiinflamatorio.
17. Procedimiento para la preparación de una composición, según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 10, que comprende:
 - (i) preparar un extracto de cutícula de uva obtenido mediante la selección de al menos un orujo de uva roja y concentrar las fracciones de polifenol de dicho orujo,
 - (ii) mezclar el extracto de (i) y un extracto de propóleo.